

## WPLYW RESZT $\Delta$ PHE NA KONFORMACJĘ ŁAŃCUCHA PEPTYDOWEGO

### INFLUENCE OF $\Delta$ PHE RESIDUES ON CONFORMATION OF PEPTIDE CHAIN

**Patrycja Ledwoń<sup>1,2</sup>, Agnieszka Staśkiewicz<sup>1,3</sup>,  
Michał Jewgiński<sup>1</sup>, Rafał Latajka<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>*Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Bioorganicznej, Politechnika Wrocławska,  
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, Polska*

<sup>2</sup>*Katedra Neurologii, Psychologii, Badań nad Lekami i Zdrowiem Dziecka -  
Seksja Nauk Farmaceutycznych i Nutraceutycznych, Uniwersytet Florencki,  
Via Ugo Schiff 6, 50019, Sesto Fiorentino, Włochy*

<sup>3</sup>*Laboratorium Chemii i Biologii Peptydów i Białek, Wydział Chemii  
"Ugo Schiff", Uniwersytet Florencki, Via della Lastruccia 13, 50019,  
Sesto Fiorentino, Włochy*

\*e-mail: rafal.latajka@pwr.edu.pl

---

#### Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Konformacja dehydropeptydów zawierających dwie reszty dehydroaminokwasowe
  - 1.1. Konformacja peptydów zawierających sekwencję  $-\Delta X-\Delta X-$
  - 1.2. Konformacja peptydów zawierających w sekwencji motyw  $-\Delta X-Y-\Delta X-$
  - 1.3. Konformacja peptydów zawierających dwie reszty dehydrofenyloalaniny oddzielone dwiema (lub więcej) nasyconymi resztami aminokwaso-wymi
  - 1.4. Konformacje peptydów zawierających fragment  $-(Aib-\Delta Phe)_2-$
2. Samoorganizujące się struktury (np. nanorurki, nanopłytki, hydrożele)
3. Zastosowanie dehydropeptydów jako potencjalne leki

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

---

**Mgr Patrycja Ledwoń** jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Pracę magisterską realizowała w Zespole Chemii i Stereochemii Peptydów i Białek prof. Zbigniewa Szewczuka. Po stażu odbytym w 2018 r. na Uniwersytecie Florenckim, rozpoczęła badania do pracy doktorskiej w Katedrze Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem dr hab. Rafała Latajki, prof. uczelni oraz prof. Paolo Rovero (Uniwersytet Florencki). Skupia się na projektowaniu, syntezie i zastosowaniu peptydów w leczeniu chorób skóry.




 <https://orcid.org/0000-0003-2382-390X>

---

**Mgr Agnieszka Staśkiewicz** w latach 2013-2018 była studentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. W 2018 roku została jego absolwentką i rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod opieką dr hab. Rafała Latajki, prof. uczelni. Współpracuje z grupą badawczą prof. Anny Marii Papini z Uniwersytetu Florenckiego we Włoszech. Jej zainteresowania naukowe głównie skupione są na syntezie peptydów na podłożu stałym oraz na badaniach ich aktywności biologicznej.



 <https://orcid.org/0000-0003-2111-6726>

---

**Dr inż. Michał Jewgiński** jest adiunktem w Katedrze Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Pracę doktorską, realizowaną pod kierunkiem profesora Pawła Kafarskiego, obronił w roku 2009. Jego zainteresowania naukowe skupiają się na syntezie i aktywności biologicznej różnej klasy foldamerów.




 <https://orcid.org/0000-0003-4931-5452>

---

**Dr hab. Rafał Latajka, prof. uczelni** jest pracownikiem Katedry Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Pracę doktorską, realizowaną pod kierunkiem profesora Pawła Kafarskiego, obronił w roku 2001, a w roku 2009 uzyskał stopień doktora habilitowanego. Jego zainteresowania naukowe skupiają się wokół badań peptydomimetyków oraz foldamerów peptydowych, jak również badań zależności struktura-aktywność.



 <https://orcid.org/0000-0003-2943-2838>

### ABSTRACT

In the past few years dehydropeptides have been highly investigated, mainly due to their biological activity: for instance, as antimicrobials or catalytic agents in some enzymes [1, 51-53]. In presented studies it was established that dehydrophenylalanine residue ( $\Delta$ Phe) can be an interesting building block of various peptide chains, in order to control and modify a structure, conformation and function of the target molecule [3, 4, 5-7]. It was also pointed out that the length of a linker between dehydroamino acid residues (if two or more are present in a peptide chain) is a crucial factor in case of conformational dependence [23]. Short, one-residue spacers promote  $3_{10}$ -helical structure, while longer ones increase the coexistence of  $3_{10}$ -helical and  $\alpha$ -helical conformers (Table 7).

What is worth to notice, temperature or polarity of solvent can dramatically change the screw sense of obtained  $3_{10}$ -helices (Table 11). Additionally, the screw sense can be altered by other variables, like chirality of *C* and *N*-terminus or dehydroamino acid isomer type (*E* or *Z*) [4-11]. Considering chain conformation, it can be disparate, depending on environment's solid or liquid state (Table 7).

Application of dehydropeptides is widely spread among assorted field of studies. As they can form a few self-assembled structures (e.g. nanotubes, nanovesicles or hydrogels), arise an opportunity of encapsulation of small drug molecules or trapping and releasing bioactive substances [47-49]. Sequences with incorporated dehydroamino acid residues were examined as a potential drug – interaction with negatively charged membrane of bacteria species is possible by virtue of positive polarization of peptide chain [51]. Part of the sequences exert an activity against *E. coli*, *S. aureus*, *P. falciparum* or highly dangerous MRSA, presenting versatile potential correlated with their secondary structure [50-53].

Keywords: dehydroamino acids, dehydrophenylalanine

Słowa kluczowe: dehydroaminokwasy, dehydrofenyloalanina

---

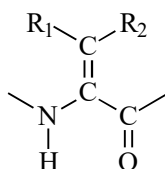
**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

Api	– kwas 4-aminopiperydino-4-karboksylowy
CCDE	– C-końcowy kowalencyjny chiralny efekt domina (ang. <i>C-terminal Covalent Chiral Domino Effect</i> )
MRSA	– gronkowiec złocisty oporny na metycylinę (ang. <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> )
Nap	– naftyloalanina
NCDE	– N-końcowy niekowalencyjny chiralny efekt domina (ang. <i>N-terminal Noncovalent Chiral Domino Effect</i> )
<i>p</i> -NA	– <i>p</i> -nitroanilid
$\Delta$ Phe	– dehydrofenyloalanina

## WPROWADZENIE

Racjonalna interpretacja wyników testów biologicznych oraz projektowanie nowych związków chemicznych wymaga wiedzy na temat zależności między strukturą i aktywnością (ang. *structure-activity relationship, SAR*). Rozwój badań nad odkrywaniem nowych leków skupił się głównie na syntezie niewielkich mimetyków silnych związków terapeutycznych. Z tego powodu w ciągu ostatnich lat istotne stało się poszukiwanie nowych czynników pełniących rolę modyfikatorów konformacji łańcucha peptydowego.

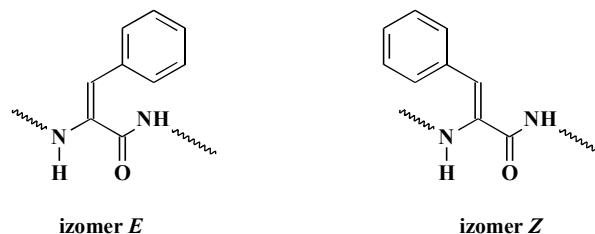
Dehydroaminokwasy odgrywają rolę katalityczną w miejscach aktywnych niektórych drożdży i enzymów bakteryjnych [1], a także występują w różnorodnych antybiotykach peptydowych pochodzenia bakteryjnego, w tym w lantibiotykach [2] (m.in. nizynie, subtilinie, epiderminie, galiderminie) oraz innych bardziej zmodyfikowanych peptydach [3-5].



Rysunek 1. Ogólny schemat budowy reszty dehydroaminokwasowej  
Figure 1. General structure of dehydroamino acid residue

Dowiedziano, iż reszty dehydroaminokwasowe w peptydach mają silny wpływ zarówno na łańcuch główny jak i łańcuchy boczne reszt aminokwasowych, ze względu na obecność wiązania podwójnego  $C^{\alpha}=C^{\beta}$  [3]. Na przykład dehydroalanina przyjmuje przeważnie płaską konformację z orientacją *trans* dla kątów  $\psi$  i  $\phi$  oraz indukuje odwrotny  $\gamma$ -skręt w poprzedzającej ją reszcie aminokwasowej [1]. (*Z*)-dehydrofenyloalanina nadaje konformację  $\beta$ -skrętu w krótkich peptydach [4], oraz konformację  $3_{10}$ -helikalną w peptydach o dłuższych łańcuchach głównych [5-7]. Świadczy to o tym, że reszty dehydroaminokwasowe wywierają ogromny wpływ konformacyjny, niezależny od innych ograniczeń. Wobec tego wprowadzenie reszt dehydroaminokwasowych do bioaktywnych sekwencji peptydowych stało się użytecznym narzędziem służącym do badania zależności między strukturą a aktywnością i dostarczania nowych analogów o zwiększonej aktywności.

W tej pracy przedstawiamy dotychczasowy stan wiedzy na temat wpływu reszty dehydrofenyloalaniny ( $\Delta$ Phe) na konformację łańcucha peptydowego. Należy podkreślić, że oprócz liczby i lokalizacji reszt dehydroaminokwasowych w łańcuchu, bardzo ważnym zagadnieniem jest również rodzaj izomeru, odpowiednio (*Z*) lub (*E*).



Rysunek 2. Izomery  $\Delta$ Phe  
Figure 2. Isomers of  $\Delta$ Phe

Tabela 1. Peptydy zawierające jedną resztę dehydroaminokwasową  
Table 1. Peptide containing one dehydro-residue

Lp.	Peptyd	Odn.	Struktura	
			krystaliczna	w roztworze
1	Boc-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Phe- <i>p</i> -NA	33	typ II' $\beta$ -skręt	
2	Boc-Gly-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Phe- <i>p</i> -NA	33	2a: typ III' $\beta$ -skręt (A); typ III' $\beta$ -skręt (B) 2b: typ III $\beta$ -skręt (A); typ II', typ III $\beta$ -skręt (B)	typ II $\beta$ -skręt
3	Gly- $\Delta^Z$ Phe-Gly-Phe- <i>p</i> -NA·TFA	33		typ II $\beta$ -skręt
4	Boc-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Gly-Phe- <i>p</i> -NA	33, 34		
5	Boc-Gly- $\Delta^E$ Phe-Gly-Phe- <i>p</i> -NA	34		
6	Boc-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Gly-Phe-OMe	33, 34		
7	Boc-Gly- $\Delta^E$ Phe-Gly-Phe-OMe	34		
8	Boc-Gly-Phe-Gly-Phe- <i>p</i> -NA	33		

Tabela 2. Wartości kątów torsyjnych  $\phi$  i  $\psi$  (°) w peptydach zawierających jedną resztę dehydroaminokwasową  
Table 2. The values of  $\phi$  and  $\psi$  (°) torsion angles in peptides with containing one dehydro-residues

Peptyd	$\phi_1$	$\psi_1$	$\phi_2$	$\psi_2$	$\phi_3$	$\psi_3$	$\phi_4$	$\psi_4$
1	-68,7	-31,4	45,6	-134,0	-115,0	25,1		
2a Molekuła A	62,8	19,0	53,2	22,4	51,9	19,0	54,4	33,7
2a Molekuła B	-62,9	-20,7	-56,2	-21,7	-49,8	-23,0	-69,5	-17,5
2b Molekuła A	-62,5	-45,0	-63,1	-25,3	-60,0	-16,6	-74,8	-11,9
2b Molekuła B	65,0	-114,6	-59,4	-25,2	-61,0	-18,6	-76,5	-12,5

W Tabeli 1 zostały określone preferencje konformacyjne *p*-nitroanilidów (*p*-NA) dehydropeptydów 1÷7 zawierających jedną resztę dehydrofenyloalaniny. Uzyskane wyniki sugerują, że izomeria reszty dehydroaminokwasowej, jak i obecność grupy *p*-NA, są istotne dla określenia konformacji peptydów. W przypadku peptydu 1 istnieje jedna dominująca konformacja, mianowicie  $\beta$ -skręt typu II' obserwowany w strukturze krystalicznej. Podczas gdy peptyd 2 przyjmuje dwie różne konformacje w zależności od

obecności rozpuszczalnika (2a - z rozpuszczalnikiem, 2b - bez rozpuszczalnika – struktura krystaliczna). Dodatkowo, każdy ze wspomnianych peptydów preferuje dwie formy asymetryczne (A lub B) o strukturze drugorzędowej (Tabela 2). Badania NMR dla peptydów 1÷4 potwierdzają utworzenie się struktur β-skrętu, ale nie dostarczają wystarczających dowodów na powstanie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych.

## 1. KONFORMACJA DEHYDROPEPTYDÓW ZAWIERAJĄCYCH DWIE RESZTY DEHYDROAMINOKWASOWE

### 1.1. KONFORMACJA PEPTYDÓW ZAWIERAJĄCYCH SEKWENCJĘ -ΔX-ΔX-

Tabela 3. Peptyd zawierający dwie reszty dehydroaminokwasowe o sekwencji -ΔX-ΔX-

Table 3. Peptide containing two dehydro-residue in sequence -ΔX-ΔX-

Lp.	Peptyd	Odn.	Struktura	
			krystaliczna	w roztworze
1	Ac-ΔPhe-ΔPhe-Gly-OH	28	kształt litery S	
2	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-Ala-OH	28, 32	kształt litery S	β-skręt
3	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-Phe-OH	28	kształt litery S	β-skręt
4	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-Leu-OH	28	kształt litery S	β-skręt
5	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-Val-OH	28	kształt litery S	β-skręt
6	Ac-ΔPhe-ΔPhe-Glu-OH	28	kształt litery S	β-skręt
7	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-Phe-OMe	28	kształt litery S	β-skręt
8	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-α-feniloetyloamina	28	kształt litery S	
9	Ac-ΔPhe-ΔPhe-L-Pro-OH	28		β-skręt
10	Cbz-ΔVal-Δ <sup>2</sup> Phe-Ala-OMe	26	typ I β-skręt	
11	Boc-L-Ala-Δ <sup>2</sup> Phe-Δ <sup>2</sup> Phe-NHMe	19	lewo- i prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa	prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa
12	Boc-Ala-Δ <sup>2</sup> Phe-Δ <sup>2</sup> Phe-Phe-OMe	25	nałożenie typu II' i III β-skręt	
13	Boc-L-Val-ΔPhe-ΔPhe-L-Ile-OMe	13	prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa	
14	Boc-L-Val-ΔPhe-ΔPhe-L-Ala-OMe	13, 33	nałożenie typu II i III' β-skręt	
15	Boc-L-Val-ΔPhe-ΔPhe-L-Val-OMe	13, 14	nałożenie typu II i III' β-skręt	
16	Boc-Leu-ΔPhe-ΔPhe-Ala-Phe-NHMe	35	prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa	

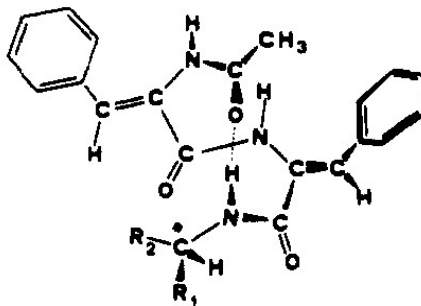
Tabela 4. Wartości kątów torsyjnych φ i ψ (°) w peptydach z sekwencją -ΔX-ΔX- w strukturze krystalicznej

Table 4. The values of φ and ψ (°) torsion angle in peptide with sequence -ΔX-ΔX- in crystal state

Peptyd	φ <sub>1</sub>	ψ <sub>1</sub>	φ <sub>2</sub>	ψ <sub>2</sub>	φ <sub>3</sub>	ψ <sub>3</sub>	φ <sub>4</sub>	ψ <sub>4</sub>	φ <sub>5</sub>
1	42,9	51,2	-55,2	-49,6					
2	41,0	55,3	-48,0	-39,1					
10	-53,9	-33,0	-73,7	-12,2	106,0	-168,8			
11a	-71,0	-25,0	-63,1	-11,5	-62,4	-24,2			
11b	37,1	59,7	67,6	6,6	59,9	25,1			
12	53,7	-135,9	-59,2	-17,9	-68,4	-18,8	63,6	48,0	
13	-56,0	-38,0	-53,8	-23,6	-82,9	-10,6	-124,9		
14	-65,5	130,5	65,8	12,8	79,4	3,9	-106,4	-54,6	
15	-53,1	128,6	99,2	13,2	80,2	4,0	-104,2	-30,2	
16	-57,6	-45,9	-52,8	-29,8	-59,6	-22,9	-78,6	-6,6	-92,5

W przypadku kryształu tripeptydu zawierającego dwie reszty  $\Delta$ Phe, umieszczone kolejno w pozycji  $(i+1)$  i  $(i+2)$ , obserwuje się strukturę o kształcie litery S, z kątami torsyjnymi  $\phi$  oraz  $\psi$  o naprzemiennych wartościach dodatnich i ujemnych. Jednak konformacja tego tripeptydu w roztworze ma inny charakter, co jest prawdopodobnie związane ze stabilizacją przez jedno wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe, w utworzenie którego zaangażowany jest proton trzeciej reszty aminokwasowej (Rysunek 3) [28]. Ponadto, widma CD otrzymane w metanolu przedstawiają dwa maksima ze znakami przeciwnymi, dla peptydu 2÷8 - dodatnie i ujemne, odpowiednio dla krótszej i dłuższej długości fali. Z kolei odwrotnie jest w przypadku peptydu 9 - ujemne i dodatnie maksima dla krótszej oraz dłuższej długości fali. Widma CD tego typu obserwuje się, gdy w układzie występują oddziaływania dipol-dipol między chromoforami  $\Delta$ Phe. Wskazuje to na fakt, że dwie reszty  $\Delta$ Phe są umieszczone w cząsteczce w odwrotnej pozycji. Brak protonu amidowego w reszcie proliny [Pro3] w peptydzie 9 jest przyczyną różnic w widmach CD.

Wymiana reszty  $\Delta$ Phe w peptydzie 2 na  $\Delta$ Val prowadzi do otrzymania peptydu 10 przyjmującego zupełnie inną konformację w ciele stałym. Zamiast konformacji *Zig-Zag* (charakterystyczna dla sekwencji  $\Delta$ Phe- $\Delta$ Phe) zaobserwowano konformację  $\beta$ -skreću typu I. Dodatkowo, struktura ta charakteryzuje się obecnością wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego  $(i+3)\rightarrow i$ .



Rysunek 3. Zaproponowana konformacja peptydu z dwiema  $\Delta$ Phe w pozycji  $(i+1)$  i  $(i+2)$  w roztworze  
 Figure 3. Proposed conformation of peptide with two  $\Delta$ Phe in position  $(i+1)$  and  $(i+2)$  in solution





prawoskrętna helisa. Nieoczekiwanie bardziej polarne rozpuszczalniki sprzyjają powstawaniu helisy prawoskrętnej. Co ciekawe, nawet w DMSO może zaobserwować pofałdowaną konformację stabilizowaną przez dwa wiązania wodorowe ( $i+3$ ) [19].

Dodatkowo, tendencja do przyjmowania zwiniętej konformacji przez peptydy z dwiema dehydrofenyloalaninami w pozycji ( $i+2$ ) oraz ( $i+3$ ) jest również zauważalna dla dłuższych łańcuchów peptydowych 12÷16. W strukturach wszystkich prezentowanych peptydów obecne są dwa wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe ( $i+3$ ), a każde z nich zbudowane jest z dwóch zachodzących na siebie  $\beta$ -skrętów. Ponadto stwierdzono, że kąty  $\beta$ -skrętów w ugrupowaniu  $\Delta$ Phe- $\Delta$ Phe są wyśrodkowane na  $\pm 60^\circ$  oraz  $\pm 30^\circ$  [14]. Jednak tylko jedna forma wspomnianych peptydów przyjmuje dwa następujące  $\beta$ -skręty typu III, które inicjują konformację prawoskrętnej  $3_{10}$ -helisy (13). W kolejnej potwierdzono nakładanie się  $\beta$ -skrętów typu II' i III (12),  $\beta$ -skrętów typu II i III' (14, 15) lub  $\beta$ -skrętu typu III i I (16). W przypadku peptydu 16 zwinięcie konformacji następuje w strukturze krystalicznej oraz obserwowane jest w roztworze, co również stabilizowane jest przez ( $i+3$ ) $\rightarrow$  $i$  wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe.

## 1.2. KONFORMACJA PEPTYDÓW ZAWIERAJĄCYCH W SEKWENCJI MOTYW - $\Delta$ X-Y- $\Delta$ X-

Tabela 5. Peptyd zawierający dwie grypy dehydroaminokwasowe oddzielone jedną nasyconą resztą aminokwasową.

Table 5. Peptide which are containing two dehydroamino acid residues separated by one saturated residue

Lp.	Peptyd	Odn.	Struktura	
			krystaliczna	w roztworze
1	Ac- $\Delta$ Phe-L-Ala- $\Delta$ Phe-NHMe	17, 22	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa
2	Ac- $\Delta$ Phe-L-Val- $\Delta$ Phe-NHMe	17, 34	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa
3	Ac- $\Delta^Z$ Phe-Pro- $\Delta^Z$ Phe-L-Ala-OMe	16		typ II $\beta$ -skręt leuoskrętna
4	Ac- $\Delta^Z$ Phe-Gly- $\Delta^Z$ Phe-L-Ala-OMe	17		$3_{10}$ -helisa
5	Cbz- $\Delta$ Val-Leu- $\Delta^Z$ Phe-Leu-OMe	8	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	
6	Cbz- $\Delta$ Ile-Ala- $\Delta^Z$ Phe-Ala-OMe	9	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	
7	$\Delta^Z$ Val-Val- $\Delta^Z$ Phe-Ile-OMe	17	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	
8	Boc-L-Ala- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-L-Ala-OMe	29, 27	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa
9	Boc-D-Ala- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-D-Ala-OMe	31	leuoskrętna $3_{10}$ -helisa	

10	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Leu-Δ <sup>Z</sup> Phe-Ala-NHMe	21	prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa	
11	Boc-Val-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Val-OMe	19	prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa	lewoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa
12	Boc-Pro-ΔPhe-Val-ΔPhe-Ala-OMe	36	kształt litery S	typ III i typ I β-skręt
13	Boc-Pro-ΔPhe-Gly-ΔPhe-Ala-OMe	36	prawoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa	lewoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa
14	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-OMe	35		zgięty
15	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-OH	35		zgięty
16	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Phe-OMe	35		zgięty
17	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Phe-OH	35		zgięty
18	Boc-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-OMe	35		zgięty
19	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-OMe	35		zgięty
20	Gly-Gly-ΔAla-Gly-ΔAla-Phe- <i>p</i> -NA	36		3 <sub>10</sub> -helisa
21	Boc-Gly-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Phe- <i>p</i> -NA	36		zgięty
22	Gly-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Phe- <i>p</i> -NA	36		zgięty
23	Boc-Gly-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Phe- <i>p</i> -NA	36		zgięty
24	Boc-Gly-Gly-Phe-Gly-Phe-Phe- <i>p</i> -NA	36		zgięty
25	Boc-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-Δ <sup>Z</sup> Phe-Gly-OH	40	typ III β-skręt	
26	Boc-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-Δ <sup>F</sup> Phe-Gly-OH	40	typ II β-skręt	

Tabela 6. Wartości kątów torsyjnych  $\phi$  i  $\psi$  (°) w peptydach z dwiema grupami dehydroaminokwasowymi oddzieloną przez jedną nasyconą resztę aminokwasowąTable 6. The value of  $\phi$  and  $\psi$  (°) torsion angles in peptides with two dehydro-residue separated by one saturated residue

Peptyd	$\phi_1$	$\psi_1$	$\phi_2$	$\psi_2$	$\phi_3$	$\psi_3$	$\phi_4$	$\psi_4$	$\phi_5$	$\psi_5$	$\phi_6$	$\psi_6$
1	-49,0	-26,1	-56,5	-26,8	-57,7	-23,1						
2	-53,6	-23,6	-62,0	-20,4	-59,2	-24,1						
5	-37,4	-48,1	-61,6	-16,2	-63,4	-19,5	53,0	-				
6	-53,6	-34,8	-64,8	-19,0	-62,8	-27,9	-103,1	138,8	52,5			
7	-38,7	-41,1	-73,0	-3,8	-62,0	-15,5	-119,7	-4,6				
9	98,4	-124,8	57,8	23,1	65,3	5,9	53,0	25,6	65,5	-152,1		
10	-59,7	-30,5	-57,5	-27,7	-71,2	-15,4	-58,3	-17,9	-79,0	7,1		
11	-115,5	160,7	-64,0	-19,1	-65,6	-7,4	-57,3	-19,3	-73,6	171,9		
12	-57,2	142,6	95,0	-14,4	-65,0	130,5	75,5	3,0	-63,6	-24,9		
13a	-83,4	116,6	-54,2	-24,0	-66,0	-7,5	-56,4	-24,1	-71,2	156,3		
13b	-87,9	153,9	-52,0	-26,8	-67,4	-6,8	-59,9	-18,3	-75,5	-76,9		
14	-127,1	-93,6	-94,7	-2,1	-95,9	-77,4	7,5	-88,3	104,5	42,6		
15a	58,1	22,8	47,6	33,4	-76,3	-70,2	101,8	-4,1	57,9	58,1		
15b	-47,8	-47,4	-25,7	-41,2	83,4	72,6	-101,8	2,7	-59,1	-47,8		
16a	117,6	116,1	84,2	-1,1	-136,9	-103,0	-56,4	-40,5	-12,4	107,2		
16b	114,9	-69,6	-90,7	-2,4	-129,3	-95,4	-54,2	-26,3	-10,5	107,1		
17a	121,1	-47,5	-80,4	-17,2	178,1	-50,9	-67,8	-49,7	69,3	121,1		
17b	-47,5	43,7	83,1	-3,3	159,8	-43,9	-71,3	-50,2	77,2	-123,1		
18a	43,7	-66,0	133,8	98,0	-176,6	49,8	-10,9	61,2	-172,2	13,4		
18b	-111,4	65,0	-132,8	-100,9	172,9	-48,8	10,6	-62,1	174,7	3,1		
19a	-147,7	166,5	107,2	-48,1	107,3	65,0	51,7	93,1	27,2	58,9		
19b	147,4	-163,2	-109,8	48,3	-112,3	-50,0	-36,3	-91,8	-29,3	-58,8		

20a	-	155,4	162,4	-95,5	-57,5	-20,3	67,5	-63,0	-72,5	53,1	54,3	93,9
20b	-	64,5	-135,6	100,3	55,5	24,1	-61,0	74,9	58,4	-6,1	61,2	99,5
21a	105,1	89,4	76,1	-102,0	67,4	93,2	-75,6	43,3	32,4	34,1	-91,4	91,0
21b	102,2	-112,4	-86,8	125,3	-72,9	-94,8	73,1	-20,9	-2,3	110,5	-85,0	89,3
21a'	162,9	-53,6	-125,7	-60,2	7,3	-44,1	66,4	30,3	39,1	53,1	-100,9	54,4
21b'	-133,7	44,1	121,5	44,9	23,8	42,8	-61,1	-36,9	-33,7	-70,4	-37,3	-9,5
22a	-	165,9	-53,0	87,4	-78,1	47,5	-75,2	14,8	11,2	87,7	-167,0	94,0
22b	-	-172,9	89,7	-83,8	76,8	-46,8	70,7	-82,8	-74,8	-99,5	68,3	86,1
23a	51,7	-95,4	81,4	72,9	99,1	77,3	-43,8	113,5	82,5	-26,2	-68,3	-40,7
23b	51,2	-98,1	79,6	74,2	93,1	81,5	-28,4	-48,8	-88,7	33,4	-113,2	-43,9
24	7,3	-4,6	-36,3	20,1	61,5	158,4	42,5	-12,5	36,8	77,6	136,4	95,5

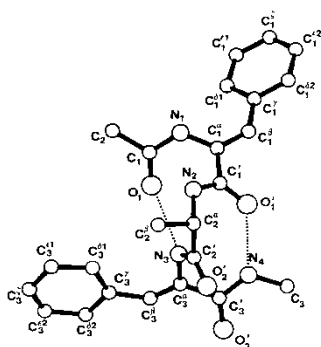
Zasadniczo peptydy zawierające dwie reszty dehydroaminokwasowe w sekwencji  $-\Delta X-Y-\Delta X$  przyjmują wysoce zwinięte konformacje zarówno w strukturze krystalicznej, jak i w roztworze. Wspomniana uporządkowana struktura jest obserwowana w tripeptydach.

Tripeptydy, oznaczone jako 1 i 2, składają się z dwóch  $\Delta$ Phe oddzielonych jednym nasyconym aminokwasem, co można zaobserwować na podstawie wartości kątów torsyjnych w strukturze krystalicznej (Tabela 6), ponieważ przyjmują one dwa kolejne  $\beta$ -skrety typu III. W takim wypadku struktura odpowiada inicjowanej prawoskrętnej  $3_{10}$ -helisie. Oba układy są stabilizowane przez dwa wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe (Rysunek 5). Skądinąd, w roztworze zauważono identyczną konformację a także dowiedziono, iż skręcalność helisy jest niezależna od polarności rozpuszczalnika. Dodatkowo zaprezentowano, że we wszystkich badanych rozpuszczalnikach (tzn. chlorku metylenu, acetonitrylu, metanolu, trifluoroetanolu) peptydy zachowują konformację prawoskrętnej  $3_{10}$ -helisy [17]. Przykład wspomnianych peptydów doskonale obrazuje, że obecność drugiej reszty aminokwasowej z rozgałęzionym łańcuchem bocznym nie wpływa na ustaloną konformację.

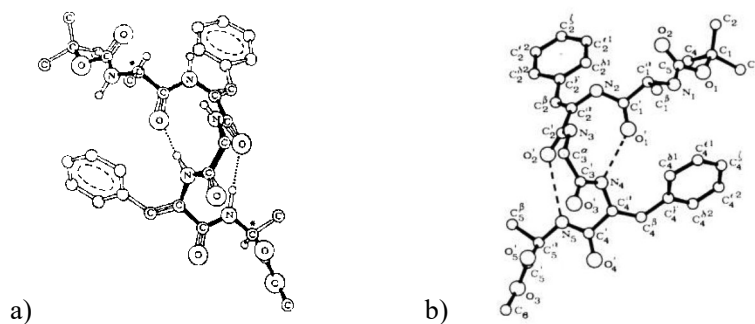
Na przykładzie zaprezentowanych struktur 4÷7, można stwierdzić, iż preferencje strukturalne peptydów nie zależą od reszty dehydroaminokwasowej w pozycji ( $i+1$ ). Znaczącą różnicą między strukturami wspomnianych peptydów jest rodzaj skręcalności peptydu 4. Przytoczona odrębność spowodowana jest obecnością reszty alaniny, która jest jedyną chiralną resztą aminokwasową w omawianym peptydzie, w pozycji czwartej. Ta C-końcowa reszta wykazuje tendencję do skręcalności peptydu. Zobligowana skręcalność jest odwrotna w stosunku do tego co faworyzuje reszta chiralna, zlokalizowana w wewnętrznej pozycji sekwencji peptydowej (prawoskrętna helisa) [17].

Dzięki porównaniu preferencji strukturalnych peptydu 8 i 9 okazało się, że konformacja absolutna N i C-końcowych reszt aminokwasowych ma kluczowe znaczenie dla skręcalności helisy (Tabela 6, Rysunek 6a i 6b).

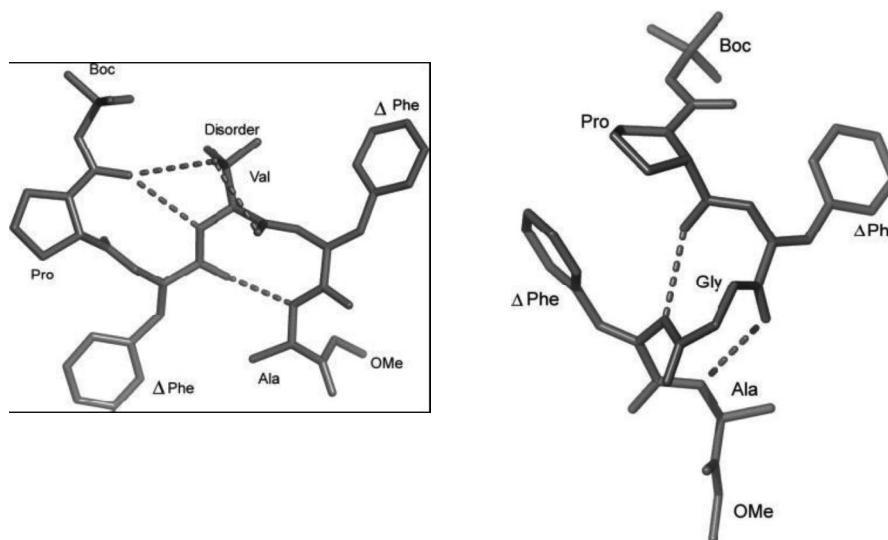
Interesujące wydają się również preferencje konformacyjne peptydów 12 i 13. Jedyną różnicą między tymi peptydami jest obecność innej reszty aminokwasowej w pozycji trzeciej, odpowiednio Val lub Gly. Jak się okazało, różnica wielkości podstawnika przy atomie węgla  $C^B$  ma duże znaczenie dla przyjętej konformacji (Tabela 6, Rysunek 7a i 7b).



Rysunek 5. Struktura Ac- $\Delta$ Phe-Ala- $\Delta$ Phe-NHMe (1); wiązania wodorowe – linia kropkowana  
 Figure 5. Molecular structure of Ac- $\Delta$ Phe-Ala- $\Delta$ Phe-NHMe (1); hydrogen bond – dotted line



Rysunek 6. Konformacja w strukturze krystalicznej a) Boc-L-Ala- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-L-Ala-OMe, b) Boc-D-Ala- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-D-Ala-OMe; wiązania wodorowe – linia kropkowana  
 Figure 6. Solid state conformation of a) Boc-L-Ala- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-L-Ala-OMe, b) Boc-D-Ala- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-D-Ala-OMe; hydrogen bond – dotted line



Rysunek 7. Struktura krystaliczna a) Boc-Pro- $\Delta$ Phe-Val- $\Delta$ Phe-Ala-OMe (12), b) Boc-Pro- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-Ala-OMe (13); wiązania wodorowe – linia przerywana

Figure 7. Crystal structure of a) Boc-Pro- $\Delta$ Phe-Val- $\Delta$ Phe-Ala-OMe (12), b) Boc-Pro- $\Delta$ Phe-Gly- $\Delta$ Phe-Ala-OMe (13); hydrogen bonds – dashed line

Interesującą grupę dehydropeptydów stanowią pentapeptydy 14÷19, zawierające dwie reszty dehydrofenyloalaniny w pozycji 2 i 4. Głównymi różnicami w ich strukturze drugorzędowej jest struktura C-końcowego aminokwasu, jego forma i rodzaj izomeru dehydrofenyloalanina. Otrzymane wyniki dla tej grupy związków sugerują przyjęcie zgiętego kształtu cząsteczki i nie wskazują na wyraźny związek między strukturą a konformacją. Wartości kątów przedstawione w Tabeli 6 są typowe dla drugorzędowej struktury peptydów z dwiema resztami  $\Delta$ Phe oddzielonymi jedną nasyconą resztą aminokwasową. Co więcej, oprócz peptydu 14 (występuje jako pojedynczy konformer), peptydy 15÷19 wykazują skłonność do występowania w postaci dwóch różnych konformerów, przykładowo, związki 15 i 18 występują w dwóch symetrycznych formach, o odpowiednio niższej i wyższej wartości energii [35]. Podobne wyniki uzyskano dla peptydów 21÷24. Każdy z nich przyjmuje zgiętą konformację, a w roztworze mogą występować w postaci dwóch różnych formach.

Inne preferencje konformacyjne obserwuje się natomiast dla peptydu 20. Obecność dwóch reszt  $\Delta$ Ala indukuje konformację  $3_{10}$ -helikalną. Badania wykazały, że wpływ wolnego N-końca w łańcuchu na konformację całej cząsteczki jest nieznaczny [36].

Porównanie peptydów 25 i 26 (różniących się jedynie konfiguracją reszt  $\Delta$ Phe) wskazuje na znaczną rolę rodzaju izomeru (*Z* lub *E*) na ułożenie całej molekuly. Oba te peptydy posiadają konformację  $\beta$ -skreću, ale o różnym charakterze [40].

### 1.3. KONFORMACJA PEPTYDÓW ZAWIERAJĄCYCH DWIE RESZTY DEHYDROFENYLOALANINY ODDZIELONE DWIEMA (LUB WIĘCEJ) NASYCONYMI RESZTAMI AMINOKWASOWYMI

Tabela 7. Peptydy zawierające dwie reszty dehydroaminokwasowe oddzielone dwiema lub więcej nasyconymi resztami aminokwasowymi

Table 7. Peptide containing two dehydro-residues separated by two or more saturated amino acids

Lp.	Peptyd	Odn.	Struktura	
			krystaliczna	w roztworze
1	Boc-L-Ala- $\Delta^Z$ Phe-Aib-L-Ala- $\Delta^Z$ Phe-Aib-OMe	18		prawoskrętna $3_{10}$ -helisa
2	Boc-L-Phe- $\Delta^Z$ Phe-L-Val-L-Phe- $\Delta^Z$ Phe-L-Val-OMe	20, 24	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa	mieszanina $\alpha$ - i $3_{10}$ -helisa (CHCl <sub>3</sub> ); wydłużona (DMSO)
3	Boc-Val- $\Delta$ Phe-Leu-Phe-Ala- $\Delta$ Phe-Leu-OMe	15	mieszanina $\alpha$ - i $3_{10}$ -helisa	
4	Boc-Gly- $\Delta^Z$ Phe-L-Ala-L-Phe-L-Leu- $\Delta^Z$ Phe-L-Ala-NHMe	23		$\alpha$ -helisa
5	Boc-Gly- $\Delta^E$ Phe-Phe-Gly- $\Delta^E$ Phe-Phe-OH	37		zgięta (DMSO)
6	H <sub>2</sub> N-Gly- $\Delta^E$ Phe-Phe-Gly- $\Delta^E$ Phe-Phe-OH-TFA	37		$3_{10}$ -helisa (DMSO)
7	Boc-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Gly-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Gly-OMe	37		nieuporządkowana $3_{10}$ -helisa (DMSO)
8	Boc-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Phe-Gly- $\Delta^Z$ Phe-Phe-OMe	37		<i>Zig-Zag</i> (DMSO)
9	Boc-Gly- $\Delta$ Ala-Gly-Gly- $\Delta$ Ala-Gly-OMe	37		charakterystyczna (DMSO)
10	Boc-Gly- $\Delta^E$ Phe-Gly-Gly- $\Delta^E$ Phe-Gly-OMe	37		wydłużona (DMSO)
11	Ac-Gly-Ala- $\Delta$ Phe-Ile-Val- $\Delta$ Phe-Ile-Val- $\Delta$ Phe-Ala-Gly-NH <sub>2</sub>	38	$3_{10}$ -helisa	
12	Boc-Val- $\Delta$ Phe-Phe-Ala-Phe- $\Delta$ Phe-Phe-Leu-Ala- $\Delta$ Phe-Gly-OMe	38	mieszanina $\alpha$ - i $3_{10}$ -helisa	
13	Ac-Gly-Ala- $\Delta$ Phe-Leu-Gly- $\Delta$ Phe-Leu-Gly- $\Delta$ Phe-Ala-Gly-NH <sub>2</sub>	42	prawo- i lewoskrętna $3_{10}$ -helisa	prawoskrętna $3_{10}$ -helisa

Dla dehydropeptydów zawierających motyw  $\Delta X-Y-\Delta X$  najbardziej preferowaną strukturą jest  $3_{10}$ -helisa. W przypadku dehydropeptydów zawierających dwie reszty dehydrofenyloalaniny oddzielone przez więcej niż jedną nasyconą resztę aminokwasową, oprócz  $3_{10}$ -helisy obserwuje się również obecność  $\alpha$ -helisy. Forma ta pojawia się tym częściej, im dłuższa jest sekwencja nasyconych reszt pomiędzy resztami dehydroaminokwasów [23]. W konformacji mieszanej występuje zarówno wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe typu  $(i+3)\rightarrow i$ , stabilizujące konformację  $3_{10}$ -helisy, jak również wiązanie typu  $(i+4)\rightarrow i$  obecne w  $\alpha$ -helisie [52]. Co istotne, zwinięta konformacja obecna w relatywnie niepolarnych rozpuszczalnikach (chloroformie) jest destabilizowana przez DMSO - peptyd 2 przyjmuje wówczas wydłużony kształt [24].





Peptydy 5÷10 z resztami dehydrofenyloalaninowymi wykazują interesujące preferencje konformacyjne. Mają one zbliżoną sekwencję, ale każdy z nich przyjmuje inną strukturę drugorzędową, zależnie od rodzaju rozpuszczalnika (Tabela 9). Konformacja uporządkowana występuje głównie w przypadku peptydów rozpuszczonych w chloroformie [37].

Rola  $\Delta$ Phe w łańcuchu peptydowym jest zauważalna w przypadku peptydu 11. Wprowadzenie reszt dehydroaminokwasów indukuje konformację  $3_{10}$ -helikalną nawet gdy w sekwencji obecne są reszty aminokwasowe narzucające konformację  $\beta$ -kartki (Val, Ile). Peptyd 12 przyjmuje natomiast mieszaną strukturę  $3_{10}$ - i  $\alpha$ -helikalną ze względu na obecność łącznika między resztami  $\Delta$ Phe o długości trzech reszt aminokwasowych [38].

W krystalicznej strukturze peptydu 12 współwystępują dwie konformacje, lewo- i prawoskrętna  $3_{10}$ -helisa, usytuowane antyrównolegle (konformery *a* i *b*). Analiza widm CD wskazuje jednak na dominujący udział prawoskrętnej  $3_{10}$ -helisy obecnej w roztworze. Uporządkowana struktura peptydu jest konsekwencją obecności reszty glicyny we fragmencie *GXXG* - to ułożenie reszt Gly odpowiada za formowanie zamka glicynowego, w którym obserwuje się wiązania wodorowe  $C^{\alpha}-H \cdots O$ . Dodatkowo, peptyd ten zdolny jest do samoorganizacji i przypomina budową helisy transmembranowe.

#### 1.4. KONFORMACJE PEPTYDÓW ZAWIERAJĄCYCH FRAGMENT -(Aib- $\Delta$ Phe)<sub>2</sub>-

Tabela 9. Lista peptydów zawierających ugrupowanie -(Aib- $\Delta$ Phe)<sub>2</sub>-  
Table 9. List of peptides containing -(Aib- $\Delta$ Phe)<sub>2</sub>- motif

Lp.	Peptyd	Odn.	Struktura	
			krystaliczna	w roztworze
1	Boc-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	11	lewoskrętna $3_{10}$ -helisa	lewoskrętna $3_{10}$ -helisa
2	Boc-Pro-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	11	lewoskrętna $3_{10}$ -helisa	lewoskrętna $3_{10}$ -helisa
3	Boc-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -L-Leu-OMe	28		lewoskrętna $3_{10}$ -helisa
4	Boc-L-Leu-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	28, 29		lewoskrętna $3_{10}$ -helisa
5	Boc-L-Leu-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -L-Leu-OMe	29		lewoskrętna $3_{10}$ -helisa
6	Boc-D-Leu-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -L-Leu-OMe	29		$3_{10}$ -helisa (skręcalność zależna od rozpuszczalnika)
7	Boc-D-Leu-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	29		prawoskrętna $3_{10}$ -helisa

8	Boc-Ala-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	30		lewoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa
9	Boc-Val-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	30		lewoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa
10	Boc-Phe-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	30		lewoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa
11	Boc-Nap-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	30		lewoskrętna 3 <sub>10</sub> -helisa 3 <sub>10</sub> -helisa
12	Boc-Aib-Leu-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	10, 12		(skręcalność zależna od rozpuszczalnika) 3 <sub>10</sub> -helisa
13	Boc-Aib-Ala-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	10		(skręcalność zależna od rozpuszczalnika) 3 <sub>10</sub> -helisa
14	Boc-Aib-Val-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	10		(skręcalność zależna od rozpuszczalnika) 3 <sub>10</sub> -helisa
15	Boc-Aib-Phe-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	10		(skręcalność zależna od rozpuszczalnika) 3 <sub>10</sub> -helisa
16	Boc-Aib-Nap-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -Aib-OMe	10		(skręcalność zależna od rozpuszczalnika)
17	H- $\beta$ -Ala- $\Delta^Z$ Phe-Aib- $\Delta^Z$ Phe-Api-Aib <sub>2</sub> -Api- Aib <sub>2</sub> -OMe	39		3 <sub>10</sub> -helisa (DMSO)
18	Boc-Aib- $\Delta^Z$ Phe-L-Val-NH-Bn	41		3 <sub>10</sub> -helisa
19	Boc-Aib- $\Delta^Z$ Phe-(Aib) <sub>1</sub> -L-Val-NH-Bn	41		3 <sub>10</sub> -helisa
20	Boc-Aib- $\Delta^Z$ Phe-(Aib) <sub>2</sub> -L-Val-NH-Bn	41	3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)	3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
21	Boc-Aib- $\Delta^Z$ Phe-(Aib) <sub>3</sub> -L-Val-NH-Bn	41	3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)	3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
22	H-Aib-( $\Delta^Z$ Phe-Aib) <sub>4</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
23	H- $\beta$ -Ala-( $\Delta^Z$ Phe-Aib) <sub>4</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa
24	H-Gly-( $\Delta^Z$ Phe-Aib) <sub>4</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa
25	H-N-metyloGly-( $\Delta^Z$ Phe-Aib) <sub>4</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa
26	H-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>4</sub> -L-Leu-OCH <sub>3</sub>	43		3 <sub>10</sub> -helisa (lewoskrętna)
25	H-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>4</sub> -L-Leu <sub>2</sub> -OCH <sub>3</sub>	43		3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
26	H-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -L-Leu-( $\Delta^Z$ Phe-Aib) <sub>2</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
27	H-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>2</sub> -L-Phe-( $\Delta^Z$ Phe-Aib) <sub>2</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
28	H- $\beta$ -Ala- $\Delta^Z$ Phe-Aib- $\Delta^Z$ Phe-L-Leu-( $\Delta^Z$ Phe- Aib) <sub>2</sub> -OMe	43		3 <sub>10</sub> -helisa (prawoskrętna)
29	H- $\beta$ -Ala- $\Delta^Z$ Phe-Aib- $\Delta^Z$ Phe-L-Phe-( $\Delta^Z$ Phe- Aib) <sub>2</sub> -OMe	43, 44		3 <sub>10</sub> -helisa (prawo- i lewoskrętna)
30	H-(Aib- $\Delta^Z$ Phe) <sub>4</sub> -Aib-OMe	45		

Tabela 10. Wartości kątów torsyjnych  $\phi$  i  $\psi$  ( $^\circ$ ) w peptydach z motywem  $-(Aib-\Delta Phe)_2-$ Table 10. The values of  $\phi$  and  $\psi$  ( $^\circ$ ) torsion angles in peptide with motif  $-(Aib-\Delta Phe)_2-$ 

Peptyd	$\phi_1$	$\psi_1$	$\phi_2$	$\psi_2$	$\phi_3$	$\psi_3$	$\phi_4$	$\psi_4$	$\phi_5$	$\psi_5$	$\phi_6$	$\psi_6$
1	54,9	36,3	47,8	20,7	53,1	27,6	56,3	32,4	-52,4	-52,2		
2	-44,0	131,0	57,0	28,0	50,0	22,0	50,0	34,0	58,0	24,0	-53,0	-48,0
20	-58,1	-43,9	-60,2	-19,4	-54,0	-32,9	-72,6	-1,8	-100,0	7,4	-	-
21	-55,0	-34,4	-55,9	-19,6	-50,4	-34,6	-54,2	-33,4	-56,0	-34,1	-123,0	-10,2

Tabela 11. Skręcalność  $3_{10}$ -helisy dla peptydów zawierających motyw  $-(Aib-\Delta Phe)_2-$  w zależności od polarności zastosowanego rozpuszczalnikaTable 11. Screw sense of  $3_{10}$ -helix for peptides containing  $-(Aib-\Delta Phe)_2-$  motif depends on solvent polarity

Peptyd	Rozpuszczalnik			
	chloroform	acetonitryl	THF	metanol
6	mieszanina 50:50	prawoskrętna	prawoskrętna	prawoskrętna
12	prawoskrętna	-	lewoskrętna	lewoskrętna
13	prawoskrętna	prawoskrętna	prawoskrętna	-
14	prawoskrętna	prawoskrętna	prawoskrętna	lewoskrętna
15	prawoskrętna	lewoskrętna	lewoskrętna	-
16	prawoskrętna	lewoskrętna	lewoskrętna	-

Można zaobserwować, że wszystkie peptydy zawierające fragment  $-(Aib-\Delta Phe)_2-$  przyjmują wysoce uporządkowaną konformację  $3_{10}$ -helisy, zarówno w kryształach jak i w roztworze (Tabela 9). Każda z nich zawiera wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe typu  $(i+3) \rightarrow i$ , stabilizujące powstałą strukturę. Skręcalność helisy zależy jednak od wielu czynników m. in. rodzaju chiralnej reszty aminokwasowej, jej pozycji w łańcuchu peptydowym, rodzaju rozpuszczalnika czy temperatury (Tabela 11). Biorąc pod uwagę dostępne dane źródłowe, wpływ powyższych zmiennych można podsumować następująco [10, 29]:

- jeśli reszta znajdująca się na C-końcu achiralnego fragmentu ma konfigurację L, peptyd przyjmuje strukturę lewoskrętną (3);
- jeśli reszta znajdująca się na N-końcu achiralnego fragmentu ma konfigurację L, peptyd przyjmuje strukturę lewoskrętną niezależnie od polarności rozpuszczalnika (2, 4, 8, 9, 10, 11);
- jeśli reszty znajdujące się zarówno na C oraz na N-końcu achiralnego fragmentu mają konfigurację L, peptyd przyjmuje strukturę lewoskrętną (5);
- dla ustalenia skręcalności achiralnego fragmentu, najlepiej zwrócić uwagę na resztę aminokwasową z N-końca (4, 5, 6, 7);

- jeśli reszta o konfiguracji L znajduje się na drugiej pozycji od *N*-końca w sekwencji łańcucha peptydowego, to w zależności od jej rodzaju wzrasta prawdopodobieństwo przyjęcia struktury prawoskrętnej (wedle szeregu Val>Leu~Ala>Phe>Nap) [4];
- w niskich temperaturach preferowana jest struktura lewoskrętna [4].

Peptyd 17 z łańcuchem bocznym sieciowanym resztami Api (*Peptide 17 with the side-chain cross-linking between Api*) preferuje konformację  $3_{10}$ -helikalną na *N*-końcowym fragmencie (H- $\beta$ -Ala- $\Delta^Z$ Phe-Aib) i one-handed helisę w achiralnym łańcuchu peptydowym. Takie sieciowanie łańcucha bocznego stabilizuje preferowaną przez peptyd strukturę [39].

Możliwe jest kontrolowanie skręcalności peptydów zawierających w swej strukturze pierwszorzędowej fragment Boc-Aib- $\Delta^Z$ Phe-(Aib)<sub>n</sub>- (18÷21) poprzez wprowadzenie chiralnej reszty aminokwasowej, np. L-Val, na *C*-końcu [41]. Zmiany helikalności dzięki NCDE (*N*-końcowy niekowalencyjny chiralny efekt domina (ang. *N-terminal Noncovalent Chiral Domino Effect*) oraz CCDE (*C*-końcowy kowalencyjny chiralny efekt domina (ang. *C-terminal Covalent Chiral Domino Effect*) widoczne są na przykładzie peptydów 22÷27. Właściwości konformacyjne peptydów 22÷25 są przejawem działania czynnika zewnętrznego w postaci NCDE, 26 i 27 – CCDE oraz NCDE [43].

## 2. SAMOORGANIZUJĄCE SIĘ STRUKTURY (NP, NANORURKI, NANOPŁYTKI, HYDROŻELE)

W poprzednich latach peptydy zawierające  $\alpha$ ,  $\beta$ -dehydrofenyloalaninę były badane jako potencjalne nośniki leków. Dipeptydy takie jak H-Glu- $\Delta$ Phe-OH i H-Lys- $\Delta$ Phe-OH mają zdolność do samoorganizacji w nanopłytki i potrafią zamykać w swym wnętrzu małe cząsteczki [48]. Podobne właściwości H-Phe- $\Delta$ Phe-OH pozwalają na formowanie hydrożelu, który zamyka i uwalnia bioaktywne związki w zależności od wartości pH i stężenia soli [46]. Dodatkowo, peptydy te biorą udział w formowaniu nanorurek. Przeprowadzone badania dowiodły, że wprowadzenie reszty dehydrofenyloalaniny w miejscu jej nasyconego odpowiednika prowadzi do podwyższenia odporności na degradację enzymatyczną oraz wspomaga formowanie rurek o jednolitym kształcie i średnicy. Badania CD pokazują, że dipeptyd ten przyjmuje konformację  $\beta$ -skrętu. Podejrzewa się, że ta struktura drugorzędowa odpowiada ze podwyższoną stabilnością nanorurek [47, 49].

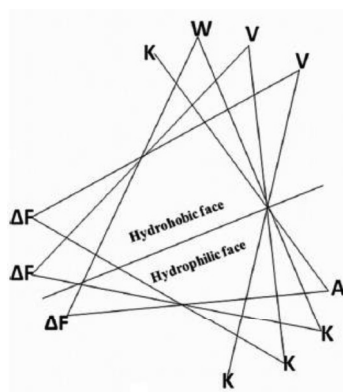
### 3. ZASTOSOWANIE DEHYDROPEPTYDÓW JAKO POTENCJALNE LEKI

W ostatnim czasie peptydy z resztami dehydroaminokwasów były badane pod kątem posiadania potencjalnych właściwości leczniczych. Interesującymi przykładami peptydów o właściwościach bakteriobójczych są te przedstawione przez Chauhana i współpracowników.

Tabela 12. Oznaczenia peptydów przedstawionych w pracach Chauhana i współautorów  
Table 12. Names of peptides presented in the papers of Chauhan and co-authors

Symbol	Sekwencja łańcucha peptydowego
VS1	Ac-K-A- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-V-K-NH <sub>2</sub>
VSL1	Ac- $\Delta$ F-K-A- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-V-K-NH <sub>2</sub>
VSL2	Ac-A- $\Delta$ F-K-A- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-V-K-NH <sub>2</sub>
VSL3	Ac-K-A- $\Delta$ F-K-A- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-V-K-NH <sub>2</sub>
VS2	Ac-K-W- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-V-K-NH <sub>2</sub>
VS3	Ac-K-W- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K-NH <sub>2</sub>
VS4	Ac-K-W- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-W-K-NH <sub>2</sub>
VA1	Ac-K-W- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-A-K-NH <sub>2</sub>
VA2	Ac-K-A- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-A-K-NH <sub>2</sub>
VA3	Ac-K-W- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-A-K- $\Delta$ F-A-K-NH <sub>2</sub>
VSD1	Ac-K-A- $\Delta$ F-W-K- $\Delta$ F-V-K- $\Delta$ F-V-K-NH-K-NH-K-V- $\Delta$ F-K-V- $\Delta$ F-K-W- $\Delta$ F-A-K-Ac

Peptydy mające  $3_{10}$ - oraz  $\alpha$ -helikalną konformację, przyjętą dzięki wprowadzeniu reszty  $\Delta$ Phe, zdolne są do interakcji z ujemnie naładowaną błoną bakterii, ze względu na dodatnio spolaryzowany łańcuch peptydowy (peptyd VS1) [51].



Rysunek 8. Schemat przedstawiający podział polarnych i apolarnych powierzchni  $3_{10}$ -helikalno-kołowych konfiguracji VS1

Figure 8. Scheme of the segregation of hydrophilic and hydrophobic faces of  $3_{10}$ -helical-wheel configuration of VS1

Cząsteczka VS1 służyła jedynie jako wyjściowa sekwencja. Zmodyfikowano ją do VSL1, VSL2 i VSL3 poprzez dodanie po jednej reszcie aminokwasowej. Zaobserwowano, że wydłużenie łańcucha nie wpływa na zwiększenie aktywności antybakteryjnej [50].

Pośród ostatnich przebadanych związków, VS2 i VS3 hamują wzrost różnych grzybów z rodzaju *Candida* (*C.albicans*, *C.kefyr*, *C.glabrata*, *C.utilis*, *C.dubliniensis*, *C.tropicalis*, *C.krusei*, *C.parapsilosis*) [53]. Peptyd VS2 wykazuje też aktywność wobec *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i pierwotniaka wywołującego malarię, *Plasmodium falciparum*. VS3 ma zwiększone działanie wobec *S. aureus* niż VS2, ale słabsze względem *E. coli*. VS4 natomiast wykazuje najbardziej bakteriobójcze działanie spośród wszystkich przebadanych substancji [50].

Związki VA1, VA2 i VA3 to zoptymalizowane sekwencje peptydu VS2. W przypadku VA1 (gdzie zamieniono pojedynczą resztę Val na Ala) nie zaobserwowano zmian w aktywności wobec *E. coli* i komórek eukariotycznych, natomiast ta wobec *S. aureus* wzrosła pięciokrotnie. Kolejne zmiany w sekwencji (reszty Ala na Trp w VA2 oraz Ala na Val w VA3) poskutkowały obniżeniem działania bakteriobójczego omawianych peptydów.

Aktywność przeciwbakteryjna jest silnie powiązana z drugorzędową strukturą peptydów VA2 i VA3 mających odpowiednio najmniej i najbardziej helikalną formę. Najlepsze wyniki uzyskano dla najsłabiej skręconego peptydu VA1 [51]. Dendrymer VSD1 wykazuje świetne działanie na *E. coli* oraz MRSA (gronkowiec złocisty oporny na metycylinę, ang. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Aktywność peptydów jest ściśle powiązana z ich strukturą i helikalnością.

## UWAGI KOŃCOWE

Mimo że dehydropeptydy są znane jako peptydomimetyki o specyficznych preferencjach konformacyjnych, już od kilkudziesięciu lat nadal są interesującym obiektem badawczym. Zarówno mnogość struktur czy sekwencji, jak i możliwość kontrolowania warunków (takich jak temperatura czy rozpuszczalnik) czynią z reszt dehydroaninkowasowych bardzo efektywny czynnik, który wpływa na konformację łańcucha. Dodatkowo aktywność antybakteryjna tego typu związków, jak i możliwość stosowania ich jako potencjalne nośniki leków, to nowe obszary zastosowania tej klasy peptydomimetyków.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] D.E. Palmer, C. Pattaroni, K. Nunami, R.K. Chadha, M. Goodman, T. Wakamiya, K. Fukase, S. Horimoto, M. Kitazawa, H. Fujita, A. Kubo, T. Shiba, J. Am. Chem. Soc., 1992, **114**, 5634.
- [2] H. Allgaier, G. Jung, R.G. Werner, U. Schneider, H. Zamer, Angew. Chem., 1985, **24**, 1051.

- [3] K. Tori, K. Tokura, K. Okabe, M. Ebata, H. Otsuka, *Tetrahedron Lett.*, 1976, **3**, 185.
- [4] C. Pascard, A. Ducruix, J. Lunel, T. Prange, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 6418.
- [5] C.J. Pearce, K.L. Rinehart jr., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 5069.
- [6] O. Pieroni, A. Fissi, R.M. Jain, V.S. Chauhan, *Biopolymers*, 1996, **38**, 141.
- [7] C.M. Venkatachalam, *Biopolymers*, 1968, **6**, 1425.
- [8] O. Pieroni, A. Fisi, S. Merlino, F. Ciardelli, *Israel J. Chem.*, 1976/77, **15**, 22.
- [9] V.K. Goel, S. Dey, T.P. Singh, *J. Mol. Struct.*, 2005, **738**, 189.
- [10] A. Tuzi, M.R. Cijolo, G. Guarino, P.A. Temussi, A. Fisi, O. Pieroni, *Biopolymers*, 1993, **33**, 1111.
- [11] R.K. Somvanshi, V.K. Goel, S. Dey, and T.P. Singh, *J. Chem. Crystallography*, 2005, **35**, 761.
- [12] S. Bhatia, P. Kumar, P. Kaur, T.P. Singh, *J. Peptide Res.*, 1999, **54**, 249.
- [13] S. Bhatia, S. Dey, P. Kaur, T.P. Singh, *J. Peptide Sci.*, 1996, **2**, 357.
- [14] S. Dey, S.N. Mitra, T.P. Singh, *Biopolymers*, 1996, **39**, 849.
- [15] K.R. Rajashankar, S. Ramakumar, M.R. Jain, V.S. Chauhan, *Biopolymers*, 1998, **42**, 373.
- [16] M.R. Cijolo, A. Tuzi, C.R. Pratesi, A. Fissi, O. Pieroni, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1991, **38**, 539.
- [17] R. Jain, M. Singh, V.S. Chauhan, *Tetrahedron*, 1994, **50**, 907.
- [18] V.K. Goel, R.K. Somvanshi, S. Dey, T.P. Singh, *J. Peptide Res.*, 2005, **66**, 68.
- [19] J. Makkar, S. Dey, S. Mukherjee, R. Vijayaraghavan, P. Kumar, T.P. Singh, *J. Mol. Struct.*, 2003, **654**, 119.
- [20] O. Pieroni, A. Fissi, C. Pratesi, P.A. Temussi, F. Ciardelli, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 6338.
- [21] M.R. Cijolo, A. Tuzi, C.R. Pratesi, A. Fissi, O. Pieroni, *Biopolymers*, 1990, **30**, 991.
- [22] K.K. Bhandary, V.S. Chauhan, *Biopolymers*, 1993, **33**, 208.
- [23] A. Tuzi, M.R. Cijolo, D. Pictone, O. Crescenzi, P.A. Temussi, A. Fissi, O. Pieroni, *J. Pept. Sci.*, 1996, **2**, 47.
- [24] P. Mathyr, U.A. Ramagopal, S. Ramakumar, N.R. Jagannathan, V.S. Chauhan, *Biopolymers*, 2006, **84**, 298.
- [25] B. Padmanabhan, T.P. Singh, *Biopolymers*, 1993, **33**, 613.
- [26] V.S. Chauhan, *Biopolymers*, 1989, **28**, 763.
- [27] K.R. Rajashankar, S. Ramakumar, T.K. Mal, R.M. Jain, V.S. Chauhan, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1996, **35**, 765.
- [28] Y. Inai, T. Oshikawa, M. Yamashita, T. Hirabayashi, S. Ashitaka, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2001, **6**, 892.
- [29] Y. Inai, Y. Kurokawa, T. Hirabayashi, *Biopolymers*, 1999, **49**, 551.
- [30] Y. Inai, Y. Kurokawa, A. Ida, T. Hirabayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1999, **72**, 55.
- [31] Y. Inai, Y. Kurokawa, N. Kojima, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2002, **11**, 1850.
- [32] Y. Inai, Y. Kurokawa, T. Hirabayashi, *Macromolecules*, 1999, **32**, 4575.
- [33] M. Lisowski, R. Latajka, B. Picur, T. Lis, I. Bryndal, M. Rospenk, M. Makowski, P. Kafarski, *Biopolymers*, 2007, **89**, 220.
- [34] M. Lisowski, L. Jaremko, M. Jaremko, A. Mazur, R. Latajka, M. Makowski, *Biopolymers*, 2010, **93**, 1055.
- [35] R. Latajka, M. Jewgiński, M. Makowski, M. Pawelczak, T. Huber, N. Sewald, P. Kafarski, *J. Pept. Sci.*, 2008, **14**, 1084.
- [36] R. Latajka, M. Jewgiński, M. Makowski, A. Krężel, *J. Mol. Struct.*, 2008, **892**, 446.
- [37] R. Latajka, M. Jewgiński, M. Makowski, A. Krężel, S. Paluch, *Biopolymers*, 2008, **89**, 691.
- [38] M.G. Dutta, P. Mathurb, V.S. Chauhana, *J. Pept. Sci.* 2011, **17**, 783.
- [39] N. Ousaka, Y. Inai, R. Kuroda, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 12266.
- [40] M. Makowski, M. Lisowski, A. Maciąg, M. Wiktor, A. Szlachcic, T. Lis, *Acta Cryst.*, 2010, **C66**, 0119.
- [41] Y. Demizu, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, H. Okuda, M. Kuriharara, *J. Pept. Sci.*, 2010, **16**, 153.
- [42] R. Acharya, M. Gupta, S. Ramakumar, U.A. Ramagopa, V.S. Chauhan, *BMC Structural Biology*, 2007, **7**.
- [43] Y. Inai, H. Komori, N. Ousaka, *Chem. Rec.*, 2007, **7**, 191.

- [44] H. Komori, Y. Inai, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 4012.
- [45] N. Ousaka, Y. Inai, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 1429.
- [46] J.J. Panda, A. Mishra, A. Basu, V.S. Chauhan, *Biomacromolecules*, 2008, **9**, 2244.
- [47] M. Gupta, A. Bagaria, A. Mishra, P. Mathur, A. Basu, S. Ramakumar, V.S. Chauhan, *Adv. Mater.*, 2007, **19**, 858.
- [48] A. Mishra, J.J. Panda, A. Basu, V.S. Chauhan, *Langmuir*, 2008, **24**, 4571.
- [49] J.J. Panda, R. Dua, A. Mishra, B. Mitra, V.S. Chauhan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **2**, 2839.
- [50] S. Pathak, V.S. Chauhan, *AAC*, 2011, **55**, 2178.
- [51] S.P. Sharma, J. Sharma, S.S. Kanwar, V.S. Chauhana, *AAC*, 2012, **39**, 146.
- [52] K.R. Rajashankar, S. Ramakumar, V.S. Chauhan, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 9225.
- [53] I.K. Maurya, S. Pathak, M. Sharma, H. Sanwal, P. Chaudhary, S. Tupe, M. Deshpande, V.S. Chauhan, R. Prasad, *Peptides*, 2011, **32**, 1732.

Praca wpłynęła do Redakcji 3 stycznia 2020 r.