| Received: 2014.04.20 Accepted: 2014.08.14 Published: 2014.11.05 | Oddziaływania niekowalencyjne kation-π – ich rola w przyrodzie |
|---|--|
| | Noncovalent cation- π interactions – their role in nature |
| | Krzysztof Fink, Janusz Boratyński |
| | Laboratorium Chemii Biomedycznej "Neolek", Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu |
| | Streszczenie |
| Słowa kluczowe: | Oddziaływania niekowalencyjne odgrywają niezwykle istotną rolę w organizmach żywych. Głów- nymi oddziaływaniami niekowalencyjnymi występującymi w przyrodzie są: oddziaływania jon- -jon, oddziaływania dipol-dipol, wiązania wodorowe czy oddziaływania van der Waalsa. Coraz większą uwagę poświęca się nowemu rodzajowi oddziaływań międzycząsteczkowych – kation-π. Są to oddziaływania występujące między kationem a układem wiązań π. Główne siły wchodzące w skład oddziaływania kation-π to: elektrostatyczne, polaryzacyjne i w mniejszym stopniu dys- persyjne. Oddziaływania kation-π najwcześniej obserwowano w fazie gazowej, w kompleksach kationów metali z cząsteczkami aromatycznymi. Energie tych kompleksów charakteryzują się następującymi zależnościami: wzrost liczby atomowej kationu zmniejsza wartości energii od- działywania, a wzrost ładunku kationu zwiększa siły oddziaływania. Kationy metali wiążą się z aminokwasami aromatycznymi, głównie przez oddziaływania z łańcuchem głównym, jednak oddziaływanie kation-π z aromatycznym łańcuchem bocznym istotnie wzmacnia energię wią- zania. W roztworach wodnych bardziej korzystne energetycznie dla większości kationów są oddziaływania z cząsteczkami wody niż z układami aromatycznymi. Do zaistnienia stabilnych oddziaływania z lodziaływania kation-π mogą wpływać stabilizująco na strukturę drugo-, trzecio- i czwartorzędową białek. Odgrywają istotną rolę w miejscach wiążących substrat lub ligand w biał- kach, co może mieć istotne znaczenie przy poszukiwaniu skutecznych inhibitorów tych białek. Oddziaływania kation-π są powszechne i odgrywają dużą rolę w wielu procesach biologicznych. |
| 510wa kiuczowe: | 00021a1ywania niekowalencyjne • 00021a1ywania kation-n |
| | Summary Non-covalent interactions play an extremely important role in organisms. The main non-covalent interactions in nature are: ion-ion interactions, dipole-dipole interactions, hydrogen bonds, and van der Waals interactions. A new kind of intermolecular interactions – cation- π interactions – is gaining increasing attention. These interactions occur between a cation and a π system. The main contributors to cation- π interactions are electrostatic, polarization and, to a lesser extent, dispersion interactions. At first, cation- π interactions were studied in a gas phase, with metal cation-aromatic system complexes. The characteristics of these complexes are as follows: an increase of cation atomic number leads to a decrease of interaction energy, and an increase of cation charge |

*Praca zrealizowana w ramach działalności statutowej Laboratorium Chemii Biomedycznej "Neolek" Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu.

| | leads to an increase of interaction energy. Aromatic amino acids bind with metal cations mainly through interactions with their main chain. Nevertheless, cation- π interaction with a hydrophobic side chain significantly enhances binding energy. In water solutions most cations preferentially interact with water molecules rather than aromatic systems. Cation- π interactions occur in environments with lower accessibility to a polar solvent. Cation- π interactions can have a stabilizing role on the secondary, tertiary and quaternary structure of proteins. These interactions play an important role in substrate or ligand binding sites in many proteins, which should be taken into consideration when the screening of effective inhibitors for these proteins is carried out. Cation- π interactions are abundant and play an important role in many biological processes. |
|-------------------------|---|
| Key words: | non-covalent interactions $ullet$ cation- π interactions |
| Full-text PDF: | http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1127950 |
| Word count: Tables: | 4227 |
| Figures: References: | 3 90 |
| Adres autora: | prof. dr hab. Janusz Boratyński, Laboratorium Chemii Biomedycznej "Neolek", Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: borat@iitd.pan.wroc.pl |
| Wykaz skrótów: | 5-HT3 – 5-hydroksytryptamina, AAD – lek przeciwarytmiczny, AdoMetDC – dekarboksylaza S- -adenozylometioniny, DKA – kwas diketonowy (diketo acid), ELIC – kanał jonowy bramkowany ligandem <i>Erwinia Chrysanthemi</i> , FAOX – oksydaza fruktozoaminy, GABA – kwas γ-aminomasłowy, nAChR – nikotynowy receptor acetylocholiny, NMDA – N-metylo-D-asparaginian, NPP7 – fosfataza/ fosfodiesteraza nukleotydów 7, NSS – symporter neuroprzekaźnik: sód, PC-TP – białko transfe- rujące fosfatydylocholinę, PI-PLC – fosfolipaza C fosfatydyloinozytoloswoista, PR3 – proteinaza 3, RPE65 – nabłonek pigmentowy siatkówki, Scp – mała fosfataza domeny C-końcowej (small C-terminal domain phosphatase), Ste2p – receptor czynnika α <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , SyMBS – synergistyczne miejsce wiążące metal (synergistic metal-binding site), TTX – tetrodotoksyna. |

WSTĘP

Oddziaływania niekowalencyjne, mimo dużo mniejszej energii niż wiązania chemiczne, odgrywają niezwykle istotną rolę w organizmach żywych. Poznanie tych oddziaływań jest decydujące dla zrozumienia procesów zachodzących w układach biologicznych. Głównymi oddziaływaniami niekowalencyjnymi występującymi w przyrodzie są oddziaływania: jon-jon, dipol-dipol, wiązania wodorowe czy oddziaływania van der Waalsa. W ciągu ostatnich kilku dekad coraz większe uznanie zdobywa nowy rodzaj interakcji międzycząsteczkowej, oddziaływanie kation-π. Jest to oddziaływanie między dodatnio naładowanym jonem a układem wiązań π. Przez układ π rozumiana jest cząsteczka mająca elektrony π . Najprostszymi przedstawicielami takich cząsteczek są eten oraz acetylen, ale ze względu na większą siłę oddziaływania, oddziaływania kation- π najczęściej obserwuje się z udziałem grup aromatycznych.

Pierwsze badania identyfikujące oddziaływania kation- π przeprowadzono w 1981 r. i dotyczyły oddziaływania między jonem potasu (K⁺) a benzenem lub wodą w fazie ga-

zowej [74]. Mimo dużego momentu dipolowego wody, K⁺ silniej wiązał się z cząsteczką benzenu niż wody (energie oddziaływania –∆H: 19,2 kcal/mol dla benzenu i 17,9 kcal/ mol dla wody). Obliczenia teoretyczne wykazały, że najbardziej stabilna struktura kompleksu K⁺ – benzen zawiera jon potasu znajdujący się dokładnie pośrodku pierścienia benzenu (symetria C_{6v}). Podobne wyniki otrzymał Guo i wsp., którzy badali oddziaływania między jonami sodu i ołowiu a benzenem. Energia wiązania kompleksu Na+--benzen wyniosła -28,0 kcal/mol, a Pb⁺-benzen -26,2 kcal/ mol [31]. W obu przypadkach energie wiązania kationów z benzenem okazały się większe niż energie wiązania kationów z cząsteczką wody. Modelowanie komputerowe zasugerowało położenie jonu sodu na środku pierścienia benzenu. Symetria C_{6v} kompleksu oraz obserwowane niewielkie przeniesienie ładunku z benzenu na Na⁺ sugerują, że jest to oddziaływanie głównie elektrostatyczne.

NATURA ODDZIAŁYWAŃ KATION-I

Wykorzystywany w badaniach benzen pełnił funkcję modelowego układu aromatycznego. Benzen, mimo że

uważany za cząsteczkę niepolarną ma znaczący moment kwadrupolowy. Ten stały rozkład ładunku umożliwia oddziaływanie z jonami. Nie można jednak rozpatrywać oddziaływań kation-π jedynie jako oddziaływań jon-kwadrupol. Udowodniono, że w oddziaływaniu kation- π uczestniczy wiele oddziaływań. Przeprowadzono obliczenia siły wiązania między Na⁺ a różnymi układami aromatycznymi [49]. Zaobserwowano korelację między powierzchnią potencjału elektrostatycznego cząsteczki aromatycznej a całkowitą energią wiązania Na⁺ z układem aromatycznym. Istotną rolę odgrywają podstawniki w układzie aromatycznym, ponieważ wpływają na powierzchnię potencjału elektrostatycznego, a przez to również na wielkość oddziaływań kation-π. Grupa aminowa wzmacnia oddziaływania kation-π. Między benzenem a fenolem nie zaobserwowano istotnych różnic w energii wiązania kationu; natomiast grupy zabierające elektrony, takie jak -F (grupa fluorowa) i -CN (grupa cyjanowa) osłabiają oddziaływania kation- π . Badania teoretyczne kompleksów Na⁺ [50] oraz Mg²⁺, Ca²⁺ i NH₄⁺ [40] z różnymi układami aromatycznymi potwierdzają duże znaczenie oddziaływań elektrostatycznych w oddziaływaniach kation- π .



Ryc. 1. Oddziaływanie kation-π między benzenem a Na⁺ (według Watt M., Hwang J.Y., Cormier K.W., Lewis M.: Preference for Na⁺ - π binding over Na⁺ - dipole binding in Na⁺ - arene interactions. J. Phys. Chem. A, 2009; 113: 6192-6196. Copyright 2014 American Chemical Society , zmodyfikowano)

Oprócz oddziaływań elektrostatycznych ważną rolę odgrywa polaryzacja układu aromatycznego przez pole elektryczne wytwarzane przez kation. Z przeprowadzonych obliczeń wynika, że polaryzacja stanowi znaczącą część całkowitej energii kompleksu kation-układ aromatyczny [19]. W przypadku aniliny energia polaryzacji jest dwa razy mniejsza niż energia elektrostatyczna, ale wraz z osłabieniem oddziaływań elektrostatycznych względny udział energii polaryzacji rośnie i dla cyjanowej pochodnej benzenu wynosi już 345%. Ponadto zaobserwowano, że energie polaryzacji dla cząsteczek aromatycznych o podobnej wielkości są bardzo podobne, natomiast różnią się przy porównywaniu cząsteczek aromatycznych o różnych wielkościach. Większe pierścienie aromatyczne dostarczają większych wartości energii polaryzacji. Określono wartości energii elektrostatycznej oraz polaryzacji kompleksów kationów metali alkalicznych (Li⁺, Na⁺, K⁺) z benzenem [79]. Składowe elektrostatyczne całkowitej energii wiązania jonu metalu przez benzen są zbliżone dla wszystkich jonów metali, natomiast energia polaryzacji różni się

znacząco w zależności od kationu, który wchodzi w skład kompleksu. Energia polaryzacji rośnie w miarę zmniejszania się promienia kationu i dla kompleksu z Li⁺ jest największa. Jest także największą składową całkowitej energii wiązania dla kompleksów z Li⁺ oraz Na⁺. Dla kompleksów benzenu z Li⁺, Na⁺, K⁺, Mg²⁺ i Ca²⁺ zaobserwowano niewielkie różnice w energii elektrostatycznej wśród kationów należących do tej samej grupy, ale dużą zmienność energii polaryzacji [73].

Badając naturę oddziaływań kation- π wzięto pod uwagę dyspersję. Wartości dyspersji dla kompleksów z Li⁺ i Na⁺ są pomijane ze względu na niewielką polaryzowalność tych kationów, jednak w przypadku kompleksów z K⁺, Rb⁺ i Cs⁺ odgrywa ona coraz ważniejszą rolę [79]. Z przeprowadzonych obliczeń dla kompleksów Li⁺ i Mg²⁺ z liniowymi cząsteczkami zawierającymi elektrony π (etylen, butadien, heksatrien, oktatetraen) oraz cząsteczkami aromatycznymi (benzen, naftalen, antracen, fenantracen i naftacen) wynika, że energia oddziaływania kation- π rośnie wraz ze wzrostem układu π [81]. Liczba sprzężonych wiązań podwójnych może być użyteczna do oszacowania siły oddziaływań kation- π .

Energie kompleksów cząsteczek aromatycznych z jonami metali charakteryzują się następującymi zależnościami: wzrost liczby atomowej kationu zmniejsza wartości energii oddziaływania, wzrost ładunku kationu zwiększa siłę oddziaływania.

Oddziaływania kationów z aminokwasami aromatycznymi

Do poznawania oddziaływań kation-π zaczęto wykorzystywać układy π występujące w organizmach żywych, głównie aminokwasy. Początkowo badania dotyczyły kompleksów kationu z układem π w fazie gazowej. W budowe białek są zaangażowane trzy aminokwasy aromatyczne: fenyloalanina (Phe, F), tyrozyna (Tyr, Y) i tryptofan (Trp, W), które w swoich łańcuchach bocznych zawierają odpowiednio grupę fenylową, hydroksyfenylową oraz indolową. Badania obliczeniowe kompleksów metali alkalicznych (Li⁺, Na⁺ i K⁺) z fenyloalaniną w fazie gazowej wykazały, że oddziaływania kation- π mogą występować z aminokwasem [71]. Wszystkie trzy kationy, w najbardziej stabilnej konfiguracji, tworzą oddziaływania z trzema miejscami w aminokwasie: z tlenem karbonylowym, azotem aminy i układem aromatycznym. Powinowactwo Na⁺ do fenyloalaniny jest większe niż do alaniny o 5-7 kcal/mol, co wskazuje na duży stabilizujący wpływ oddziaływań kation-π na kompleks [27]. Obecność oddziaływań kationu z łańcuchem głównym aminokwasów potwierdzono zarówno w eksperymentach doświadczalnych, jak i obliczeniowych [67]. Wykazano, że łańcuch boczny nie jest głównym miejscem oddziaływania, niemniej jednak wzmacnia istotnie energię wiązania kompleksów kationów metali alkalicznych z aminokwasami. W białkach i peptydach oddziaływanie kation- π może odgrywać większą rolę z powodu słabszej dostępności łańcucha głównego dla kationów.

Za pomocą metod obliczeniowych analizowano kompleksy kationów (H⁺, Li⁺, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, NH₄⁺, NMe₄⁺) z łańcuchami bocznymi aminokwasów (Phe, Tyr, Trp, His) [61]. Protony nie mogą tworzyć oddziaływań kation- π , ponieważ wykazują preferencję tworzenia wiązań kowalencyjnych z jednym z węgli w pierścieniu aromatycznym. Energie oddziaływania kationów z aminokwasami zmniejszały się w następującym kierunku Mg²⁺>Ca²⁺>Li⁺> Na⁺>K⁺≈NH₄⁺>NMe₄⁺.

Metody eksperymentalne oraz obliczeniowe wykazały, że energia wiazania kompleksów aminokwasów aromatycznych z jonami sodu i potasu ma w przypadku obu kationów tę samą kolejność Phe≤Tyr<Trp oraz że Na⁺ wiąże te aminokwasy znacznie silniej niż K⁺ [68]. Obserwacje potwierdzono w kolejnych eksperymentach korzystających z metod obliczeniowych, w których zoptymalizowano geometrię kompleksów jonów Li⁺, Na⁺ i K⁺ z aminokwasami Phe, Tyr i Trp [64]. Z trzech kationów metali użytych w badaniu Li⁺ tworzy najsilniejsze kompleksy. Kolejność aminokwasów zachowana jest także dla kompleksów z Rb+ i Cs⁺, przy czym kation rubidu oddziałuje silniej niż kation cezu [5]. Zależność energii oddziaływania od średnicy kationu jest zaburzona, gdy kation wiąże nie jedną a trzy cząsteczki benzenu. Powstaje stabilna trójkatna struktura z kationem otoczonym przez cząsteczki benzenu [22]. Energia oddziaływania w takim kompleksie rośnie wraz ze wzrostem średnicy kationu, czyli odwrotnie niż to się dzieje w przypadku kompleksów z pojedynczą cząsteczką benzenu. Zmiany energii wiązania kationu są spowodowane zawadami sterycznymi, które są większe w kationach o mniejszej średnicy.

Badania teoretyczne przewidywały, że w przypadku indolu to sześcioczłonowy element będzie zaangażowany w oddziaływanie kation- π z jonem metalu. Jednak struktury krystaliczne kompleksów indolu i jego pochodnych z Na⁺ i K⁺ wykazują, że element pirrolowy jest korzystniejszym donorem dla oddziaływania kation- π [33]. Prawdopodobnie oba fragmenty mogą być dostępne do kompleksowania kationu, a to czy z kationem oddziałuje element pięcio- czy sześcioczłonowy pierścienia indolu jest określone przez czynniki strukturalne i elektronowe [34]. Eksperymentalne kompleksy kationów metali alkalicznych Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺ i Cs⁺ z indolem wykazują, że energie kompleksów kation-indol, jak i indol-kation-indol maleja wraz ze wzrostem średnicy kationu [66]. Trp jest wszechstronnym ligandem dla kationów, gdyż siła wiązania w kompleksach, w których uczestniczy nie zmienia się znacząco jeśli nie może być osiągnięta optymalna geometria wiązania.

Omówione dotąd badania dotyczyły oddziaływań kation- π tworzonych w fazie gazowej. Jednak aby określić rolę tych oddziaływań w układach biologicznych należy przeprowadzić eksperymenty w środowisku wodnym, w którym zachodzą procesy biologiczne. Kompleksy Al³⁺ z benzenem, fenolem, Phe, Tyr lub Trp w środowisku wodnym są bardzo nietrwałe [44]. W przypadku benzenu energia oddziaływania w kompleksie maleje wraz z liczbą cząsteczek wody otaczających Al³⁺; gdy osiągnie trzy lub więcej kompleks rozpada się. Dla fenolu energia oddziaływania kompleksu, w którym kation glinu jest otoczony przez maksymalnie trzy cząsteczki wody jest wyższa niż dla kompleksu z nieuwodnionym kationem. Zjawisko to jest spowodowane przez tworzenie wiązań wodorowych cząsteczek wody z grupą OH fenolu. Kompleksy Na⁺ z Phe są bardziej trwałe w roztworze wodnym [18,62]. Spośród jonów Li⁺, Na⁺, K⁺ i Rb⁺ w roztworze wodnym najbardziej stabilne kompleksy z benzenem tworzy jon potasu [43]. Oddziaływanie K⁺ z benzenem jest na tyle silne, że benzen może zastąpić niektóre cząsteczki wody w otoczce hydratacyjnej kationu potasu [12]. Energia oddziaływania kation-π w roztworze wodnym zależy również od miejsca hydratacji układu kation-π. Gdy cząsteczki wody selektywnie otaczają kation energia oddziaływania maleje, natomiast gdy hydratowany jest układ aromatyczny energia oddziaływania rośnie [60]. Oddziaływanie kationu z benzenem wzmacnia zdolność protonów aromatycznych do tworzenia wiązań wodorowych z cząsteczkami wody. Oddziaływania kation- π są zatem bardzo nietrwałe w pełni uwodnionym otoczeniu, jednak w obszarach makromolekuł o mniejszej dostępności dla rozpuszczalnika mogą odgrywać istotną rolę.

ODDZIAŁYWANIA KATION-II W UKŁADACH BIOLOGICZNYCH

Wpływ na strukturę peptydów

Rolę oddziaływań kation-
 π w kształtowaniu się struktury drugorzędowej białek analizowano wykorzystując modelowe peptydy. Oddziaływania między aminokwasami zasadowymi obdarzonymi ładunkiem dodatnim a aminokwasami aromatycznymi mogą wpływać stabilizująco na strukturę drugorzędowa peptydów. Z analizy oddziaływań kation- π w peptydach o strukturze α -helisy wynika, że nie wszystkie pary aminokwasów wpływają stabilizująco na strukture peptydów. Pary Trp-Lys oraz Phe-Arg nie zwiększały stabilności helisy [51] natomiast Trp-Arg zwiększała stabilność struktury o -0,4 kcal/mol [70]. Pary Phe-Lys, Phe-Arg i Tyr-Lys mają niewielkie energie wiązania (-0,1 do -0,2 kcal/mol) [4]. Oddziaływanie Trp-His ma większą energię, -0,8 do -1,2 kcal/mol, co może być skutkiem korzystniejszej konformacji lub niższego kosztu entropowego [83]. W heksapeptydzie o sekwencji N-acetyl-Pro-Pro--Lys-Tyr-Asp-Lys-NH₂ pochodzącego z sekwencji kurzej miozyny grupa NH⁺ Lys3 oddziałuje zarówno z układem π pierścienia aromatycznego Tyr4, jak i jego grupą OH [10]. Oba oddziaływania występują jednocześnie i wspólnie stabilizują strukturę peptydu. W strukturze β-kartki oddziaływania między Phe lub Trp a Lys i Arg odgrywają rolę stabilizującą strukturę, a ich wartość wynosi od -0,2 do -0,5 kcal/mol [76]. Również struktura spinki do włosów β może być stabilizowana przez oddziaływanie kation- π [21].

Wpływ na strukturę białek oraz powstawanie kompleksów między białkami

Pionierskie badanie występowania oddziaływań kation- π w białkach obejmowało analizę 33 struktur krystalicznych

różnych białek, w których poszukiwano bliskich kontaktów między grupami obdarzonymi ładunkiem dodatnim aminokwasów Arg, Lys, Asn, Gln i His a powierzchnią pierścieni aminokwasów aromatycznych Phe, Tyr i Trp [11]. Ponad 25% reszt Lys, Asn, Gln i His i 50% Arg znajdowało się w odległości van der Waalsa od reszt aromatycznych. Wykorzystując udoskonalone kryteria poszukiwania oddziaływań kation- π odnotowano dużą liczbę interakcji aminokwasów zasadowych z aromatycznymi wśród członków rodzin białek, takich jak: β-laktamazy [45], immunoglobuliny o pojedynczym łańcuchu (single chain immunoglobulins) [78], białka adhezyjne [72], czynniki elongacji translacji [2], białka wiążące cukry [24], wiążące DNA [30], wiążące RNA, wiążące lipidy oraz glikoproteiny [3]. Pary Arg-Trp lub Arg-Tyr tworzyły najsilniejsze oddziaływania, a reszta Arg częściej występuje w tego typu kontaktach niż Lys. Reszty zasadowe znajdują się głównie na powierzchni białka, natomiast aromatyczne są schowane głębiej w jego strukturze. Z tego powodu oddziaływania te mogą stabilizować region przejściowy między powierzchnią białka a jego rdzeniem. Większość oddziaływań kation- π obserwowanych w białkach, to oddziaływania dalekiego zasięgu między resztami oddalonymi od siebie w sekwencji aminokwasowej.

Oprócz ogólnej charakterystyki oddziaływań kation-π w strukturach rodzin białek, opisano też wpływ tych oddziaływań na struktury konkretnych białek. Niżej przedstawiono przykłady tych obserwacji. Oddziaływania kation-π mogą być tworzone między resztami aminokwasowymi w sąsiednich niciach kolagenu [14]. Oddziaływania te mogą odgrywać ważną rolę w stabilizowaniu potrójnej helisy kolagenu, przy czym oddziaływania z Arg są silniejsze niż z Lys. Można je także wykorzystać do tworzenia struktur wyższego rzędu. Wprowadzenie reszty kationowej na N--końcu oraz aromatycznej na C-końcu peptydu kolagenopodobnego powoduje powstanie oddziaływań kation- π między końcami peptydu [15]. Obserwacje te wskazują, że tego rodzaju oddziaływania mogą uczestniczyć w samoorganizowaniu się potrójnych helis kolagenu w struktury wyższego rzędu w trybie head-to-tail. W małym białku szoku cieplnego, α B-krystalinie, oddziaływania kation- π między resztami Phe118 a Arg116, pochodzącymi z dwóch różnych monomerów, mogą zwiększać stabilność dimeru [38]. Domena SH3 kinazy tyrozynowej c-Src wiąże motywy bogate w prolinę z udziałem oddziaływań kation- π [7].

Klaudyna 2 i 10 tworzą parakomórkowe pory selektywne wobec kationów sodu. Do selektywności tych porów przyczynia się wysoce konserwatywna aromatyczna reszta aminokwasowa, która tworzy oddziaływanie kation- π z przechodzącym jonem [46]. SyMBS (synergistic metalbinding site) jest jednym z trzech miejsc wiążących kation wapnia w integrynach. Analiza struktury krystalograficznej integryny $\alpha_4\beta_7$ ujawniła, że między kationem w SyMBS a resztą Phe w podjednostce β_7 istnieje oddziaływanie kation- π , które odgrywa istotną rolę w regulacji powinowactwa integryn do ligandów [54]. Mutacja Phe uczestniczącej w tym oddziaływaniu prowadziła do niekompletnej adhezji komórek, pogorszenia przekazywania sygnałów przez integrynę $\alpha_4\beta_7$ oraz zmniejszenia migracji komórek. W integrynie $\alpha_{IIb}\beta_3$ występuje oddziaływanie kation- π między Trp110 podjednostki α_{ub} a Arg261 podjednostki β_3 , które pełni ważną rolę w zachowaniu integralności integryny oraz przekazywaniu przez nią sygnału do wnętrza komórki [32]. Potranslacyjna modyfikacja białek histonowych w postaci metylacji lizyny indukuje wiązanie trimetyllizyny do aromatycznej kieszeni chromodomeny HP1 przez oddziaływanie kation- π [36]. Grupa kationowa jest niezbędna do wiazania do chromodomeny, co wyklucza dominującą rolę oddziaływań hydrofobowych. Wiązanie małej glikoproteiny E3 z heterodimerem E2/E1 pokrywającym powierzchnę alfawirusów chroni przed niskim pH oraz ich przedwczesną fuzją z błoną endosomów zaatakowanych komórek. W wiązaniu tym decydującą rolę odgrywa oddziaływanie kation- π między Tyr47 z E3 a aminokwasem zasadowym w E2 [80].

Powstanie lub zerwanie oddziaływań kation- π może indukować istotne zmiany konformacyjne. Białko UVR8 z Arabidopsis thaliana jest fotoreceptorem ultrafioletu B, który pod wpływem promieniowania przechodzi zmianę z homodimeru na monomery, uaktywniając w ten sposób szlak sygnalizacyjny mający chronić komórke przed szkodliwym działaniem ultrafioletu. Funkcję chromofora ultrafioletu B w tym białku pełnią dwie reszty Trp, które tworzą oddziaływania kation- π z sąsiednimi resztami Arg [86]. Absorpcja promieniowania destabilizuje oddziaływania, co zmienia konformację łańcuchów bocznych, zrywa istotne wiązania wodorowe i skutkuje dysocjacją składników homodimeru. Gdy reszty Trp powrócą do stanu podstawowego jest możliwe odtworzenie homodimeru. Oddziaływanie kation- π między Arg60 a Trp335 stabilizuje oddziaływanie jon-jon tworzone przez reszty Arg60 i Asp436 w białku NSS (neurotransmiter:sodium symporters) [42]. Destabilizacja tego oddziaływania kation- π oraz mostku solnego zmienia strukturę i elastyczność miejscowego środowiska otaczającego miejsce wiążące substrat, przez co wpływa na uwolnienie substratu.

Oddziaływania kation-π mogą występować między resztami aromatycznymi a histydyną, która występuje w postaci uprotonowanej w kwaśnym pH. Występowanie takiego oddziaływania jest zatem zależne od pH, co pozwala białkom reagować na jego zmiany. Wykorzystanie zjawiska zaobserwowano w białkach wirusowych i bakteryjnych. Białko BM2 wirusa grypy tworzy transbłonowy kanał protonowy niezbędny do infekcji wirusa. Poniżej pH 6,5 w kanale powstaje oddziaływanie kation- π między His a Trp [52]. Ponadto reszta His odpowiada za selektywność kanału, natomiast za bramkowanie kanału jest odpowiedzialna reszta Trp. W niskim pH łańcuch boczny Trp okresowo tworzy silne oddziaływania kation- π z His, blokując i uwalniając protony [84]. Natomiast w wyższym pH obie reszty aminokwasowe znajdują się w większej odległości od siebie i oddziaływania między nimi nie są tworzone. Fosfolipaza C fosfatydyloinozytoloswoista jest wydzielana jako czynnik wirulencji przez Staphylococcus aureus. Enzym ten wykazuje dużą aktywność w pH kwaśnym, co różni go od innych enzymów tej klasy. W środowisku

kwaśnym dochodzi do zmian konformacyjnych w fosfolipazie spowodowanych przez powstanie oddziaływania kation- π między His258 a Phe249 [28].

Dodatek argininy do roztworu zapobiega agregacji białek. Reszty Arg tworzą na powierzchni białka oddziaływania hydrofobowe i kation- π z aromatycznymi resztami aminokwasowymi, zmniejszając dostępność powierzchni aromatycznych i zapobiegając międzycząsteczkowym oddziaływaniom hydrofobowym, w rezultacie zwiększając rozpuszczalność białka [37]. Badając oddziaływania kation- π między Lys a aminokwasami aromatycznymi w czterech różnych białkach zaobserwowano, że siła oddziaływań kation- π rośnie wraz z temperaturą [57]. Oddziaływania te wraz ze wzrostem temperatury stają się elementem oddziaływań termostabilizujących [26]. Najsilniejsze oddziaływania termostabilizujące tworzą się między Arg a Tyr lub Trp.

Oddziaływania kation- π odgrywają ważną rolę w aktywności peptydów przeciwbakteryjnych. Zaprojektowano peptyd przeciwbakteryjny bogaty w Trp i Arg. Reszty Trp miały zwiększyć hydrofobowość peptydu i ułatwić jego wniknięcie w błonę lipidową, natomiast Arg miały na celu wzmocnienie oddziaływań elektrostatycznych z ujemnie naładowanymi błonami bakterii. Oddziaływania kation-π między Trp i Arg ułatwiają wejście reszt Arg do wnętrza błony lipidowej [47]. Przewagą reszty Arg nad Lys jest to, że Arg może utworzyć prawie tyle wiązań wodorowych z otaczającymi cząsteczkami wody, gdy jest zaangażowana w oddziaływanie kation- π , jak wtedy gdy nie jest [13]. Natomiast Lys może tworzyć wiązania wodorowe tylko wtedy, gdy nie jest zaangażowana w oddziaływania z aminokwasami aromatycznymi. PuroA, który jest peptydem o aktywności przeciw bakteriom Gram--dodatnim i Gram-ujemnym, również cechuje się dużą zawartościa reszt Trp. Wszystkie naładowane dodatnio reszty aminokwasowe tworzą oddziaływania kation- π z resztami Trp, co pozwala PuroA na głębsze wejście wewnątrz błony bakteryjnej i przerwanie struktury dwuwarstwy błony [39].

Oddziaływania kation-π w miejscu wiążącym substrat lub ligand

Oddziaływania kation- π występują nie tylko między resztami aminokwasowymi w białku, ale także między białkiem a cząsteczką substratu lub liganda. Miejsca wiążące wielu białek są bogate w reszty aromatyczne, co może świadczyć o tworzeniu się tego typu oddziaływania z grupą kationową w wiązanej cząsteczce. W fosfatazie/ fosfodiesterazie nukleotydów 7 (NPP7) zidentyfikowano oddziaływanie kation- π między Phe275 a grupą choliny substratów [55]. Zastąpienie reszty Lys107 resztą Phe wzmacnia wiązanie substratów prawdopodobnie przez tworzenie dodatkowego oddziaływania kation-π. Dekarboksylaza S-adenozylometioniny (AdoMetDC) wiąże się z substratem przez oddziaływania kation- π za pomocą reszt Phe7 i Phe223 [8]. Z badań struktur kompleksów białko-DNA wynika, że oddziaływania kation- π występują w 71% tych kompleksów [85]. Najczęściej występujacymi oraz mającymi największe energie oddziaływania są pary Lys-guanina oraz Arg-adenina. Oddziaływania z zasadami pirymidynowymi są dużo mniej korzystne.

Aminokwasy aromatyczne w miejscu aktywnym enzymu mogą stabilizować stan pośredni produktu, który ma ładunek dodatni, wpływać na właściwości aminokwasów katalitycznych lub oddziaływać z kofaktorem. Enzym RPE65 (retinal pigment epithelium) jest izomeraza, która katalizuje powstawanie izomerów cis retinolu przez tworzenie karbokationów jako produktów pośrednich. W stabilizację karbokationów jest zaangażowana reszta Trp331 [63]. Zastąpienie Trp przez Tyr lub Phe pogarsza aktywność enzymu, natomiast wstawienie niearomatycznej reszty aminokwasowej znosi ją całkowicie. Zależność aktywności enzymu od reszty aromatycznej układa się w sposób charakterystyczny dla oddziaływań kation-π (Trp>Tyr>Phe), co sugeruje udział tych oddziaływań w procesie stabilizacji produktu przejściowego. Stabilizacje produktu przejściowego przez resztę Trp zaobserwowano także w syntazie aristolochenu pochodzącej z Penicilium roqueforti [25]. Miejsca bogate w reszty aromatyczne są idealnym środowiskiem do wiązania karbokationów podczas syntezy węglowodorów.

W hvdroksymetylotransferazie seryny pochodzącej z E. coli znajdują się dwie wysoce konserwatywne reszty, Tyr55 i Arg235. Oddziaływanie kation- π z Arg235 oraz wiązanie wodorowe grupy OH powoduje wzrost właściwości kwasowych Tyr55 i umożliwia jej pełnienie roli katalizatora kwasowo-zasadowego [82]. Za pomocą mutagenezy wykazano, że obie reszty aminokwasowe są niezbędne do prawidłowego działania enzymu. Reakcje katalizowane przez oksydazy fruktozoaminy (FAOX) składają się z reakcji redukcji, w której substrat jest utleniany przez flawinę oraz reakcji utleniania zredukowanej flawiny przez tlen czasteczkowy. Struktura krystaliczna enzymu ujawniła istnienie oddziaływania kation- π między Lys53 a pierścieniem aromatycznym flawiny [17]. Oddziaływanie z Lys53 odgrywa decydującą rolę w reakcji redukcji flawiny, natomiast ma niewielki wpływ na etap jej utleniania.

Tryptofan jest powszechnie obserwowany w białkach błonowych, zwłaszcza w pobliżu granicy woda-błona lipidowa. Trp może oddziaływać z lipidami za pomocą wiązań wodorowych oraz oddziaływań kation- π z grupą choliny [20]. W proteinazie 3 (PR3), która jest proteaza servnowa neutrofilów sześć aminokwasów aromatycznych (5 Phe i 1 Trp) tworzy oddziaływania kation- π z grupami choliny lipidów [9]. PC-TP (phosphatidylcholine transfer protein) jest białkiem transportujacym fosfatydylocholiny między błonami lipidowymi. Dodatnio naładowane grupy choliny lipidów tworzą oddziaływanie kation- π z trzema aromatycznymi resztami aminokwasowymi białka tworzącymi strukturę przypominającą klatkę [65]. W wiązanie swoistych lipidów przez białko PI-PLC (fosfolipaza C fosfatydyloinozytoloswoista) z Bacillus thuringensis są zaangażowane oddziaływania kation- π między resztami Tyr znajdującymi się w miejscu wiążącym a grupą choliny lipidu [29]. Oddziaływania te moga stanowić element swoistego rozpoznania lipidów przez białka.



Ryc. 2. Miejsce wiążące GABA w receptorze RDL. Oddziaływania aromatycznych reszt aminokwasowych (Phe i Tyr) z grupą aminową GABA w miejscu wiążącym receptora RDL (według [6] zmodyfikowano)

Oddziaływania aminokwasów aromatycznych z grupą mającą ładunek dodatni są obserwowane w kompleksach receptora z ligandem. Peryferyjne białka błonowe moga być dostarczane do specyficznych organelli lub błon plazmatycznych przez rozpoznanie fosfolipidów. W białkach układy dwóch lub wiecej aminokwasów aromatycznych, tworzące strukturę przypominającą klatkę, mogą stanowić odpowiedni receptor, który przez oddziaływania kation- π wiązałby się z czwartorzędową aminą fosfatydylocholiny [16]. W wiązaniu czterech agonistów nikotynowego receptora acetylocholiny (nAChR) $\alpha_4\beta_2$ (acetylocholina, nikotyna, varenicline i cytisine) uczestniczy oddziaływanie kation- π z resztą TrpB podjednostki α receptora [77]. α-Konotoksyny również wiążą się z nAChR za pośrednictwem oddziaływania kation- π [88]. Wiazanie acetylocholiny, antagonisty kompetycyjnego kanału jonowego ELIC (kanał jonowy bramkowany ligandem Erwinia chrysanthemi), indukuje zmiany strukturalne w tym białku, które zwiększają rozmiar poru, ale nie powodują otwarcia kanału. Oddziaływania acetylocholiny z miejscem wiązania liganda znajdującym się między podjednostkami tworzącymi kanał, w tym oddziaływanie kation-π z resztą Phe133, są zbyt słabe by doprowadzić do otwarcia kanału [53]. W nikotynowym receptorze acetylocholiny wiązanie acetylocholiny powoduje otwarcie kanału. W tym przypadku również acetylocholina tworzy oddziaływanie kation- π z aminokwasem aromatycznym w miejscu wiążącym ligand, ale jest to Trp. Trp tworzy silniejsze oddziaływania kation- π niż Phe, co może wyjaśniać różnicę między działaniem acetylocholiny na kanał

ELIC i na nAChR [90]. Nikotyna wiąże się z receptorami acetylocholiny znajdującymi się w mózgu z udziałem oddziaływań kation- π , natomiast z receptorami w mięśniach nie tworzy tych oddziaływań, mimo że reszty aminokwasowe w miejscu wiążącym, w tym TrpB odpowiedzialna za oddziaływanie kation- π , są identyczne w obu receptorach. Na wiązanie nikotyny wpływa reszta 153 w pętli B receptora, od której zależy konformacja aminokwasów w miejscu wiążącym ligand [87]. W receptorach acetylocholiny znajdujących się w mózgu jest to reszta lizyny, natomiast w receptorach znajdujących się w mięśniach jest to reszta glicyny.

W receptorach estrogenu α, glikokortykoidu, mineralokortykoidu, progesteronu i andorogenu po związaniu agonisty powstaje oddziaływanie kation- π , w którym uczestniczy aminokwas znajdujący się na C-końcu białka. Prawdopodobnie oddziaływanie to zapewnia dodatkowa stabilizację transkrypcyjnie aktywnej konformacji receptora po związaniu liganda [58]. Receptory RDL występujące u owadów wiążą ligand GABA (kwas γ-aminomasłowy). GABA tworzy oddziaływania kation- π z resztami Phe i Tyr znajdującymi się w miejscu wiążącym receptora [6]. Miejsce wiążące ligand w receptorach GABA(C) jest zdominowane przez aminokwasy aromatyczne, głównie reszty Tyr. Jedna z nich, Tyr198, tworzy oddziaływanie kation- π z GABA [48]. Czynnik α , peptyd feromonowy wydzielany przez komórki drożdży wiąże się z Ste2p (receptor czynnika α Saccharomyces cerevisiae), receptorem związanym z białkiem G, aktywując szlak sygnalizacyjny



Ryc. 3. Struktura nAChR oraz schemat miejsca wiążącego ligand, znajdujący się między podjednostkami α i δ receptora, wskazujący dużą liczbę aromatycznych reszt aminokwasowych w pobliżu miejsca wiązania. Podobny układ znajduje się między podjednostkami α i γ (według [90] zmodyfikowano)

powodujący zatrzymanie wzrostu komórki w fazie G1. Między Tyr13 z czynnika- α a Arg58 z Ste2p tworzy się oddziaływanie kation- π , które ułatwia wiązanie liganda do receptora [75].

W oddziaływania kation- π z białkami są zaangażowane inhibitory enzymów oraz antagoniści receptorów; mogą odgrywać znaczącą rolę w aktywności tych cząsteczek. Dzięki temu oddziaływania kation-π zyskują coraz większe znaczenie przy projektowaniu nowych cząsteczek oddziałujących z miejscami wiążącymi białek. Oddziaływania kation- π brane są także pod uwagę przy badaniu oddziaływania toksyn z białkami docelowymi. Białka Scp (small C-terminal domain phosphatases) biora udział w regulacji polimerazy II RNA. Inhibitor Scp1, rebeprazol, tworzy oddziaływanie kation- π z Tyr158 enzymu [89]. Usunięcie tej reszty aminokwasowej pogarsza wiązanie inhibitora dziesięciokrotnie. Inhibitory DKA (diketo acid) są silnymi i selektywnymi inhibitorami inetgrazy HIV-1. Inhibitor S-1360 tworzy oddziaływanie kation- π z Lys159 integrazy [35]. Wiązanie, a w konsekwencji inhibicja bramkowanych napięciem kanałów sodowych przez lidokainę zachodzi z udziałem oddziaływania kation- π między inhibitorem a Phe1579 znajdującą się w segmencie S6 czwartej domeny homologicznej kanału [1]. Tetrodotoksyna (TTX) blokuje kanały sodowe tylko wtedy gdy sa obecne w nich aminokwasy aromatyczne Phe i Tyr w specyficznych miejscach w porze przewodzącym jony. Obniżając, przez fluorylację, potencjał pierścienia aromatycznego do tworzenia oddziaływań kation-π zmniejsza się powinowactwo TTX do kanału, co sugeruje duże znaczenie tych oddziaływań w wiązaniu TTX [69]. Przeciwarytmiczne leki klasy I (AAD) mają wspólny receptor docelowy, którym jest kanał sodowy mający dwie wysoce konserwatywne aromatyczne reszty aminokwasowe. Klasa Ib AAD wiąże się z kanałem przez silne oddziaływanie kation- π , natomiast klasy Ia i Ic są w dużo mniejszym stopniu uzależnione od tego oddziaływania [56]. Receptor 5-HT3 (5-hydroksytryptamina) jest pentametrycznym kanałem jonowym bramkowanym przez serotoninę,

który stanowi cel terapeutyczny antyemetyków, w tym granisetronu. W wiązaniu granisetronu uczestniczy oddziaływanie kation- π między grupą imidazolową liganda a receptorem [41], które określa orientację liganda w kieszeni wiążącej [23]. Benzen i jego kilka analogów są wziewnymi substancjami psychoaktywnymi, które hamują m.in. ludzkie receptory N-metylo-D-asparaginianu (NMDA – N-metylo-D-asparaginian). Powinowactwo do receptora NMDA zależy od potencjału do tworzenia oddziaływań kation- π , co sugeruje że oddziaływania te wzmacniają wiązanie aromatycznych wziewnych substancji psychoaktywnych do receptora oraz że jego miejsce wiążące ma znaczący kationowy charakter [59].

Podsumowanie

Przytoczone przykłady oddziaływań kation- π są jedynie wybraną reprezentacją wszystkich tego typu oddziaływań zaobserwowanych w układach biologicznych. Oddziaływania kationów z układami aromatycznymi są powszechne i mają duży wpływ na strukturę oraz funkcje białek. Oddziaływania kation-π wykazują swój najsilniejszy wpływ w środowiskach niepolarnych, takich jak faza gazowa, wnętrze białek lub wnętrze dwuwarstwy lipidowej, jednak również w bardziej polarnym otoczeniu moga skutecznie konkurować z innymi oddziaływaniami niekowalencyjnymi. Trp jest nadreprezentowany w oddziaływaniach kation- π w układach biologicznych, ponieważ tworzy znacznie mocniejsze oddziaływania niż Phe czy Tyr. Z aminokwasów zasadowych w większości oddziaływań uczestniczy Arg, która wiąże się silniej z pierścieniem aromatycznym niż Lys, nie tracąc ponadto możliwości tworzenia wiązań wodorowych. Oddziaływania kation- π mają duże znaczenie przy poszukiwaniu substancji terapeutycznych, które są inhibitorami enzymów lub antagonistami receptorów, ponieważ utworzenie takiego oddziaływania istotnie zwiększa siłę oddziaływania z białkiem docelowym. Oddziaływania odgrywają także duża rolę w badaniach struktur białek oraz kompleksów białek z makromolekułami lub haptenami.

ΡΙŚΜΙΕΝΝΙCTWO

[1] Ahern C.A., Eastwood A.L., Dougherty D.A., Horn R.: Electrostatic contributions of aromatic residues in the local anesthetic receptor of voltage-gated sodium channels. Circ. Res., 2008; 102: 86-94

[2] Anbarasu A., Prasad V.R., Sathpathy S., Sethumadhavan R.: Influence of cation- π interactions to the structural stability of prokaryotic and eukaryotic translation elongation factors. Protoplasma, 2009; 238: 11-20

[3] Anbarasu A., Sethumadhavan R.: Exploring the role of cation- π interactions in glycoproteins lipid-binding proteins and RNA-binding proteins. J. Theor. Biol., 2007; 247: 346-353

[4] Andrew C.D., Bhattacharjee S., Kokkoni N., Hirst J.D., Jones G.R., Doig A.J.: Stabilizing interactions between aromatic and basic side chains in α -helical peptides and proteins. Tyrosine effects on helix circular dichroism. J. Am. Chem. Soc., 2002; 124: 12706-12714

[5] Armentrout P.B., Yang B., Rodgers M.T.: Metal cation dependence of interactions with amino acids: bond energies of Rb⁺ and Cs⁺ to Met, Phe, Tyr, and Trp. J. Phys. Chem. B, 2013; 117: 3771-3781

[6] Ashby J.A., McGonigle I.V., Price K.L., Cohen N., Comitani F., Dougherty D.A., Molteni C., Lummis S.C.: GABA binding to an insect GABA receptor: a molecular dynamics and mutagenesis study. Biophys. J., 2012; 103: 2071-2081

[7] Bacarizo J., Camara-Artigas A.: Atomic resolution structures of the c-Src SH3 domain in complex with two high-affinity peptides from classes I and II. Acta Crystallogr. D, 2013; 69: 756-766

[8] Bale S., Brooks W., Hanes J.W., Mahesan A.M., Guida W.C., Ealick S.E.: Role of the sulfonium center in determining the ligand specificity of human s-adenosylmethionine decarboxylase. Biochemistry, 2009; 48: 6423-6430

[9] Broemstrup T., Reuter N.: How does proteinase 3 interact with lipid bilayers? Phys. Chem. Chem. Phys., 2010; 12: 7487-7496

[10] Burghardt T.P., Juranic N., Macura S., Ajtai K.: Cation- π interaction in a folded polypeptide. Biopolymers, 2002; 63: 261-272

[11] Burley S.K., Petsko G.A.: Amino-aromatic interactions in proteins. FEBS Lett., 1986; 203: 139-143

[12] Cabarcos O.M., Weinheimer C.J., Lisy J.M.: Size selectivity by cation- π interactions: Solvation of K^{*} and Na^{*} by benzene and water. J. Chem. Phys., 1999; 110: 8429-8435

[13] Chan D.I., Prenner E.J., Vogel H.J.: Tryptophan- and arginine--rich antimicrobial peptides: structures and mechanisms of action. Biochim. Biophys. Acta, 2006; 1758: 1184-1202

[14] Chen C.C., Hsu W., Hwang K.C., Hwu J.R., Lin C.C., Horng J.C.: Contributions of cation- π interactions to the collagen triple helix stability. Arch. Biochem. Biophys., 2011; 508: 46-53

[15] Chen C.C., Hsu W., Kao T.C., Horng J.C.: Self-assembly of short collagen-related peptides into fibrils via cation- π interactions. Biochemistry, 2011; 50: 2381-2383

[16] Cheng J., Goldstein R., Gershenson A., Stec B., Roberts M.F.: The cation- π box is a specific phosphatidylcholine membrane targeting motif. J. Biol. Chem., 2013; 288: 14863-14873

[17] Collard F., Fagan R.L., Zhang J., Nemet I., Palfey B.A., Monnier V.M.: The cation- π interaction between Lys53 and the flavin of fructosamine oxidase (FAOX-II) is critical for activity. Biochemistry, 2011; 50: 7977-7986

[18] Costanzo F., Della Valle R.G., Barone V.: MD simulation of the Na⁺⁻-phenylalanine complex in water: competition between cation- π interaction and aqueous solvation. J. Phys. Chem. B, 2005; 109: 23016-23023

[19] Cubero E., Luque F.J., Orozco M.: Is polarization important in cation- π interactions? Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998; 95: 5976-5980

[20] de Jesus A.J., Allen T.W.: The role of tryptophan side chains in membrane protein anchoring and hydrophobic mismatch. Biochim. Biophys. Acta, 2013; 1828: 864-876

[21] Diez-Garcia F., Pantoja-Uceda D., Jimenez M.A., Chakrabartty A., Laurents D.V.: Structure of a simplified β -hairpin and its ATP complex. Arch. Biochem. Biophys., 2013; 537: 62-71

[22] Duan M., Song B., Shi G., Li H., Ji G., Hu J., Chen X., Fang H.: Cation 3π : cooperative interaction of a cation and three benzenes with an anomalous order in binding energy. J. Am. Chem. Soc., 2012; 134: 12104-12109

[23] Duffy N.H., Lester H.A., Dougherty D.A.: Ondansetron and granisetron binding orientation in the 5-HT(3) receptor determined by unnatural amino acid mutagenesis. ACS Chemical Biology, 2012; 7: 1738-1745

[24] Elumalai P., Rajasekaran M., Liu H.L., Chen C.: Investigation of cation-pi interactions in sugar-binding proteins. Protoplasma, 2010; 247: 13-24

[25] Faraldos J.A., Antonczak A.K., Gonzalez V., Fullerton R., Tippmann E.M., Allemann R.K.: Probing eudesmane cation- π interactions in catalysis by aristolochene synthase with non-canonical amino acids. J. Am. Chem. Soc., 2011; 133: 13906-13909

[26] Folch B., Dehouck Y., Rooman M.: Thermo- and mesostabilizing protein interactions identified by temperature-dependent statistical potentials. Biophys. J., 2010; 98: 667-677

[27] Gapeev A., Dunbar R.C.: Cation-pi interactions and the gas-phase thermochemistry of the Na*/phenylalanine complex. J. Am. Chem. Soc., 2001; 123: 8360-8365

[28] Goldstein R., Cheng J., Stec B., Roberts M.F.: Structure of the S. aureus PI-specific phospholipase C reveals modulation of active site access by a titratable π -cation latched loop. Biochemistry, 2012; 51: 2579-2587

[29] Grauffel C., Yang B., He T., Roberts M.F., Gershenson A., Reuter N.: Cation- π interactions as lipid-specific anchors for phosphatidylinositol-specific phospholipase C. J. Am. Chem. Soc., 2013; 135: 5740-5750

[30] Gromiha M.M., Santhosh C., Ahmad S.: Structural analysis of cation- π interactions in DNA binding proteins. Int. J. Biol. Macromol., 2004; 34: 203-211

[31] Guo B.C., Purnell J.W., Castleman A.W.Jr.: The clustering reactions of benzene with sodium and lead ions. Chem. Phys. Lett., 1990; 168: 155-160

[32] Hauschner H., Landau M., Seligsohn U., Rosenberg N.: A unique interaction between α IIb and β 3 in the head region is essential for outside-in signaling-related functions of α IIb β 3 integrin. Blood, 2010; 115: 4542-4550

[33] Hu J., Barbour L.J., Gokel G.W.: Probing alkali metal- π interactions with the side chain residue of tryptophan. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002; 99: 5121-5126

[34] Hu J., Barbour L.J., Gokel G.W.: The indole side chain of tryptophan as a versatile π -donor. J. Am. Chem. Soc., 2002; 124: 10940-10941

[35] Huang M., Grant G.H., Richards W.G.: Binding modes of diketoacid inhibitors of HIV-1 integrase: a comparative molecular dynamics simulation study. J. Mol. Graph. Model., 2011; 29: 956-964

[36] Hughes R.M., Wiggins K.R., Khorasanizadeh S., Waters M.L.: Recognition of trimethyllysine by a chromodomain is not driven by the hydrophobic effect. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007; 104: 11184-11188

[37] Ito L., Shiraki K., Matsuura T., Okumura M., Hasegawa K., Baba S., Yamaguchi H., Kumasaka T.: High-resolution X-ray analysis reveals binding of arginine to aromatic residues of lysozyme surface: implication of suppression of protein aggregation by arginine. Protein Eng. Design Selection, 2011; 24: 269-274

[38] Jehle S., Rajagopal P., Bardiaux B., Markovic S., Kuhne R., Stout J.R., Higman V.A., Klevit R.E., van Rossum B.J., Oschkinat H.: Solid-state NMR and SAXS studies provide a structural basis for the activation of alphaB-crystallin oligomers. Nat. Struct. Mol. Biol., 2010; 17: 1037-1042

[39] Jing W., Demcoe A.R., Vogel H.J.: Conformation of a bactericidal domain of puroindoline a: structure and mechanism of action of a 13-residue antimicrobial peptide. J. Bacteriol., 2003; 185: 4938-4947

[40] Kadlubanski P., Calderon-Mojica K., Rodriguez W.A., Majumdar D., Roszak S., Leszczynski J.: Role of the multipolar electrostatic interaction energy components in strong and weak cation-pi interactions. J. Phys. Chem. A, 2013; 117: 7989-8000

[41] Kesters D., Thompson A.J., Brams M., van Elk R., Spurny R., Geitmann M., Villalgordo J.M., Guskov A., Danielson U.H., Lummis S.C., Smit A.B., Ulens C.: Structural basis of ligand recognition in 5-HT3 receptors. EMBO Rep., 2013; 14: 49-56

[42] Kniazeff J., Shi L., Loland C.J., Javitch J.A., Weinstein H., Gether U.: An intracellular interaction network regulates conformational transitions in the dopamine transporter. J. Biol. Chem., 2008; 283: 17691-17701

[43] Kumpf R.A., Dougherty D.A.: A mechanism for ion selectivity in potassium channels - computational studies of cation- π interactions. Science, 1993; 261: 1708-1710

[44] Larrucea J.: Solvent effect on cation- π interactions with Al3⁺. J. Mol. Model, 2012; 18: 4349-4354

[45] Lavanya P., Ramaiah S., Anbarasu A.: Cation- π interactions in β -lactamases: the role in structural stability. Cell Biochem. Biophys., 2013; 66: 147-155

[46] Li J., Zhuo M., Pei L., Yu A.S.: Conserved aromatic residue confers cation selectivity in claudin-2 and claudin-10b. J. Biol. Chem., 2013; 288: 22790-22797

[47] Lim K., Chua R.R., Saravanan R., Basu A., Mishra B., Tambyah P.A., Ho B., Leong S.S.: Immobilization studies of an engineered arginine-tryptophan-rich peptide on a silicone surface with antimicrobial and antibiofilm activity. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2013; 5: 6412-6422

[48] Lummis S.C., Harrison N.J., Lester H.A., Dougherty D.A.: A cation- π binding interaction with a tyrosine in the binding site of the GABAC receptor. Chem. Biol., 2005; 12: 993-997

[49] Mecozzi S., West A.P., Dougherty D.A.: Cation-π interactions in aromatics of biological and medicinal interest: electrostatic potential surfaces as a useful qualitative guide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996; 93: 10566-10571

[50] Mecozzi S., West A.P., Dougherty D.A.: Cation-π interactions in simple aromatics: Electrostatics provide a predictive tool. J. Am. Chem. Soc., 1996; 118: 2307-2308

[51] Olson C.A., Shi Z., Kallenbach N.R.: Polar interactions with aromatic side chains in alpha-helical peptides: Ch...O H-bonding and cation- π interactions. J. Am. Chem. Soc., 2001; 123: 6451-6452

[52] Otomo K., Toyama A., Miura T., Takeuchi H.: Interactions between histidine and tryptophan residues in the BM2 proton channel from influenza B virus. J. Biochem., 2009; 145: 543-554

[53] Pan J., Chen Q., Willenbring D., Yoshida K., Tillman T., Kashlan O.B., Cohen A., Kong X.P., Xu Y., Tang P.: Structure of the pentameric ligand-gated ion channel ELIC cocrystallized with its competitive antagonist acetylcholine. Nature Commun., 2012; 3: 714

[54] Pan Y., Zhang K., Qi J., Yue J., Springer T.A., Chen J.: Cation- π interaction regulates ligand-binding affinity and signaling of integrin $\alpha_4\beta_7$. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010; 107: 21388-21393

[55] Parrill A.L., Wanjala I.W., Pham T.C., Baker D.L.: Computational identification and experimental characterization of substrate binding determinants of nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 7. BMC Biochemistry, 2011; 12: 65 [56] Pless S.A., Galpin J.D., Frankel A., Ahern C.A.: Molecular basis for class Ib anti-arrhythmic inhibition of cardiac sodium channels. Nature Commun., 2011; 2: 351

[57] Prajapati R.S., Sirajuddin M., Durani V., Sreeramulu S., Varadarajan R.: Contribution of cation- π interactions to protein stability. Biochemistry, 2006; 45: 15000-15010

[58] Queralt-Rosinach N., Mestres J.: A canonical cation- π interaction stabilizes the agonist conformation of estrogen-like nuclear receptors. Eur. Biophys. J., 2010; 39: 1471-1475

[59] Raines D.E., Gioia F., Claycomb R.J., Stevens R.J.: The N-methyl-D-aspartate receptor inhibitory potencies of aromatic inhaled drugs of abuse: evidence for modulation by cation- π interactions. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2004; 311: 14-21

[60] Rao J.S., Zipse H., Sastry G.N.: Explicit solvent effect on cation--pi interactions: a first principle investigation. J. Phys. Chem. B, 2009; 113: 7225-7236

[61] Reddy A.S., Sastry G.N.: Cation [M = H⁺, Li⁺, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, NH₄⁺, and NMe₄⁺] interactions with the aromatic motifs of naturally occurring amino acids: a theoretical study. J. Phys. Chem. A, 2005; 109: 8893-8903

[62] Reddy A.S., Zipse H., Sastry G.N.: Cation- π interactions of bare and coordinatively saturated metal ions: contrasting structural and energetic characteristics. J. Phys. Chem. B, 2007; 111: 11546-11553

[63] Redmond T.M., Poliakov E., Kuo S., Chander P., Gentleman S.: RPE65, visual cycle retinol isomerase, is not inherently 11-cis-specific: support for a carbocation mechanism of retinol isomerization. J. Biol. Chem., 2010; 285: 1919-1927

[64] Remko M., Soralova S.: Effect of water coordination on competition between π and non- π cation binding sites in aromatic amino acids: L-phenylalanine, L-tyrosine, and L-tryptophan Li⁺, Na⁺, and K⁺ complexes. J. Biol. Inorg. Chem., 2012; 17: 621-630

[65] Roderick S.L., Chan W.W., Agate D.S., Olsen L.R., Vetting M.W., Rajashankar K.R., Cohen D.E.: Structure of human phosphatidylcholine transfer protein in complex with its ligand. Nat. Struct. Biol., 2002; 9: 507-511

[66] Ruan C., Yang Z., Hallowita N., Rodgers M.T.: Cation- π interactions with a model for the side chain of tryptophan: structures and absolute binding energies of alkali metal cation-indole complexes. J. Phys. Chem. A, 2005; 109: 11539-11550

[67] Ruan C.H., Rodgers M.T.: Cation- π interactions: Structures and energetics of complexation of Na⁺ and K⁺ with the aromatic amino acids, phenylalanine, tyrosine, and tryptophan. J. Am. Chem. Soc., 2004; 126: 14600-14610

[68] Ryzhov V., Dunbar R.C., Cerda B., Wesdemiotis C.: Cation- π effects in the complexation of Na⁺ and K⁺ with Phe, Tyr, and Trp in the gas phase. J. Am. Soc. Mass Spectr., 2000; 11: 1037-1046

[69] Santarelli V.P., Eastwood A.L., Dougherty D.A., Horn R., Ahern C.A.: A cation- π interaction discriminates among sodium channels that are either sensitive or resistant to tetrodotoxin block. J. Biol. Chem., 2007; 282: 8044-8051

[70] Shi Z.S., Olson C.A., Kallenbach N.R.: Cation-pi interaction in model alpha-helical peptides. J. Am. Chem. Soc., 2002; 124: 3284-3291

[71] Siu F.M., Ma N.L., Tsang C.W.: Competition between π and non- π cation-binding sites in aromatic amino acids: A theoretical study of alkali metal cation (Li^{*}, Na^{*}, K^{*})-phenylalanine complexes. Chem. Eur. J., 2004; 10: 1966-1976

[72] Sophiya K., Anbarasu A.: Structural stability studies in adhesion molecules - role of cation-pi interactions. Protoplasma, 2011; 248: 673-682

[73] Soteras I., Orozco M., Luque F.J.: Induction effects in metal cation-benzene complexes. Phys. Chem. Chem. Phys., 2008; 10: 2616-2624 [74] Sunner J., Nishizawa K., Kebarle P.: Ion-solvent molecule interactions in the gas-phase - the potassium-ion and benzene. J. Phys. Chem-Us, 1981; 85: 1814-1820

[75] Tantry S., Ding F.X., Dumont M., Becker J.M., Naider F.: Binding of fluorinated phenylalanine α -factor analogues to Ste2p: evidence for a cation- π binding interaction between a peptide ligand and its cognate G protein-coupled receptor. Biochemistry, 2010; 49: 5007-5015

[76] Tatko C.D., Waters M.L.: The geometry and efficacy of cation- π interactions in a diagonal position of a designed β -hairpin. Protein Sci., 2003; 12: 2443-2452

[77] Tavares Xda S., Blum A.P., Nakamura D.T., Puskar N.L., Shanata J.A., Lester H.A., Dougherty D.A.: Variations in binding among several agonists at two stoichiometries of the neuronal, $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor. J. Am. Chem. Soc., 2012; 134: 11474-11480

[78] Tayubi I.A., Sethumadhavan R.: Nature of cation- π interactions and their role in structural stability of immunoglobulin proteins. Biochemistry, 2010; 75: 912-918

[79] Tsuzuki S., Yoshida M., Uchimaru T., Mikami M.: The origin of the cation/ π interaction: the significant importance of the induction in Li⁺ and Na⁺ complexes. J. Phys. Chem. A, 2001; 105: 769-773

[80] Uchime O., Fields W., Kielian M.: The role of E3 in pH protection during alphavirus assembly and exit. J. Virol., 2013; 87: 10255-10262

[81] Vijay D., Sastry G.N.: Exploring the size dependence of cyclic and acyclic π -systems on cation- π binding. Phys. Chem. Chem. Phys., 2008; 10: 582-590

[82] Vivoli M., Angelucci F., Ilari A., Morea V., Angelaccio S., di Salvo M.L., Contestabile R.: Role of a conserved active site cation- π interaction in Escherichia coli serine hydroxymethyltransferase. Biochemistry, 2009; 48: 12034-12046

[83] Waters M.L.: Aromatic interactions in peptides: impact on structure and function. Biopolymers, 2004; 76: 435-445

[84] Williams J.K., Zhang Y., Schmidt-Rohr K., Hong M.: pH-dependent conformation, dynamics, and aromatic interaction of the gating tryptophan residue of the influenza M2 proton channel from solid-state NMR. Biophys. J., 2013; 104: 1698-1708

[85] Wintjens R., Lievin J., Rooman M., Buisine E.: Contribution of cation- π interactions to the stability of protein-DNA complexes. J. Mol. Biol., 2000; 302: 395-410

[86] Wu D., Hu Q., Yan Z., Chen W., Yan C., Huang X., Zhang J., Yang P., Deng H., Wang J., Deng X., Shi Y.: Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8. Nature, 2012; 484: 214-219

[87] Xiu X., Puskar N.L., Shanata J.A., Lester H.A., Dougherty D.A.: Nicotine binding to brain receptors requires a strong cation- π interaction. Nature, 2009; 458: 534-537

[88] Yu R., Kaas Q., Craik D.J.: Delineation of the unbinding pathway of α -conotoxin ImI from the α 7 nicotinic acetylcholine receptor. J. Phys. Chem. B, 2012; 116: 6097-6105

[89] Zhang M., Cho E.J., Burstein G., Siegel D., Zhang Y.: Selective inactivation of a human neuronal silencing phosphatase by a small molecule inhibitor. ACS Chem, Biol., 2011; 6: 511-519

[90] Zhong W., Gallivan J.P., Zhang Y., Li L., Lester H.A., Dougherty D.A.: From ab initio quantum mechanics to molecular neurobiology: a cation- π binding site in the nicotinic receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998; 95: 12088-12093

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.