

Streszczenie

Cyjanobakterie (sinice) są jednymi z najstarszych znanych form życia. Poprzez występowanie w zróżnicowanych środowiskach, często niesprzyjających, mikroorganizmy te wykształciły wiele strategii adaptacyjnych. Jedną z nich jest zdolność produkcji szerokiej gamy metabolitów wtórnych, które chronią je przed szkodliwymi warunkami środowiska oraz oddziałują na inne organizmy. Związki te znajdują również zastosowanie w życiu człowieka, między innymi jako produkty wyjściowe do opracowania nowych farmaceutyków. Związki te zostały zaklasyfikowane między innymi jako alkaloidy, peptydy, polisacharydy czy terpenoidy.

Badania genetyczne prowadzone nad bałtyckim szczepem *Nostoc edaphicum* CCNP1411 (tu: CCNP1411) wykazały istnienie czterech klastrów genowych odpowiedzialnych za kodowanie białek biorących udział w biosyntezie cyjanopeptolin, anabaenopeptyn, nostocyklopeptydów oraz jednej, jeszcze nie zidentyfikowanej klasy związków. W niniejszej pracy szczegółowo opisano dwie klasy peptydów – anabaenopeptyny (APs) i cyjanopeptoliny (CPs) produkowane przez szczep CCNP1411. Poznanie struktury i aktywności biologicznej metabolitów produkowanych przez szczep CCNP1411 wymagało pozyskania odpowiedniej ilości biomasy organizmu poprzez prowadzenie hodowli. W celu wyizolowania cyjanopeptydów zebrany materiał został poddany ekstrakcji i frakcjonowaniu. Różnorodność strukturalną w obrębie cyjanopeptolin wykazano zarówno na podstawie badań bioinformatycznych jak i analiz widm otrzymanych przy użyciu spektrometrii mas oraz spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego. Dowiedziono, że szczep CCNP1411 syntezuje 4 analogi anabaenopeptyn i 93 analogi cyjanopeptolin. W tym, w niniejszej rozprawie po raz pierwszy opisano struktury 3 nowych analogów APs i 79 nowych analogów CPs.

W trakcie prac nad anabaenopeptynami oceniono aktywność biologiczną trzech wyizolowanych APs względem pięciu enzymów proteolitycznych. Badania *in vitro* wykazały typową dla tej klasy peptydów aktywność, przy czym najsilniejsze efekty zaobserwowano względem karboksypeptydazy A.

W pracach nad cyjanopeptolinami wyizolowano 34 analogi (z 93 zidentyfikowanych) CPs w ilości wystarczającej do przeprowadzenia oceny aktywności biologicznej względem wybranych proteaz serynowych. Testy te potwierdziły istotność aminokwasu występującego w pozycji drugiej związku (t.j. pomiędzy treoniną a kwasem Ahp). Cyjanopeptoliny z arginina w pozycji drugiej (Arg²) wykazywały aktywność względem trombiny w zakresie IC₅₀ = 0,28 – 7,25 μM, a także, w niektórych przypadkach słabą aktywność względem chymotrypsyny. Natomiast peptydy z Tyr², Phe² i Leu² były silnie i selektywnie, aktywne względem chymotrypsyny. Ponadto cyjanopeptoliny z Leu² były aktywne względem elastazy. Selektywność związków zawierających Leu² została zaobserwowana również w testach względem komórek nowotworowych szyjki macicy linii HeLa. CP 919 w najwyższym stężeniu zastosowanym w teście (t.j. 200 μg × mL⁻¹) zmniejszała przeżywalności komórek o

97,6% w porównaniu z kontrolą. W pracy zbadano także aktywność wybranych cyjanopeptolin względem wirusa SARS-CoV-2. Spośród badanych związków, Cp-Arg² wykazały najsilniejsze hamowanie infekcji wirusa SARS-CoV-2 Delta w komórkach A549^{ACE2/TMPRSS2}. Testy funkcjonalne wskazały na bezpośrednią interakcję CP 978 zawierającej Arg z wirionami. CP 978 wywołała również znaczny spadek replikacji wirusa w pierwotnych ludzkich komórkach nabłonka dróg oddechowych (HAE). Analizy z zastosowaniem mikroskopii konfokalnej i pseudowirusów SARS-CoV-2 wykazały, że hamowanie infekcji wirusowej przez CP 978 zachodzi na drodze bezpośredniego wiązania cyjanopeptoliny z białkiem S koronawirusa, co uniemożliwia jego interakcje z receptorem na powierzchni komórki.

Wyniki opisane w niniejszej pracy wykazują znaczenie bałtyckiej cyjanobakterii *Nostoc edaphicum* CCNP1411 jako źródła wielu obiecujących metabolitów o potencjalnym, farmaceutycznym zastosowaniu.