

# ANTYBIOTYKI PEPTYDOWE I ICH KOMPLEKSY Z JONAMI METALI

## PEPTIDE ANTIBIOTICS AND THEIR COMPLEXES WITH METAL IONS

**Kamila Stokowa-Soltys**

*Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego  
ul. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław  
e-mail: kamila.stokowa-soltys@chem.uni.wroc.pl*

---

*Pracę dedykuję pamięci Pani Profesor Małgorzaty Jeżowskiej-Bojczuk*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Ogólna charakterystyka antybiotyków peptydowych
2. Mechanizm działania antybiotyków peptydowych
  - 2.1. Antybiotyki hamujące syntezę ściany komórkowej bakterii
  - 2.2. Antybiotyki oddziałujące na błony komórkowe bakterii
  - 2.3. Antybiotyki hamujące syntezę i działanie kwasów nukleinowych
3. Oddziaływanie antybiotyków peptydowych z jonami metali

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**dr Kamila Stokowa-Sołtys** w roku 2013 z wyróżnieniem obroniła pracę doktorską i obecnie jest adiunktem na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Przez wiele lat współpracowała z prof. dr hab. Małgorzatą Jeżowską-Bojczuk. Pod Jej kierunkiem i opieką rozpoczynała swoją pracę naukową.

---

**ABSTRACT**

Metal ions are essential for numerous antibiotics. They play a crucial role in the mechanism of action and may be involved in specific interactions with cell membrane or target molecules, such as: proteins and nucleic acids. Due to the fact that complexes usually poses a higher positive charge than free ligands, they might interact more tightly with DNA and RNA molecules. However, complexes may also form during antimicrobial agents application, because a lot of them possess functional groups which can bind metal ions present in physiological fluids. Many recent studies support a hypothesis that drugs may alter the serum metal ions concentration. Moreover, it has been shown that numerous complexes with antibiotics can cause DNA degradation, e.g. bleomycin which form stable complexes with redox metal ions and split the nucleic acids chain via the free radicals mechanism. Therefore, it is widely used in cancer therapy.

**Keywords:** peptide antibiotics, metalloantibiotic, metal ion complexes

**Słowa kluczowe:** antybiotyki peptydowe, metaloantybiotyki, kompleksy jonów metali

---

---

## WPROWADZENIE

Gdy w 1670 r. Antoni van Leeuwenhoek po raz pierwszy zidentyfikował bakterie, nikt wtedy nie podejrzewał tych mikroorganizmów o wywoływanie chorób. Zwolennikiem nowej teorii dotyczącej wywoływania chorób przez bakterie był chirurg Lister z Edynburga. W XIX w. to właśnie on polecił stosowanie fenolu do odkażania rąk przed operacją i dezynfekowania sal operacyjnych, co znacznie zmniejszyło śmiertelność wśród pacjentów [1]. Odkrycie pierwszego antybiotyku miało miejsce w 1928 r. Dokonał tego Alexander Fleming, który po powrocie z wakacji zauważył destrukcyjne działanie pleśni *Penicillium notatum* na hodowlę gronkowca *Staphylococcus*. Interesujące jest to, że płytka z agarem pokryta gronkowcem została nieumyślnie wyjęta z inkubatora, a pleśń przedostała się na nią prawdopodobnie przez otwarte okno z położonego niżej laboratorium. W ten bardzo przypadkowy sposób odkryto penicylinę. Jednak jeszcze przez wiele lat nie była ogólnie dostępna, ze względu na trudności z jej wyizolowaniem. Dokonali tego Florey i Chain dopiero w 1940 r. Społeczeństwo otrzymało wówczas „złoty lek”, który zrewolucjonizował walkę z infekcjami bakteryjnymi [2].

Termin „antybiotyk”, wprowadzony przez Selmana A. Waksmana, po raz pierwszy pojawił się w tytule jego książki *Microbial Antagonisms and Antibiotic Substances*, opublikowanej w 1945 roku. Antybiotyk został wówczas zdefiniowany jako „wytwarzany przez mikroorganizmy i posiadający właściwości hamowania wzrostu, a nawet zniszczenia innych mikroorganizmów” [3]. Obecnie w miejsce antybiotyków naturalnych stosowane są głównie antybiotyki syntetyczne lub półsyntetyczne.

Współczesne leki przeciwbakteryjne można podzielić na dwie ogólne kategorie: bakteriobójcze, które zabijają bakterie z wydajnością powyżej 99,9% [4] oraz bakteriostatyczne, które jedynie hamują wzrost komórek bakteryjnych [5]. I choć najobszerniejszym działem antybiotykoterapii jest zwalczanie zakażeń bakteryjnych, to zakres stosowania antybiotyków obejmuje również działanie przeciwrzybicze, a nawet przeciwnowotworowe. Nie stosuje się ich natomiast w terapiach zakażeń wirusowych, z powodu zbyt niskich efektów terapeutycznych [6].

Najwygodniejszy i najlepiej systematyzujący podział antybiotyków wykorzystuje ich różnice w budowie chemicznej. Według tej klasyfikacji można wyróżnić pięć grup antybiotyków, przedstawionych w Tabeli 1. Podział ten jest chyba najczęściej cytowanym w literaturze [7]. Oczywiście nie jest to „jedyne słuszne” sposob grupowania antybiotyków. Innym praktycznym kryterium klasyfikacji jest ich sposób działania. Wykorzystuje się wówczas usystematyzowanie leków z uwzględnieniem ich miejsca docelowego. Według tego kryterium, antybiotyki można podzielić zasadniczo na cztery klasy: hamujące replikację i naprawę kwasów nukleinowych, hamujące syntezę ściany komórkowej, oddziałujące na błony komórkowe oraz zaburzające procesy energetyczne lub oddechowe komórek bakteryjnych [8].

Tabela 1. Podział antybiotyków ze względu na budowę chemiczną [7]  
 Table 1. Division of the peptide antibiotics according to chemical structure [7]

Grupa	Podgrupa	Przykład
antybiotyki peptydowe	antybiotyki $\beta$ -laktamowe modyfikowane aminokwasy antybiotyki polipeptydowe antybiotyki depsytydowe antybiotyki glikopeptydowe antybiotyki lipopeptydowe antybiotyki chromopeptydowe	penicyliny blastycydyna S polimyksyna ramoplanina wankomycyna ristomycyna aktynomycyna
pochodne cukrów	antybiotyki cukrowe antybiotyki aminoglikozydowe antybiotyki N-glikozydowe antybiotyki C-glikozydowe antybiotyki glikolipidowe	nojirymycyna neomycyna streptotrycyna teikoplanina moenomycyna
antybiotyki makrocykliczne	makrolidy właściwe makrolidy polienowe ansamycyny	erytromycyna nystatyna ryfampicyna
chinony i pochodne	tetracykliny antracykliny benzochinony nafochinony	oksytetracyklina epirubicyna mitomycyna aktynorodyna
inne antybiotyki	związki steroidowe związki aromatyczne związki fosforoorganiczne nukleozydy polietera pochodne alkanów	kwasy fusydowe nowobiocyna fosfamycyna polioksyna monenzyna cyklohekimid

## 1. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA ANTYBIOTYKÓW PEPTYDOWYCH

W organizmie człowieka naturalnie występują jedynie L-aminokwasy, natomiast w przypadku produktów metabolizmu bakterii, mogą występować obok siebie w łańcuchu peptydowym zarówno *enancjomery* L, jak i D. Stosowane jako terapeutyki fragmenty peptydowe mogą występować w formie prostych łańcuchów lub zamkniętych pierścieni. Większość antybiotyków posiada dodatkowo dołączone do łańcuchów podstawniki niebiałkowe. Najczęściej są one pochodzenia węglowodanowego (glikopeptydy) lub są resztami kwasów tłuszczowych (lipopeptydy) [9].

Zróznicowana budowa chemiczna antybiotyków peptydowych pozwala na usystematyzowanie ich w pięciu różnych grupach. Można wśród nich wyróżnić: peptydy o budowie liniowej, peptydy o budowie cyklicznej, depsytydy, glikopeptydy i lipopeptydy [10]. Podział ten jest jedynie umowny, ponieważ wymienione cechy strukturalne nie muszą występować oddzielnie. Najczęściej budowa chemiczna antybiotyków peptydowych jest bardziej złożona. W jednej cząsteczce leku może istnieć kilka różnych: motywów strukturalnych, podstawników oraz połączeń

między poszczególnymi elementami. Struktura i skład cząsteczki chemicznej danego leku związane są bezpośrednio z jego biogenezą i szlakiem biosyntetycznym w organizmie mikroba [9].

Od sześćdziesięciu lat opisano już setki antybiotyków peptydowych. Dzieli się one na dwie klasy: peptydy syntetyzowane nierybosomalnie, wśród nich polimyksyny, kapreomycyna, wiomycyna, bacytracyna, ristomycyna, ramoplanina, gramicydyny oraz syntetyzowane rybosomalnie (naturalne) peptydy [11]. Pierwsza klasa antybiotyków (często drastycznie modyfikowanych) w znakomitej większości jest wytwarzana przez bakterie. Drugą, wytwarzają wszystkie gatunki żyjące (od bakterii po ssaki), jako główny składnik naturalnych cząsteczek obronnych gospodarza. Stanowią one praktycznie niewyczerpywalne źródło antybiotyków peptydowych nowej generacji [12].

Peptydy syntetyzowane nierybosomalnie wytwarzane przez bakterie i grzyby zawierają w swej strukturze dwie lub więcej reszt aminokwasowych [13]. Z założenia, nawet większe cząsteczki peptydowe w tej klasie są syntetyzowane na kompleksach multienzymatycznych, zamiast w sposób standardowy dla białek – na rybosomach. Według tej definicji, wiele antybiotyków stosowanych w lecznictwie to pochodne peptydów. Na przykład, naturalne penicyliny można rozdzielić na resztę monopodstawionego kwasu octowego, L-cysteinę i D-walinę, podczas gdy cefalosporyna C, będąca podstawowym składnikiem wielu półsyntetycznych cefalosporyn, składa się z kwasu D- $\alpha$ -aminoadypinowego, L-cysteiny,  $\alpha,\beta$ -dehydrowaliny i kwasu octowego [2, 13].

Synteza antybiotyków odbywa się przy udziale kompleksu białkowego katalizującego tę reakcję, nazywanego matrycą lub wzornikiem, a produktami biosyntezy są liniowe lub cykliczne polipeptydy. W tym miejscu bardzo często dochodzi do epimeryzacji aminokwasów. I choć enancjomery D nie występują naturalnie w komórkach mikroorganizmów, bardzo często pojawiają się w produktach ich metabolizmu. Obecność enancjomerów D korzystnie wpływa na działanie przeciwdrobnoustrojowe antybiotyków, gdyż nadaje im znaczną odporność na działanie enzymów proteolitycznych [15]. W końcowym etapie szlaku metabolicznego, dzięki kompleksowi enzymatycznemu, dochodzi również do dołączenia do łańcucha peptydowego podstawników niebiałkowych. Możliwa jest także dalsza modyfikacja ich struktury, polegająca na przyłączeniu grupy metylowej lub acylowej do N-końcowych grup aminowych, a także na reakcjach hydroksylowania aminokwasów i tworzenia pierścieni heterocyklicznych [14]. Często w procesie syntezy enzymatycznej antybiotyków powstaje kilka metabolitów. Poszczególne produkty różnią się nieznacznie, rozbieżności dotyczą przeważnie jednego aminokwasu w łańcuchu lub niewielkich zmian w podstawnikach [9].

Podczas procesu biosyntezy na rybosomach, powstają peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. *antimicrobial peptides*, AMP), będące wrodzonymi elementami układu odpornościowego organizmów żywych. Biomolekuły te nie posiadają żadnych podstawników, ani modyfikacji. Pomimo budowy podobnej do białek komór-

kowych, charakteryzują się dużą odpornością na rozkład enzymatyczny. Wśród AMP rozróżnia się pięć grup: liniowe cząsteczki najczęściej o budowie  $\alpha$ -helisy, posiadające jedno wiązanie disulfidowe, tworzące strukturę pętli z ogonem, posiadające dwa lub więcej wiązań disulfidowych, powodujących tworzenie się struktury  $\beta$ -harmonijki, liniowe białka niezawierające reszt cysteiny o niestandardowym składzie aminokwasowym oraz białka będące częściami większych białek, np. laktoferrycyna [16].

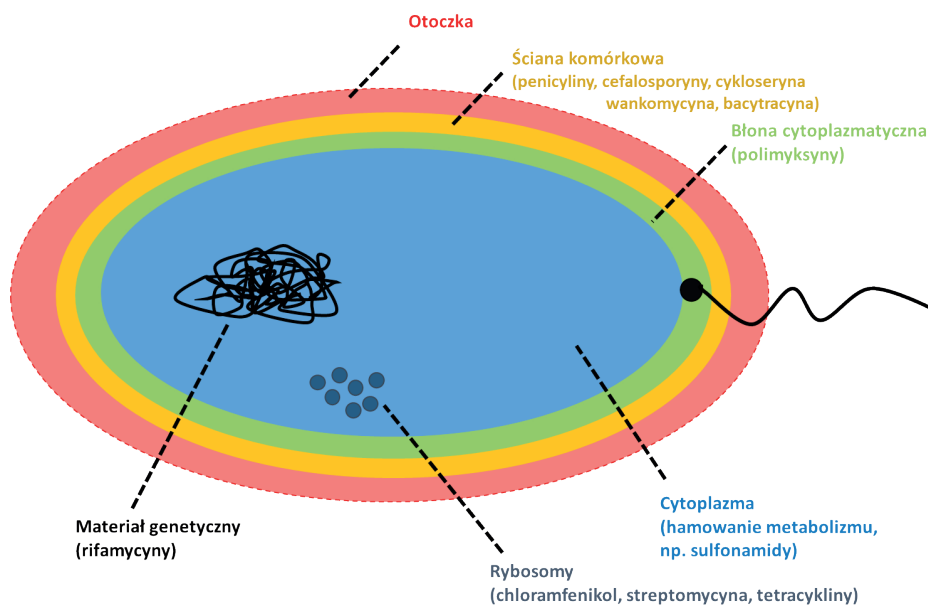
Pomimo różnic w strukturze, wszystkie peptydy typu AMP wykazują właściwości amfifilowe, co umożliwia im interakcje z błonami komórkowymi bakterii i ich niszczenie. Większość AMP ma dodatni ładunek wynikający z obecności zasadowych reszt aminokwasowych, m.in. argininy i lizyny. Właściwość ta pozwala AMP przyłączać się do ujemnie naładowanych fosfolipidów błon komórkowych bakterii [14, 16].

Skóra żaby była od wieków wykorzystywana do celów leczniczych, a w krajach Ameryki Południowej jest używana do dziś. Dopiero w 1962 Kiss i Michl odkryli obecność antybiotyków i peptydów o właściwościach hemolitycznych w wydzielinie skórnej żaby *Bombina variegata*, co doprowadziło do izolacji 24-aminokwasowego peptydu przeciwbakteryjnego o nazwie bombinina [14]. Ze względu na szerokie rozpowszechnienie endogennych antybiotyków peptydowych u wielu organizmów (owady, płazy, ryby, ssaki, ptaki), a także fakt, że odgrywają one bardzo ważną rolę w działaniu układu immunologicznego, wysunięto hipotezę, iż jest to najstarszy, naturalny system obrony przed drobnoustrojami. Nawet same bakterie wydzielają białka przeciwdrobnoustrojowe przeciw pokrewnym gatunkom, co zwiększa ich przeżywalność [16].

W niniejszym artykule przedstawiono zagadnienia związane głównie z mniejszymi antybiotykami peptydowymi, syntetyzowanymi na drodze enzymatycznej.

## 2. MECHANIZM DZIAŁANIA ANTYBIOTYKÓW PEPTYDOWYCH

Trudności w interpretacji mechanizmu działania antybiotyków (Rys. 1) pojawiają się zarówno przy rozpatrywaniu działania określonej klasy związków chemicznych, jak i przy analizie budowy chemicznej antybiotyków o jednym określonym działaniu. Pomimo tych trudności, w pracy zastosowano podział uwzględniający miejsce działania antybiotyków peptydowych. Jak już wspomniano wcześniej, wyróżnia się trzy klasy antybiotyków peptydowych syntetyzowanych nierybosomalnie: hamujące replikację i naprawę kwasów nukleinowych, hamujące syntezę ściany komórkowej oraz oddziałujące na błony komórkowe [8].



Rysunek 1. Miejsca działania związków przeciwbakteryjnych  
 Figure 1. The mode of action of antibacterial agents

## 2.1. ANTYBIOTYKI HAMUJĄCE SYNTEZĘ ŚCIANY KOMÓRKOWEJ BAKTERII

Inhibitorami biosyntezy ścian komórkowych bakterii są naturalne i półsyntetyczne penicyliny, a także liczne antybiotyki glikopeptydowe, jak ristomycyna i wankomycyna, lipo peptydowe, jak ramoplanina, oraz niektóre cykliczne peptydy, jak bacytracyna. Nawet wśród tych inhibitorów obserwuje się różne mechanizmy działania.

I tak, cyklooseryna hamuje syntezę nukleotydowych prekursorów peptydoglikanu, zapobiegając addycji dwóch cząsteczek D-alaniny do rosnącego łańcucha peptydowego. Penicyliny i bacytracyna hamują biosyntezę peptydoglikanu, niezbędnego do powstawania zewnętrznej osłony komórek bakterii Gram-dodatnich. Bacetracyna inhibituje syntezę liniowych łańcuchów peptydoglikanu, zaburzając mechanizm transportu disacharydów przez błonę komórkową i wywołując niedobór elementów budulcowych ściany komórkowej. Penicyliny z kolei wpływają na stopień poprzecznego usieciowania utworzonych łańcuchów liniowych [17].

Glikopeptydy posiadają zdolność wiązania się za pomocą wiązań wodorowych z prekursorem peptydoglikanu w ostatniej fazie biosyntezy, w której powstaje ściana komórkowa. A dokładniej – potrafią oddziaływać ze swoistym fragmentem D-Ala-D-Ala bakteryjnego peptydoglikanu. Blokują w ten sposób polimerazę peptydoglikanu, potrzebną do dalszego przebiegu procesu transpeptydacji. Wszystkie te procesy prowadzą do wykształcenia upośledzonego mikroorganizmu, niezdolnego do



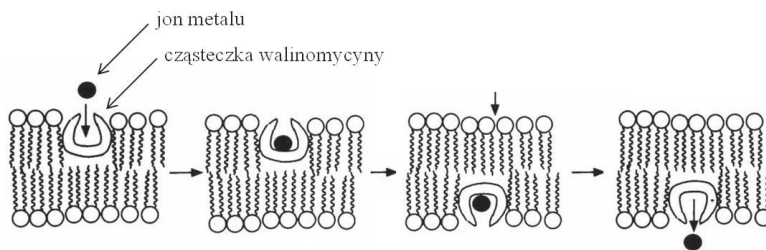
prawidłowego funkcjonowania. Komórka traci wówczas integralność i dochodzi do jej rozpadu, a co za tym idzie – do jej śmierci [18]. Przykładem antybiotyku glikopeptydowego jest wankomycyna, która posiada również zdolność do oddziaływania z RNA i wpływania na przepuszczalność błon komórkowych [19].

Wspomniane powyżej antybiotyki mają zastosowanie w leczeniu zakażeń bakteriami Gram-dodatnimi, natomiast nie znajdują zastosowania w terapii zakażeń wywołanych przez bakterie Gram-ujemne. Ze względu na duży rozmiar cząsteczek, nie są one w stanie przeniknąć przez błonę zewnętrzną otaczającą bakterie Gram-ujemne [18].

## 2.2. ANTYBIOTYKI ODDZIAŁUJĄCE NA BŁONY KOMÓRKOWE BAKTERII

Mechanizm działania antybiotyków lipopeptydowych opiera się na wstawieniu lipofilowego ogona tłuszczowego antybiotyku w błonę komórkową bakterii. Proces ten jest zależny od obecności jonów wapnia. Im większe jest ich stężenie w organizmie, tym lepsze działanie leku. Skutkiem takiego oddziaływania na błonę komórkową bakterii jest jej depolaryzacja i wypływ potasu z wnętrza komórki bakteryjnej, a w konsekwencji – jej śmierć [20].

Lipopeptydy należą do antybiotyków nowej generacji. Pierwszym, wprowadzonym w latach 80. XX wieku, terapeutycznym przynależącym do tej grupy była daptomycyna. Odmienność mechanizmu działania bakteriobójczego lipopeptydów warunkuje skuteczność ich działania, ponieważ bakterie nie zdążyły jeszcze wytworzyć oporności na nie. Za wiązanie jonów  $\text{Ca}^{2+}$  przez cząsteczkę daptomycyny odpowiedzialny jest jej fragment o sekwencji Asp-X-Gly-Asp. Wzajemna lokalizacja dwóch kwasów asparaginowych i glicyny jest istotna dla mechanizmu działania tego leku, natomiast w miejscu oznaczonym jako X, może znajdować się dowolny aminokwas [21].



Rysunek 2. Schemat działania walinomycyny [20]

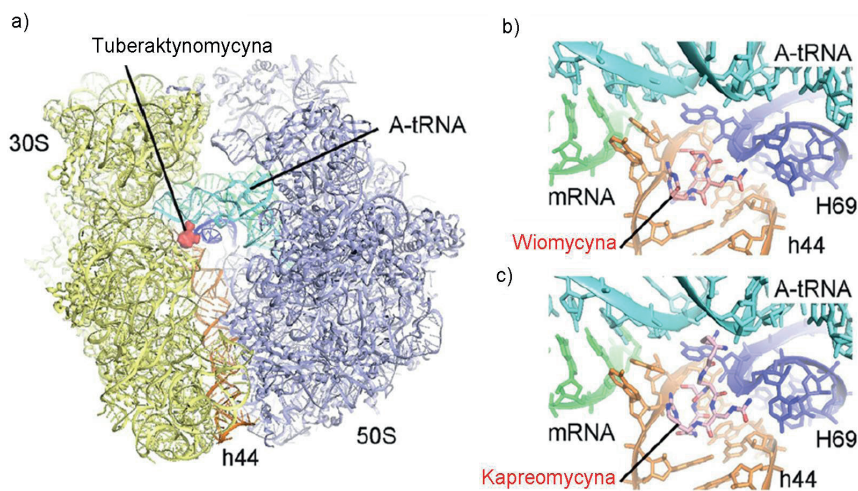
Figure 2. The scheme of action of valinomycin [20]

Kolejną grupą antybiotyków peptydowych oddziałujących na błonę komórkową bakterii są depsypeptydy. Sposób działania tych leków opiera się na transporcie jonów nieorganicznych przez błony komórkowe bakterii, dlatego nazywane są one antybiotykami jonoforowymi (Rys. 2). Efektem takiego działania depsypepty-

dów na komórki bakterii jest zmiana stężenia jonów metali, takich jak potas czy sód [22]. Skutkiem zaś zachwianie homeostazy patogenów, co prowadzi do ich śmierci. Jonofory działają bakteriobójczo jedynie na szczepy Gram-dodatnie. Gramicydyna i walinomycyna są zdolne do transportu jednowartościowych kationów. Wiążąc jony metali, przenoszą je na drugą stronę błony. Obniżone stężenie, np. potasu, prowadzi do zaburzeń procesów energetycznych w organizmie bakterii. Jednak ze względu na wysoką toksyczność, gramicydyna stosowana jest wyłącznie miejscowo, a walinomycyna nie znalazła zastosowania ani u ludzi, ani u zwierząt [23, 24].

### 2.3. ANTYBIOTYKI HAMUJĄCE SYNTEZĘ I DZIAŁANIE KWASÓW NUKLEINOWYCH

Lekami hamującymi wzrost bakterii przez blokowanie syntezy białek na rybosomach są tuberaktynomycyny: kapreomycyna i, strukturalnie do niej podobna, wiomycyna. Oba związki są cyklicznymi antybiotykami peptydowymi, działającymi bakteriostatycznie na prątki gruźlicy [25]. Choć mechanizm ich działania nie jest do końca poznany, wiadomo jednak, że zakłócają wiele funkcji rybosomów, w tym tworzenie kompleksu inicjacyjnego podjednostki 30S. Blokują również translokację tRNA od miejsca A do miejsca P (A – miejsce akceptorowe, P – miejsce peptydowe, oba zlokalizowane w dużej podjednostce rybosomu), uniemożliwiając tym samym procesy translacji [26].



Rysunek 3. Miejsce wiązania antybiotyków przeciwgruźliczych w rybosomie a) tuberaktynomycyny (czerwona) na powierzchni pomiędzy jego małą 30S (żółta) a dużą podjednostką 50S (niebieska), b) wiomycyny, c) kapreomycyny [26]

Figure 3. Anti-tuberculosis antibiotics binding to the ribosome a) tuberactinomycin (red) on the surface between its small 30S (yellow) and large 50S (blue) subunit, b) viomycin, c) capreomycin [26]

Uzyskana w roku 2010 struktura krystaliczna 70S rybosomu z bakterii *Thermus thermophilus* w kompleksie z kapreomycyną lub wiomycyną (Rys. 3) w znaczący sposób przyczyniła się do zrozumienia mechanizmu inhibicji translokacji. Występujące u prokariotów rybosomy 70S składają się z dużej podjednostki 50S (zawierającej 34 białka i dwie cząsteczki rRNA: 5S rRNA i 23S rRNA) i małej podjednostki 30S (zawierającej 21 białek i jedną cząsteczkę rRNA – 16S rRNA). Helisa H69 23S rRNA oddziałuje z helisą h44 16S rRNA, tworząc mostek B2a między podjednostkami. Na podstawie badań krystalograficznych potwierdzono hipotezę, że kapreomycyna i wiomycyna oddziałują na mostek B2a, uniemożliwiając syntezę białek bakteryjnych [26]. Miejsce wiązania tuberaktynomycyn w helisie h44 częściowo pokrywa się z miejscem wiązania aminoglikozydów, przez co obie grupy związków wykazują podobne efekty uboczne, w tym nieodwracalną utratę słuchu [27–30]. Wyniki badań sugerują, że omawiane antybiotyki wpływają na obie podjednostki, co jest unikalne wśród antybiotyków oddziałujących na rybosomy [26, 27, 31]. Wszystkie dotychczas zbadane antybiotyki, m.in. puromycyna, streptomycyna, chloramfenikol, wiążą się do miejsca znajdującego się albo na podjednostce 30S albo 50S rybosomu [32].

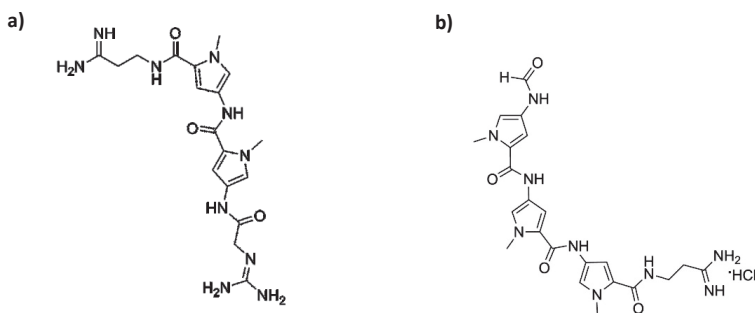
Hamowanie biosyntezy białek przez antybiotyki peptydowe oparte jest na wiązaniu leków do rybosomalnego RNA [32]. Wśród antybiotyków oddziałujących na kwasy nukleinowe są również związki oddziałujące na DNA. Mają one zdolność hamowania syntezy RNA przez blokowanie matrycy DNA. Antybiotyk wiąże się ściśle i specyficznie do dwuniciowego DNA, co inhibuje elongację transkrypcji przez zablokowanie polimerazy RNA [33]. Wiele małych cząsteczek antybiotyków ważnych w chemioterapii działa właśnie w ten sposób [25].

Przykładem jest chromopeptyd aktynomycyna D, który oprócz właściwości przeciwbakteryjnych, wykazuje również właściwości cytotoksyczne. Jego cząsteczka zawiera dwa cykliczne pentapeptydy, lecz ze względu na sposób i skuteczność działania aktynomycyny D, ważniejszy jest zawarty w strukturze cząsteczki leku płaski, tricykliczny, heteroaromatyczny pierścień aminofenoksazynowy. Dzięki niemu, cząsteczka jest zdolna do interkalacji pomiędzy pary zasad podwójnej helisy DNA, a tym samym do działania cytotoksycznego [34]. Zarówno wyniki badań prowadzonych w roztworze, jak i w ciele stałym potwierdzają, że antybiotyk ten jest interkalatorem, który najefektywniej oddziałuje z parą zasad guanina-cytozyna. Aktynomycyna D jest utrzymywana w odpowiednim położeniu wiązaniami wodorowymi, tworzącymi się pomiędzy zasadami DNA a cyklicznymi pentapeptydami, zlokalizowanymi po zewnętrznej stronie helisy [33]. Ponadto stwierdzono, że aktynomycyna D ściśle wiąże się również z jednoniciowym DNA (ang. *single-stranded DNA*, ssDNA), zgodnie z modelem semi-interkalacji, przez co również jest zaangażowana w terminację procesu transkrypcji [34–36]. Wyniki obliczeń teoretycznych sugerują, iż największy wkład (około 70%) w stabilność kompleksu lek-DNA, mają w przypadku jednoniciowego DNA, klasyczne wiązania wodorowe, a w przypadku dwuniciowego DNA (dsDNA) także inne oddziaływania między atomami [34]. Najnowsze badania z wykorzystaniem techniki ESI-MS wykazały, że ten antybiotyk

mocniej wiąże się z ssDNA, niż z odpowiednim dsDNA [35]. Ponadto na podstawie badań jednoniciowych oligomerów DNA zawierających dwa fragmenty GTC wykazano, że siła wiązania zależy od sekwencji kwasu nukleinowego [36].

Aktynomycynę D zalicza się do molekuł hybrydowych, tzw. *combilexins*. Jest to grupa ligandów DNA zawierająca interkalujący chromofor oraz element wiążący się w małym rowku łańcucha kwasu nukleinowego. Lek ten, pomimo stosunkowo długiego już stosowania (od roku 1954) w wielu terapiach przeciwnowotworowych, nadal budzi duże zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego. Koncepcja kombinowanego sposobu oddziaływania z DNA pozwala na projektowanie innych struktur silnie i/lub specyficznie wiążących się z DNA [37].

Antybiotykami peptydowymi wiążącymi się w małym rowku DNA są także netropsyna oraz distamycyna A [38, 39]. Cechą charakterystyczną budowy tych związków jest obecność odpowiednio dwóch i trzech pierścieni *N*-metylopirolowych, oddzielonych od siebie krótkim łącznikiem, jakim jest grupa amidowa (Rys. 4). Mają one liniową, wydłużoną, giętką strukturę, umożliwiającą im dopasowanie się do kształtu małego rowka łańcucha DNA. Pozwala to na tworzenie się oddziaływań pomiędzy grupami funkcyjnymi liganda a wewnątrz małego rowka, wpływając stabilizująco na trwałość powstałego kompleksu. Distamycyna A oraz netropsyna wiążą się preferencyjnie do sekwencji bogatych w pary AT [40]. Ponadto związki te wykazują aktywność biologiczną, jako leki przeciwwirusowe [41].



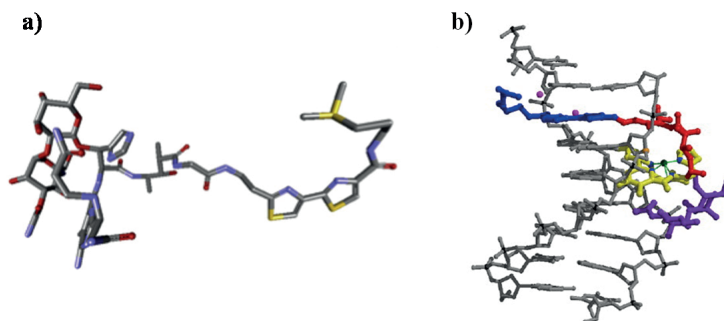
Rysunek 4. Wzór strukturalny cząsteczki a) netropsyny, b) distamycyny A

Figure 4. Molecular formula of: a) netropsin, b) distamycin A

Wiązanie się substancji terapeutycznych w dużym rowku DNA jest zjawiskiem dość rzadkim. Znacznie większa objętość dużego rowka czyni go miejscem dostępnym dla większych cząsteczek, takich jak np. białka, w których oprócz fragmentów strukturalnych słabo wiążących się w dużym rowku DNA, występują inne fragmenty pozwalające silnie połączyć cząsteczkę z DNA, np. wiązaniami kowalencyjnymi. Istnieją przypuszczenia, że netropsyna oraz jej molekuly hybrydowe wiążą się także w dużym rowku DNA [42].

Bleomycyna jest z kolei bardzo silnym przecinaczem zarówno łańcucha RNA, jak i DNA (Rys. 5). Jest ona aktywna tylko w obecności jonów metali przejściowych, takich jak żelazo i miedź. Mechanizm działania tego cytostatyku polega na utlenie-

niu deoksyrybozy w DNA, inicjowanej abstrakcją protonu głównie z pozycji C-1', C-4' i C-5'. Zazwyczaj po oderwaniu protonu z pozycji C-1', następuje addycja  $O_2$ , w wyniku czego deoksyryboza przekształca się w lakton. Chociaż produkt ten jest stosunkowo stabilny, to jednak w obecności amin dochodzi do reakcji eliminacji i rozcięcia nici DNA. Analogiczny mechanizm reakcji działa w przypadku oderwania protonu z pozycji C-4' i C-5', przy czym ze względu na inną pozycję addycji tlenu, powstają inne produkty pośrednie [43]. Reakcja cięcia występuje w małym rowku DNA, głównie w sekwencjach GpT oraz GpC, gdzie reaktywnymi nukleotydami są odpowiednio T i C. Przecinanie łańcucha obserwowano niekiedy również we fragmentach GpA i ApT [44].



Rysunek 5. Struktura krystaliczna kompleksu  $Co^{3+}$ -bleomycyna-DNA [45]  
Figure 5. Crystal structure of the  $Co^{3+}$ -bleomycin-DNA complex

Warto zauważyć, że porównywalna sekwencja jest preferowana również przez aktynomycynę D [36]. W związku z tym, można przypuszczać, że działania obu antybiotyków zakłócają się nawzajem. Zarówno bowiem wiązanie do mniejszego rowka DNA, jak również interkalacja aktynomycyny D, może hamować rozszczepianie DNA przez bleomycynę. Nadmienić należy, że oba te przeciwnowotworowe antybiotyki są powszechnie stosowane w terapii razem. W celu zbadania interakcji między tymi związkami, przeprowadzono serię badań na restrykcyjnych fragmentach plazmidowego DNA, w tym na fragmencie 265mer z pBlueScript. Wyniki wykazują, że aktynomycyna D znacznie modyfikuje cięcie DNA przez bleomycynę. Cięcie przez bleomycynę głównej sekwencji docelowej (GpT oraz GpC) jest silnie hamowane przez aktynomycynę D, natomiast znacznie wzrasta rozszczepianie wtórnych fragmentów (GpA i ApT). Zjawisko to wynika z zakłócenia struktury podwójnej helisy spowodowanej interkalacją aktynomycyny do jej preferowanych fragmentów. Ponadto wykazano, że związki wiążące się w małym rowku DNA, jak wspomniana wcześniej distamycyna, również hamują cięcie przez bleomycynę fragmentów DNA w obszarze GpA i GpT. W przeciwieństwie do aktynomycyny, distamycyna nie powoduje redystrybucji miejsc rozszczepienia łańcucha DNA [46].

Do określenia miejsca wiązania związków chemicznych do DNA najczęściej stosuje się krótkie fragmenty restrykcyjne plazmidowego DNA. Natomiast, w celu

określenia właściwości cytotoksycznych, bardzo często wykorzystuje się całą kolistą cząsteczkę plazmidu [47–49]. Plazmidy są małymi cząsteczkami o wielkości do kilku tysięcy par zasad. Charakterystyczną ich cechą jest to, że mogą replikować się autonomicznie, niezależnie od chromosomu gospodarza. Ponadto są zdolne do przekazywania swoich genów innym komórkom, a także są nośnikami genów warunkujących m.in. antybiotykooporność, metabolizm niektórych naturalnych produktów, wytwarzanie toksyn i specyficznych bakteriocyn [50].

Koliste cząsteczki DNA są doskonałymi substratami do badania leków, mogących powodować cięcie DNA. Rozcięcie jednej z nici plazmidu nie zmienia jego masy, ale powoduje rozwinięcie struktury superhelikalnej (forma I), prowadząc do tworzenia się formy otwartej (forma II), podobnej do tej, jaką można otrzymać po działaniu na plazmid topoiizomerazą. Rozcięcie obu nici przeprowadza plazmid do formy liniowej DNA (forma III). Dwuniciowe uszkodzenia łańcucha DNA, mające przeważnie podłoże w reakcjach oksydacyjnych, są nieodwracalne. Organizm nie dysponuje mechanizmami skutecznej naprawy takich uszkodzeń [51].

W przypadku badań interkalatorów, najczęściej wykorzystuje się DNA z grasicy cielőcej (ctDNA). Interakcje aktynomycyny z ctDNA badano metodą woltamperometrii cyklicznej (CV). Wyniki badań wykazały, że aktynomycyna D silnie wiąże się z DNA, ze stałą wiązania równą  $7,54 \times 10^9 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ , a wiązanie obejmuje sześć par zasad [240]. Do badania oddziaływania interkalatorów z ctDNA częściej jednak wykorzystuje się spektroskopię UV-Vis, CD oraz fluorescencję [53–58].

### 3. ODDZIAŁYWANIE ANTYBIOTYKÓW PEPTYDOWYCH Z JONAMI METALI

Chociaż dla większości antybiotyków obecność jonów metali nie jest konieczna do pełnienia ich funkcji, to jednak istnieją antybiotyki, dla których koordynacja jonu metalu jest niezbędna. W tym przypadku, skoordynowane jony metali odgrywają ważną rolę w utrzymaniu właściwej struktury i/lub efektywności ich działania. Usunięcie jonów metali z tych antybiotyków może skutkować utratą lub obniżeniem ich aktywności farmakologicznej. Z tego typu leków dotychczas najlepiej poznano – pod względem mechanizmu działania - bleomycynę, streptonigrynę oraz bacytracynę.

Podobnie jak metaloproteiny, antybiotyki te czasami nazywa się metaloantybiotykami [59]. Termin ten nie jest jednak zbyt często używany, ponieważ sugeruje, że związki mają charakter metaloorganiczny, a w tego typu układach zawsze występuje przynajmniej jedno wiązanie kowalencyjne metal-węgiel [60]. W przypadku omawianych tu kompleksów, są to zazwyczaj wiązania koordynacyjne. Bez względu na terminologię, wiele kompleksów metali z antybiotykami, a także z ich pochodnymi, oraz kompleksy metali z ligandami syntetycznymi, wykazują bardzo silne działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, czy przeciwnowotworowe [59].

Wspomniana już wcześniej bacytracyna jest dodekapeptydowym antybiotykiem izolowanym z *Bacillus subtilis* i *Bacillus licheniformis*. Ma ona stosunkowo wąskie spektrum działania, skierowane głównie przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, takim jak gronkowce i paciorkowce [61]. Bacytracyna wiąże wiele dwuwartościowych jonów metali i tworzy z nimi kompleksy o stechiometrii 1:1. Powinowactwo jonów metali do liganda, jakim jest bacytracyna, jest następujące:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} \sim \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$ . Określono również aktywność biologiczną tworzących się kompleksów, która - jak wykazano - wiąże się bezpośrednio z powinowactwem. Najaktywniejsze są kompleksy bacytracyny z miedzią [62]. Co ciekawe, antybiotyk wykazuje miedzio-zależną inhibicję wzrostu pleśni *Neurospora crassa* [63]. Początkowo sądzono, że wiązanie jonu metalu następuje przez imidazolowy atom azotu pochodzący z His-10 i pierścień tiazolowy (atom azotu lub siarki), a także grupę aminową Ile-1. Wykluczono natomiast udział grupy karboksylowej [64]. Kolejne badania nie do końca potwierdziły te sugestie. Ze względu na obecność w cząsteczce bacytracyny wielu potencjalnych ugrupowań donorowych, włożono wiele wysiłku w scharakteryzowanie procesu koordynacji. Na przestrzeni wielu lat zastosowano w tym celu szerokie spektrum metod badawczych, począwszy od potencjometrii [64] przez ORD [47],  $^1\text{H}$  NMR [65],  $^{13}\text{C}$  NMR [66] i EPR [67]. Dopiero te ostatnie badania bezsprzecznie potwierdziły udział w procesie wiązania jonów  $\text{Cu}^{2+}$  reszt His-10, Glu-4 i Asp-11. Można było wykluczyć z niego udział siarki pierścienia tiazolowego, ponieważ kompleks charakteryzowałby się wówczas niższymi wartościami parametrów  $g$  i  $A$  [68].

Ostatnie badania metodą EXAFS kompleksu bacytracyny z jonami cynku sugerują, że sfera koordynacyjna tego metalu składa się z trzech atomów azotu oraz jednego atomu tlenu. Atomy donorowe bacytracyny przypisano do *N*-końcowej grupy aminowej Ile-1, atomu azotu pierścienia imidazolowego His-10, atomu azotu pierścienia tiazolowego oraz grupy karboksylowej Glu-4 [69]. Sugeruje się również, że *N*-końcowa grupa aminowa Ile-1 znajduje w pobliżu jonu metalu. Czy jest ona bezpośrednio zaangażowana w proces koordynacji nie można ani potwierdzić, ani też wykluczyć. Z całą pewnością można natomiast wyeliminować wiązanie jonów metalu przez atom siarki pierścienia tiazolowego [70].

W wielu preparatach farmaceutycznych do stosowania miejscowego, a w szczególności w maściach i pudrach, jednym ze składników aktywnych jest sól cynkowa bacytracyny. Jest ona aktywna na niemal wszystkie bakterie Gram-dodatnie wywołujące choroby skóry i błon śluzowych. Może być stosowana nawet u niemowląt, w przypadku pieluszkowego zapalenia skóry i sączących wyprysków skórnych [59].

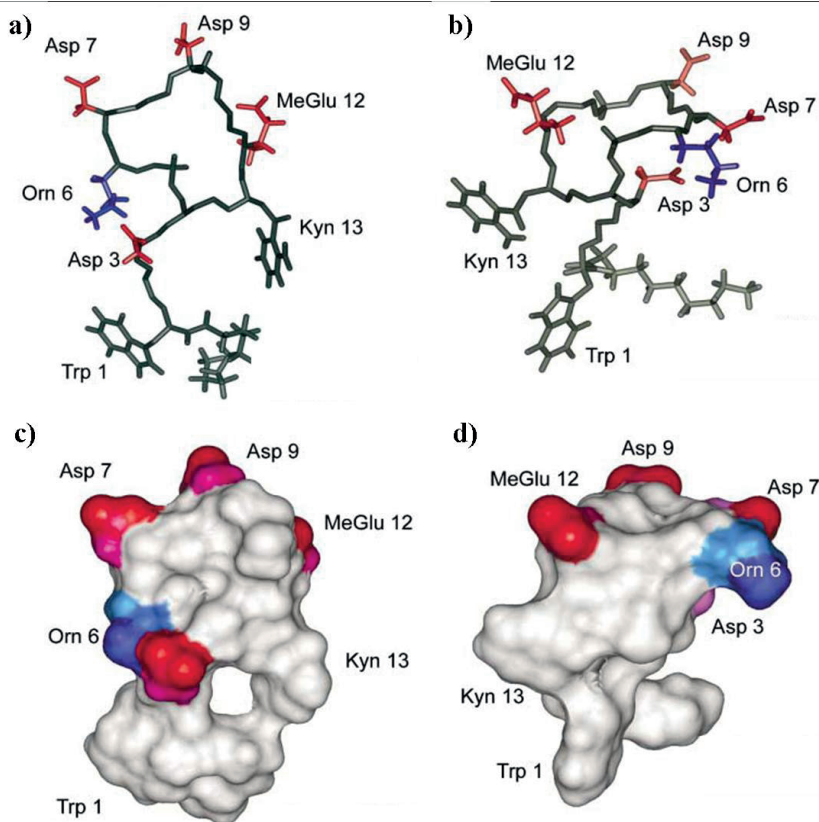
Często stosowanym antybiotykiem peptydowym jest także bleomycyna, która należy do grupy antybiotyków glikopeptydowych. Została po raz pierwszy wyizolowana jako kompleks z jonami miedzi(II) z *Streptomyces verticillus* [71]. Wkrótce okazało się, że wykazuje ona właściwości przeciwnowotworowe i szybko stała się jednym z najszerzej stosowanych farmaceutyków w leczeniu raka jąder, chłoniaka, raka głowy i szyi, a także w terapii skorzajonej z cisplatyną i adriamycyną zwią-

zanego z AIDS mięsaka Kaposiego [72]. W efekcie badań wykazano, że zarówno kompleksy  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  jak i  $\text{Cu}^+$  i  $\text{Cu}^{2+}$  są aktywnymi *in vivo* formami antybiotyku, przy czym dwa pierwsze są nawet skuteczniejsze. Skład sfery koordynacyjnej obu tych jonów metali wciąż pozostaje kontrowersyjny z powodu braku dostatecznych informacji strukturalnych. Kompleksy bleomycyny z jonami cynku i kobaltu(III) są biologicznie nieaktywne [73]. Bleomycyna jest znakomitym ligandem dla wielu jonów metali przejściowych, w tym  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{3+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$ ,  $\text{Ru}^{2+}$ , jak również promieniotwórczego  $^{105}\text{Rh}$ , stosowanego w radioterapii, a także wspomnianych już wcześniej  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  oraz  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  [74–76]. Przejścia d-d na widmach UV-Vis kompleksów miedzi(II) z bleomycyną oraz jej analogami występują przy długości fali około 600 nm ( $\epsilon = 110 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Ich energia jest większa niż dla centrów miedziowych typu II, co może sugerować obecność silnego pola ligandów w odkształconej pięcio- lub sześcioczołowej sferze koordynacyjnej tego kompleksu. Jego struktura stała się jaśniejsza, po wykrystalizowaniu kompleksu jonu miedzi(II) z pośrednim produktem biosyntezy. Jak dowiedziono, bleomycynaten koordynuje jony miedziowe przez atomy azotu pierścienia imidazolowego, pirymidynowego, grupę aminową  $\beta$ -aminoalaniny i azot amidowy  $\beta$ -hydroksyhistydyny [77].

W przypadku kompleksów z jodem  $\text{Fe}^{2+}$ , w proces wiązania zaangażowane są te same co dla jonów miedzi(II) atomy donorowe, z jedną tylko różnicą. W procesie uczestniczy dodatkowo grupa amidowa, zlokalizowana przy zmodyfikowanej D-mannozy. Pomimo sporów, sugeruje się, że struktura angażująca pięć donorowych atomów w kompleksie o symetrii zniekształconego oktaedru posiada nadal jedno niezapełnione miejsce koordynacyjne, a tym samym ma możliwość wiązania cząsteczki tlenu [78]. Analogiczną strukturę mają również kompleksy z jonami kobaltu na niższym stopniu utlenienia (+2) [79]. Równie silnie jony metali wiązane są przez analogi bleomycyny, w tym tallysomycynę [80], peplomycynę [81] oraz fleomycynę [82].

Daptomycyna jest stosunkowo nowym antybiotykiem lipopeptydowym, stosowanym w leczeniu zakażeń skóry, spowodowanych przez bakterie Gram-dodatnie, w tym metylinooporne *Staphylococcus aureus* [83]. W przeciwieństwie do zdecydowanej większości antybiotyków peptydowych, które mają charakter amfipatyczny i duży ładunek dodatni (nawet do +9, głównie ze względu na obecność reszt argininy i lizyny), daptomycyna jest ujemnie naładowanym cyklicznym lipopeptydem [84].





Rysunek 6. Daptomycyna a) struktura cząsteczki; b) struktura kompleksu z jonami  $\text{Ca}^{2+}$  c) model powierzchni daptomycyny; d) model powierzchni kompleksu. Ujemnie naładowane łańcuchy boczne zaznaczone zostały na czerwono, naładowane dodatnio na niebiesko [85]

Figure 6. Daptomycin a) molecular structure; b) structure of the  $\text{Ca}^{2+}$  complex; c) model of daptomycin surface; d) model of the complex surface. Color red indicates negative charges of amino acids side chains, while blue positive ones [85]

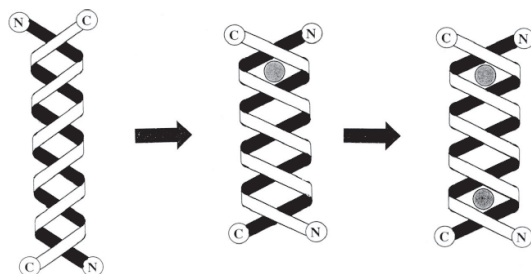
Unikalną cechą tego antybiotyku jest jego aktywność przeciwbakteryjna całkowicie zależna od jonów wapnia [86–90]. Wyniki badań przeprowadzonych w 2004 roku przez Hancock'a dowodzą, że jony wapnia powodują zmiany strukturalne w cząsteczce daptomycyny (Rys. 6a, 6b), co z kolei wywołuje jego interakcje z lipidami [85]. Najprawdopodobniej w wiązanie jonów wapnia zaangażowana jest grupa karboksylowa aminokwasu Asp-3 [91]. Rysunki 6c i 6d ilustrują struktury powierzchni, odpowiednio samego liganda oraz kompleksu. Jony wapnia, wiążąc się z daptomycyną w roztworze, zmniejszają całkowity ładunek liganda z  $-3$ , do  $-1$  dla kompleksu. Ponadto powodują wzrost amfipatyczności oraz, w mniejszym stopniu, wzrost powierzchni hydrofobowej cząsteczki leku. Może to powodować nie tylko oligomeryzację peptydu, ale również ułatwia jego oddziaływanie z błoną komórkową. Stwierdzono także, że jon  $\text{Ca}^{2+}$  może działać jako pomost pomiędzy daptomy-

cyną i fosfolipidami, prowadząc do kolejnej zmiany konformacyjnej. Tym samym umożliwia głębsze wniknięcie leku do wnętrza błony komórkowej bakterii i zakłóca jej strukturę [85].

Znane są także inne antybiotyki lipopeptydowe, których działanie zależne jest od jonów wapnia, wśród nich amfomycyna i fruylimycyna [92] oraz surfaktyna [93]. Postuluje się, że wszystkie antybiotyki lipopeptydowe, zależne od jonów wapnia, oddziałują z błoną komórkową w podobny sposób [85].

Wiele antybiotyków peptydowych nie wymaga skoordynowania jonu metalu do pełnienia swoich funkcji, ale obecność w ich cząsteczkach potencjalnych atomów donorowych sprzyja procesowi ich wiązania. W przypadku tworzenia się stabilnych i trwałych kompleksów, fakt ten może mieć wpływ na homeostazę jonów metali w organizmie. I tak, na przykład, lipopeptyd ituryna jest zdolny do wiązania jonów metali alkalicznych we wnętrzu pierścienia peptydowego [94].

Oprócz ituryny, z jonami metali alkalicznych oddziałuje także gramicydyna A. Jest to liniowy, hydrofobowy pentapeptyd, zbudowany na przemian z aminokwasów o konfiguracji L i D. Oba jej końce są zablokowane – przez grupę formylową (*N*-koniec) oraz etanolamid (*C*-koniec). Gramicydyna A jest syntetyzowana przez bakterie ze szczepu *Bacillus brevis* [95]. Antybiotyk ten w błonie komórkowej zachowuje się jak jonofor i jest zdolny do transportu jednowartościowych kationów [96]. Cząsteczki leku, tworząc podwójną helisę, silnie wiążą kationy jednowartościowe. Odkryto, że grupy karbonylowe tryptofanów, zlokalizowanych w pozycjach 11 obu helis, są głównym miejscem wiązania tych jonów [97]. Chociaż zmierzone stałe wiązania dla poszczególnych jonów są zmienne, względne powinowactwo wiązania dla różnych kationów jest w zasadzie zgodne w serii  $Cs^+ \approx Rb^+ \gg K^+ > Na^+ > Li^+$ . Jony te są znacznie mocniej wiązane przez pierwsze miejsce wiązania, niż przez drugie (Rys. 7) [98].

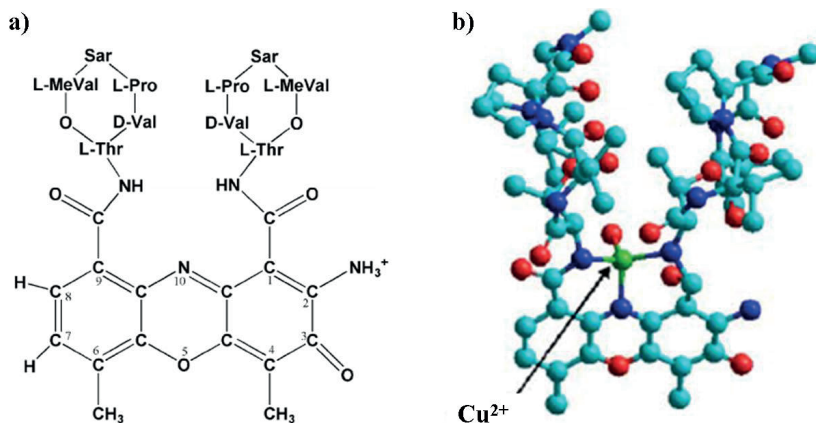


Rysunek 7. Schemat przedstawiający proponowane dwa miejsca wiązania kationów jednowartościowych przez gramicydynę A [98]

Figure 7. Scheme of two proposed binding sites of monovalently charged ions by gramicidin A [98]

Należąca do grupy antybiotyków chromopeptydowych aktynomycyna D jest jednym z najpopularniejszych związków, stosowanych w leczeniu nowotworów [99]. Zbadano aktywność przeciwnowotworową wielu syntetycznych analogów eteru koronowego aktynomycyny D, pod kątem zdolności kompleksowania jonów metali

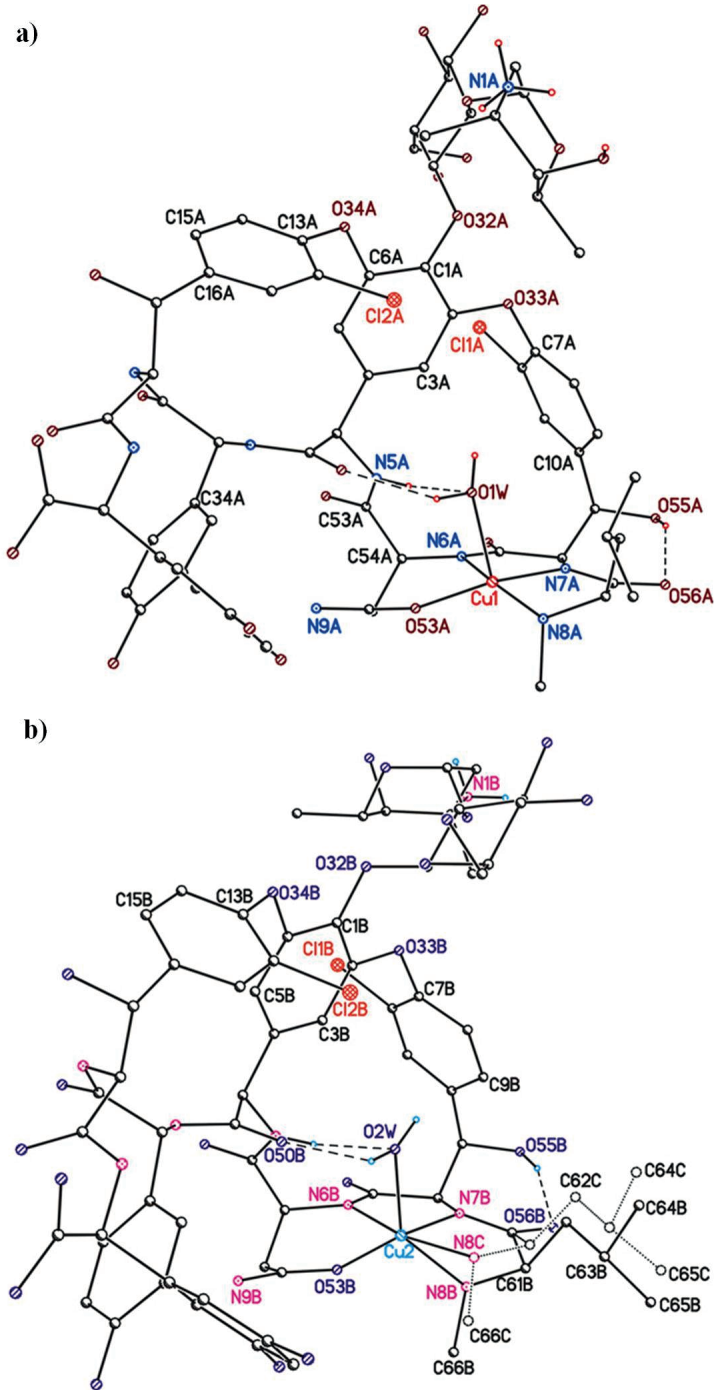
przez łańcuchy boczne tego leku [100]. Przy zastosowaniu metody dichroizmu kołowego oraz – 35 lat później, w roku 2003 – przy zastosowaniu woltamperometrii cyklicznej stwierdzono, że antybiotyk ten może wiązać jony miedzi oraz, że właśnie w takiej postaci, lek może wiązać się do DNA, tworząc układ ternarny [101, 102]. W 2004 roku, na bazie analizy szeregu wyników spektroskopowych, zidentyfikowano miejsca wiązania jonów miedzi(II). W proces koordynacji zaangażowane są trzy donorowe atomy azotu: heterocykliczny pierścienia aminofenoksazonowego oraz dwa z najbliższych wiązań amidowych w cząsteczce aktynomycyny D (Rys. 8) [103]. W 2012 roku zbadano kompleks aktynomycyny z jonami srebra. Zaproponowano ten sam zestaw atomów donorowych, jak w przypadku kompleksu z jonami miedzi(II) [104].



Rysunek 8. a) wzór strukturalny cząsteczki aktynomycyny D, b) struktura kompleksu Cu<sup>2+</sup>-aktynomycyna D [103]

Figure 8. a) structure of actinomycin D molecule, b) structure of Cu<sup>2+</sup>-actinomycin D complex [103]

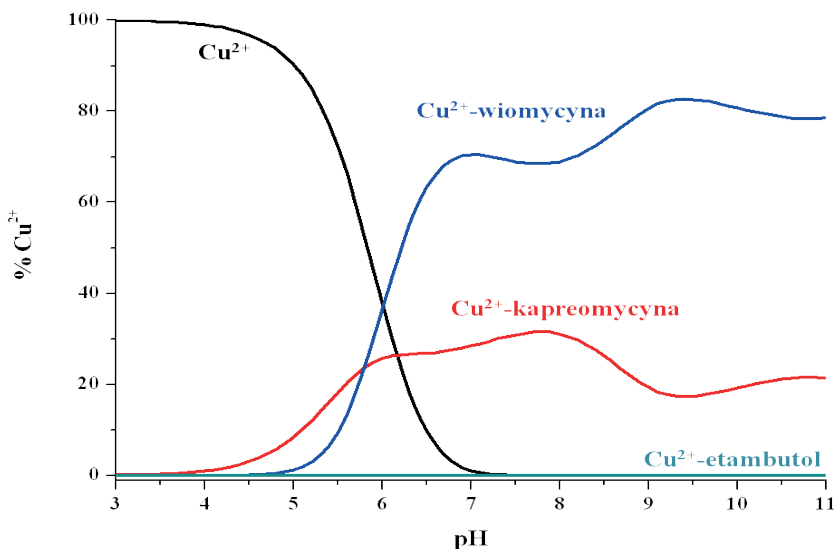
Zbadano także miejsca wiązania jonów miedzi(II) przez wankomycynę [105] i teikoplaninę [106]. Oba antybiotyki należą do grupy antybiotyków glikopeptydowych [107] i, choć są swoimi analogami, ich strefa koordynacyjna znacznie się różni. Dla obu kompleksów przeprowadzono serię badań strukturalnych w roztworze. W przypadku wankomycyny w wiązanie jonów miedzi(II) w pH fizjologicznym, zaangażowane są trzy donorowe atomy azotu: drugorzędowej grupy aminowej i dwóch zdeprotonowanych wiązań peptydowych [105]. Natomiast w przypadku teikoplaniny, tworzą się kompleksy dwuazotowe, a w proces koordynacji zaangażowana jest pierwszorzędowa grupa aminowa oraz atom azotu najbliższego wiązania peptydowego [106]. Dowiedziono także, że teikoplanina, związana do podłoża krzemionkowego, wykazuje zdolność do wiązania stereoizomerów różnych kompleksów z jonami rutenu(II) z wysoką regio-, diastereo- i enancjoselektywnością, co sprawia, że jest użytecznym narzędziem do rozdzielania HPLC [108].



Rysunek 9. Struktura krystaliczna kompleksów  $\text{Cu}^{2+}$ -wankomycyna a) formy A, b) formy B [109]  
 Figure 9. Crystal structure of  $\text{Cu}^{2+}$ -vancomycin complex a) form A, b) form B [109]

Dla kompleksu  $\text{Cu}^{2+}$ -wankomyca przeprowadzono również badania rentgenostrukturalne. Rozwiązana struktura krystaliczna wyraźnie wskazuje na istnienie dwóch różniących się geometrią form kompleksowych, oznaczonych jako A i B (Rys. 9). Atomy donorowe w obu formach pozostają takie same. Jon metalu skoordynowany jest w peryferyjnej, giętkiej części antybiotyku. W proces koordynacji, podobnie jak w przypadku kompleksu w roztworze, zaangażowane są trzy atomy azotu cząsteczki leku. Wykazano oddziaływanie z tlenem amidowym reszty asparaginowej. Kompleks ma zatem geometrię piramidy kwadratowej, a cząsteczka wody w pozycji apikalnej uzupełnia pięciokoordynacyjną sferę wokół jonu metalu (Rys. 9) [105, 109]. Jak już wspomniano, ten sam zestaw atomów donorowych nie znajduje odzwierciedlenia w identycznej dla formy kompleksowej A i B geometrii wokół poszczególnych jonów miedzi(II). Nie oznacza to, że obie formy kompleksowe drastycznie się różnią. Niewielkie różnice w geometrii pomiędzy formami A i B uwidaczniają się w odległości wody apikalnej od jonu  $\text{Cu}^{2+}$ . Odległość ta jest niewiele mniejsza (różnica wynosi 0,047 Å) dla formy A. Natomiast w formie B łańcuch boczny *N*-końcowej reszty leucynowej jest nieuporządkowany i występuje w dwóch położeniach (Rys. 9 b) [109].

W przebiegu wielu chorób, w tym także gruźlicy, obserwuje się znaczny wzrost stężenia jonów miedzi(II) w osoczu krwi (nawet o 21%) [110]. Co ciekawe stężenie to spada i wraca do prawidłowego poziomu po leczeniu farmakologicznym. Postuluje się, że leki przeciwgruźlicze mogą chelatować jony  $\text{Cu}^{2+}$  i wpływać na ich homeostazę [111, 112]. Porównano więc siłę wiązania jonów miedzi(II) przez trzy wciąż stosowane leki przeciwgruźlicze. Rysunek 10 wyraźnie wskazuje, że jony miedziowe są najefektywniej wiązane przez wiomycynę. W pH fizjologicznym aż 70% jonów  $\text{Cu}^{2+}$  wiąże sam antybiotyk, a pozostałe 30%-kapreomycyna. Natomiast etambutol, uważany za silny chelator tych jonów [111], wpływający na ich homeostazę w organizmie, jest w tym układzie praktycznie bez szans wiążąc niespełna 1%  $\text{Cu}^{2+}$ . Można więc przypuszczać, że u pacjentów leczonych kapreomycyną, a w szczególności wiomycyną, stężenie jonów  $\text{Cu}^{2+}$  znacznie szybciej wraca do normy, niż u leczonych etambutolem. Oczywiście, może to powodować nie tylko efekty pożądane (związane z powrotem do prawidłowego poziomu  $\text{Cu}^{2+}$ ), ale również niekorzystne. Idąc krok dalej, można przypuszczać, że większa toksyczność wiomycyny w stosunku do kapreomycyny wynika z silniejszego wiązania jonów  $\text{Cu}^{2+}$  i zaburzenia homeostazy tego metalu. Może to być szczególnie niebezpieczne, w przypadku długotrwałego stosowania leku, i może odpowiadać za efekty uboczne [113].



Rysunek 10. Wykres obrazujący konkurencję w wiązaniu jonów  $\text{Cu}^{2+}$  pomiędzy wiomycyną, kapreomycyną i etambutolem, M:L 1:1.1,  $[\text{Cu}^{2+}] = 1 \text{ mM}$

Figure 10. Competition diagram for viomycin, capreomycin and ethambutol in  $\text{Cu}(\text{II})$  binding, M:L 1:1.1 molar ratio,  $[\text{Cu}^{2+}] = 1 \text{ mM}$

## UWAGI KOŃCOWE

Antybiotyki są substancjami chemicznymi zdolnymi do hamowania wzrostu komórek bakteryjnych lub powodują ich śmierć. Niektóre z nich (np. bacytracyna, fleomycyna, bleomycyna) są nieaktywne pod nieobecność jonów metali, inne wykazują korzystniejsze właściwości biologiczne po ich skompleksowaniu (np. daptomycyna, kapreomycyna) [59, 73, 82, 114]. Antybiotyki peptydowe, ze względu na dużą liczbę potencjalnych ugrupowań donorowych zlokalizowanych w swoich cząsteczkach, mogą wpływać na homeostazę jonów metali, m.in.  $\text{Cu}^{2+}$ . Jest to szczególnie istotne, ponieważ w wielu stanach patologicznych (infekcje bakteryjne, nowotwory, gruźlica, PD, AD) obserwuje się podwyższone stężenie jonów miedziowych, co może ułatwiać tworzenie się kompleksów z aplikowanymi farmaceutykami [111].

Oczywiście głównym zadaniem antybiotyków jest zwalczanie infekcji bakteryjnych, ale niektóre z nich wykazują właściwości przeciwgrzybicze czy przeciwnowotworowe. Ze względu na niski efekt terapeutyczny, nie stosuje się ich w leczeniu infekcji wirusowych. Mechanizm działania antybiotyków peptydowych polega na inhibicji syntezy ściany komórkowej, oddziaływaniu na błonę komórkową lub hamowaniu replikacji i naprawy kwasów nukleinowych [7, 8].

Istotnym czynnikiem wpływającym na siłę i charakter oddziaływania związków na kwasy nukleinowe jest ich wypadkowy ładunek. Zarówno cząsteczki DNA, jak i RNA, jako polianiony silniej wiążą związki o wysokim ładunku dodatnim. Jednym

ze sposobów zwiększania wypadkowego ładunku związku jest utworzenie kompleksów z jonami metali [114]. Chelaty takie charakteryzują się nie tylko wyższym ładunkiem, ale bardzo często posiadają też odmienne właściwości fizykochemiczne, niż nieskompleksowane ligandy w tych samych warunkach. Poza strukturą i ładunkiem często drastycznej zmianie ulega także reaktywność, w tym zdolność do generowania RFT [115, 116]. W efekcie, badania kompleksów obfitują niejednokrotnie w znacząco większą liczbę oddziaływań niż badania samych ligandów [113, 117].

## PODZIĘKOWANIE

Publikacja finansowana ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki ( grant nr 2014/13/B/ST5/04359).

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R.A. Atae, M.H. Atae, A.M. Tavana, M. Salesi, *Int. J. Prev. Med.*, 2017, **8**, 16.
- [2] R. Gaynes, *Emerg. Infect. Dis.*, 2017, **23**, 849.
- [3] C.N. Kyriacos, R. Stephan, *J. Antibiot.*, 2018, **71**, 153.
- [4] C. Walsh, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2003, **1**, 65.
- [5] G.A. Pankey, L.D. Sabath, *Clin. Infect. Dis.*, 2004, **38**, 864.
- [6] M. Chakroun, A. Chakroun, M. Hsairi, *Int. Arab. J. Antimicrob. Agents*, 2017, **7**, 1.
- [7] A. Zejc, M. Gorczyca, *Chemia leków*, Wyd. 3, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009.
- [8] C. Walsh, *Nature*, 2000, **406**, 775.
- [9] A.L. Demain, S. Sanchez, *J. Antibiot.*, 2009, **62**, 5.
- [10] J.A. Bosso, *Pharmacotherapy*, 2005, **25**, 55S.
- [11] M.A. Fischbach, C.T. Walsh, *Chem. Rev.*, 2006, **106**, 3468.
- [12] Y. Li, Q. Xiang, Q. Zhang, Y. Huang, Z. Su, *Peptides*, 2012, **37**, 207.
- [13] R.D. Sussmuth, W. Wohlleben, *Appl Microbiol. Biot.*, 2004, **63**, 344.
- [14] R.E.W. Hancock, D.S. Chapple, *Antimicrob. Agents Ch.*, 1999, **43**, 1317.
- [15] M.A. Marahiel, *J. Pept. Sci.*, 2009, **15**, 799.
- [16] V. Teixeira, M.J. Feio, M. Bastos, *Prog. Lipid Res.*, 2012, **51**, 149.
- [17] T. Mascher, N.G. Margulis, T. Wang, R.W. Ye, J.D. Helmann, *Mol. Microbiol.*, 2003, **50**, 1591.
- [18] R.N. Jones, D.J. Biedenbach, D.M. Johnson, M.A. Pfaller, *J. Chemotherapy*, 2001, **13**, 244.
- [19] K.A. Sannes-Lowery, R.H. Griffey, S.A. Hofstadler, *Anal. Biochem.*, 2000, **280**, 264.
- [20] G. Thomas, *Medicinal Chemistry an Introduction*, Wyd. 2, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester 2009.
- [21] S.K. Straus, R.E.W. Hancock, *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, **1758**, 1215.
- [22] S. Rasimus, R. Mikkola, M.A. Andersson, V.V. Teplova, N. Venediktova, C. Ek-Kommonen, M. Salkinoja-Salonen, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78**, 3732.
- [23] S. Ehala, V. Kasicka, E. Makrlik, *Electrophoresis*, 2008, **29**, 652.
- [24] D.A. Kelkar, A. Chattopadhyay, *BBA-Biomembranes*, 2007, **1768**, 2011.
- [25] T. Monshupanee, S.K. Johansen, A.E. Dahlberg, S. Douthwaite, *Mol. Microbiol.*, 2012, **85**, 1194.
- [26] R.E. Stanley, G. Blaha, R.L. Grodzicki, M.D. Strickler, T.A. Steitz, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010, **17**, 289.

- [27] R. Akbergenov, D. Shcherbakov, T. Matt, S. Duscha, M. Meyer, D.N. Wilson, E.C. Bottger, *Antimicrob Agents Ch.*, 2011, **55**, 4712.
- [28] C.E. Maus, B.B. Plikaytis, T.M. Shinnick, *Antimicrob. Agents Ch.*, 2005, **49**, 3192.
- [29] A.P. Carter, W.M. Clemons, D.E. Brodersen, R.J. Morgan-Warren, B.T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Nature*, 2000, **407**, 340.
- [30] Q. Vicens, E. Westhof, *Chem. Biol.*, 2002, **9**, 747.
- [31] S.K. Johansen, C.E. Maus, B.B. Plikaytis, S. Douthwaite, *Mol. Cell*, 2006, **23**, 173.
- [32] J. Poehlsgaard, S. Douthwaite, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, **3**, 870.
- [33] S. Rauf, J.J. Gooding, K. Akhtar, M.A. Ghauri, M. Rahman, M.A. Anwar, A.M. Khalid, *J. Pharmaceut. Biomed.*, 2005, **37**, 205.
- [34] C. Bencic, M. Enache, E. Volanschi, *J. Mol. Graph. Model.*, 2005, **24**, 10.
- [35] X. Zhou, Z. Shen, D. Li, X. He, B. Lin, *Talanta*, 2007, **72**, 561.
- [36] W. Du, L. Wang, J. Li, B. Wang, Z. Li, W. Fang, *Thermochim. Acta*, 2007, **452**, 31.
- [37] P. Colson, C. Bailly, C. Houssier, *Biophys. Chem.*, 1996, **58**, 125.
- [38] K.D. Goodwin, E.C. Long, M.M. Georgiadis, *Nucleic Acids Res.*, 2005, **33**, 4106.
- [39] G.L. Olsen, E.A. Louie, G.P. Drobny, S.T. Sigurdsson, *Nucleic Acids Res.*, 2003, **31**, 5084.
- [40] J. Lah, *Biochemistry*, 2000, **39**, 9317.
- [41] S.K. Sharma, M. Tandon, J.W. Lown, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 1102.
- [42] N.V. Hud, M. Polak, *Curr. Opin. Struc. Biol.*, 2001, **11**, 293.
- [43] S.T. Hoehn, H.-D. Junker, R.C. Bunt, C.J. Turner, J. Stubbe, *Biochemistry*, 2001, **40**, 5894.
- [44] J. Stubbe, J.W. Kozarich, W. Wu, D.E. Vanderwall, *Accounts Chem. Res.*, 1996, **29**, 322.
- [45] K.D. Goodwin, M.A. Lewis, E.C. Long, M.M. Georgiadis, *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, **105**, 5052.
- [46] C. Bailly, A. Kenani, M.J. Waring, *Nucleic Acids Res.*, 1997, **25**, 1516.
- [47] S.M. Monro, K.M. Cottreau, C. Spencer, J.R. Wentzell, C.L. Graham, C.N. Borissow, D.L. Jakeman, S.A. McFarland, *Bioorgan. Med. Chem.*, 2011, **19**, 3357.
- [48] B.O. Okandjeji, D.M. Greenwald, J. Wroten, J.K. Sello, *Bioorgan. Med. Chem.*, 2011, **19**, 7679.
- [49] D. Talancon, C. Lopez, M. Font-Bardia, T. Calvet, J. Quirante, C. Calvis, R. Messeguer, R. Cortes, M. Cascante, L. Baldoma, J. Badia, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **118**, 1.
- [50] W.K. Purves, S. David, G.H. Orians, H.C. Heller, *Life: The Science of Biology*, Wyd. 6, Sinauer Associates, Inc., Gordonsville, Wirginia 2001.
- [51] P.P. Silva, W. Guerra, J.N. Silveira, A.M.D.C. Ferreira, T. Bortolotto, F.L. Fischer, H. Terenzi, A. Neves, E.C. Pereira-Maia, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 6414.
- [52] S. Wang, T. Peng, F.C. Yang, *J. Electroanal. Chem.*, 2003, **544**, 87.
- [53] M. Kozurkova, D. Sabolova, L. Janovec, J. Mikes, J. Koval, J. Ungvarsky, M. Stefanisinova, P. Fedorocko, P. Kristian, J. Imrich, *Bioorgan. Med. Chem.*, 2008, **16**, 3976.
- [54] J. Plsikova, L. Janovec, J. Koval, J. Ungvarsky, J. Mikes, R. Jendzelovsky, P. Fedorocko, J. Imrich, P. Kristian, J. Kasparkova, V. Brabec, M. Kozurkova, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **57**, 283.
- [55] G. Zhang, X. Hu, N. Zhao, W. Li, L. He, *Pestic. Biochem. Phys.*, 2010, **98**, 206.
- [56] B.K. Sahoo, K.S. Ghosh, R. Bera, S. Dasgupta, *Chem. Phys.*, 2008, **351**, 163.
- [57] Y. Lu, J. Lv, G. Zhang, G. Wang, Q. Liu, *Spectrochim. Acta A*, 2010, **75**, 1511.
- [58] S. Roy, R. Banerjee, M. Sarkar, *J. Inorg. Biochem.*, 2006, **100**, 1320.
- [59] L.-J. Ming, J.D. Epperson, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **91**, 46.
- [60] A.D. McNaught, A. Wilkinson, IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*, Drugie wydanie ("Gold Book"), Blackwell Scientific Publications, Oxford 1997.
- [61] D.M. Citron, C.V. Merriam, K.L. Tyrrell, Y.A. Warren, H. Fernandez, E.J.C. Goldstein, *Antimicrob. Agents Ch.*, 2003, **47**, 2334.
- [62] L.-J. Ming, J.D. Epperson, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **91**, 46.



- [63] A.M. Hempel, S. Cantlay, V. Molle, S.-B. Wang, M.J. Naldrett, J.L. Parker, D.M. Richards, Y.-G. Jung, M.J. Buttner, K. Flärth, P. Natl. Acad. Sci. USA, 2012, **109**, E2371.
- [64] L.C. Craig, W.F. Phillips, M. Burachik, Biochemistry, 1969, **8**, 2348.
- [65] N.W. Cornell, D.G. Guiney Jr., Biochem. Biophys. Res. Co., 1970, **40**, 530.
- [66] R.E. Wasylishen, M.R. Graham, Can. J. Biochem., 1975, **53**, 1250.
- [67] E.G. Seebauer, E.P. Duliba, D.A. Scogin, R.B. Gennis, R.L. Belford, J. Am. Chem. Soc., 1983, **105**, 4926.
- [68] J. Peisach, W.E. Blumberg, Arch. Biochem. Bioph., 1974, **165**, 691.
- [69] F. Drablos, D.G. Nicholson, M. Ronning, Biochim. Biophys. Acta, 1999, **1431**, 433.
- [70] F. Drablos, J. Comput. Chem., 2000, **21**, 1.
- [71] J. Gu, R. Codd, RSC Adv., 2015, **5**, 3443.
- [72] J.D. Bloss, J.A. Blessing, B.C. Behrens, R.S. Mannel, J.S. Rader, A.K. Sood, M. Markman, J. Benda, J. Clin. Oncol., 2002, **20**, 1832.
- [73] C. Xia, F.H. Forsteling, D.H. Petering, Biochemistry, 2003, **42**, 6559.
- [74] L. Ronconi, P.J. Sadler, Coord. Chem. Rev., 2007, **251**, 1633.
- [75] M. Sugiyama, T. Kumagai, J. Biosci. Bioeng., 2002, **93**, 105.
- [76] R.C. Brooks, P. Carnochan, J.F. Vollano, N.A. Powell, J. Zweit, J.K. Sosabowski, S. Martellucci, M.C. Darkes, S.P. Fricker, B.A. Murrer, Nucl. Med. Biol., 1999, **26**, 421.
- [77] M. Sugiyama, T. Kumagai, M. Hayashida, M. Maruyama, Y. Matoba, J. Biol. Chem., 2002, **277**, 2311.
- [78] K.E. Loeb, J.M. Zaleski, C.D. Hess, S.M. Hecht, E.I. Solomon, J. Am. Chem. Soc., 1998, **120**, 1249.
- [79] C. Xia, F.H. Forsterling, D.H. Petering, Biochemistry, 2003, **42**, 6559.
- [80] C. Lee, H. Won, J. Kor. Mag. Reson. Soc., 2007, **11**, 129.
- [81] E.C. Wasinger, L. Zaleski, B. Hedman, K.O. Hodgson, E.I. Solomon; J. Biol. Inorg. Chem., 2002, **7**, 157.
- [82] W. Wu, D.E. Vanderwall, C.J. Turner, S. Hoehn, J. Chen, J. W. Kozarich, J. Stubbe; Nucleic Acids Res., 2002, **30**, 4881.
- [83] A. Raja, J. LaBonte, J. Lebbos, P. Kirkpatrick, Nat. Rev. Drug Discov., 2003, **2**, 943.
- [84] F.P. Tally, M. Zeckel, M.M. Wasilewski, C. Carini, C.L. Berman, G.L. Drusano, F.B.J. Olseon, Expert Opin. Inv. Drug., 1999, **8**, 1222.
- [85] D. Jung, A. Rozek, M. Okon, R.E.W. Hancock, Chem. Biol., 2004, **11**, 949.
- [86] M.J. Rybak, E. Hershberger, T. Moldovan, R.G. Grucz, Antimicrob. Agents Ch., 2000, **44**, 1062.
- [87] A.L. Barry, P.C. Fuchs, Antimicrob. Agents Ch., 2001, **45**, 1919.
- [88] J.A. Silverman, N. Oliver, T. Andrew, T. Li, Antimicrob. Agents Ch., 2001, **45**, 1799.
- [89] P.J. Petersen, P.A. Bradford, W.J. Weiss, T.M. Murphy, P.E. Sum, S.J. Projan, Antimicrob. Agents Ch., 2002, **46**, 2595.
- [90] J.A. Silverman, N.G. Perlmutter, H.M. Shapiro, Antimicrob. Agents Ch., 2003, **47**, 2538.
- [91] D. Jung, A. Rozek, M. Okon, R.E.W. Hancock, Chem. Biol., 2004, **11**, 949.
- [92] Z. Hojati, C. Milne, B. Harvey, L. Gordon, M. Borg, F. Flett, B. Wilkinson, P.J. Sidebottom, B.A. Rudd, M.A. Hayes, C.P. Smith, J. Micklefield, Chem. Biol., 2002, **9**, 1175.
- [93] E. Vass, F. Besson, Z. Majer, L. Volpon, M. Hollosi, Biochem. Biophys. Res. Co., 2001, **282**, 361.
- [94] M. Rautenbach, P. Swarta, M. J. van der Merweb, Bioorg. Med. Chem., 2000, **8**, 2539.
- [95] C.-H. Jiang, Y. Chen, F. Yan, Z.-H. Fan, J.-H. Guo, Genome Announc., 2017, **5**, e00886.
- [96] J.M. David, A.K. Rajasekaran, J. Kidney Cancer VHL., 2015, **2**, 15.
- [97] B.A. Wallace, Annu. Rev. Biophys. Bio., 1990, **19**, 127.
- [98] Y. Chen, B.A. Wallace, Biophys. J., 1996, **71**, 163.
- [99] M.D. Ronghe, D. Murphy D., *Chemotherapy and Novel Cancer Targeted Therapies [w:] The Surgery of Childhood Tumors*, Carachi R., Grosfeld J. (Red.), Springer, Berlin, Heidelberg 2016.

- [100] L. Karawajew, E. N. Glibin, V.Y. Maleev, G. Czerwony, B. Dorken, D.B. Davies, A.N. Veselkov, *Anti-cancer Drug Des.*, 2000, **15**, 331.
- [101] M.M. Fishman, L.J. Rosenwasser, *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, **166**, 584.
- [102] S. Wang, T.-Z. Peng, C.F. Yang, *J. Electroanal. Chem.*, 2003, **544**, 87.
- [103] W. Szczepanik, P. Kaczmarek, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, **98**, 2141.
- [104] B. Ivanova, M. Spiteller, *Polyhedron*, 2012, **38**, 235.
- [105] M. Świątek, D. Valensin, C. Migliorini, E. Gaggelli, G. Valensin, M. Jeżowska-Bojczuk, *Dalton Trans.*, 2005, **23**, 3808.
- [106] M. Brzezowska, M. Kucharczyk-Klamińska, F. Bernardi, D. Valensin, N. Gaggelli, E. Gaggelli, G. Valensin, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2010, **104**, 193.
- [107] M. Jeżowska-Bojczuk, K. Stokowa-Soltys, *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, **143**, 997
- [108] F. Gasparrini, I. D'Acquarica, J.G. Vos, C.M. O'Connor, C. Villani, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 3535.
- [109] M. Kucharczyk, M. Brzezowska, A. Maciąg, T. Lis, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, **102**, 936.
- [110] G. Mohan, S. Kulshershta, P. Sharma, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2006, **111**, 63.
- [111] M. Abbasi Nazari, F. Kobarfard, P. Tabarsi, J. Salamzadeh, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2009, **128**, 161.
- [112] K. Stokowa, W. Szczepanik, N. Gaggelli, E. Gaggelli, G. Valensin, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2012, **106**, 111.
- [113] K. Stokowa-Soltys, N. A. Barbosa, A. Kasprzewicz, R. Wieczorek, N. Gaggelli, E. Gaggelli, G. Valensin, J. Wrześniński, J. Ciesiołka, T. Kuliński, W. Szczepanik, M. Jeżowska-Bojczuk, *Dalton Trans.*, 2016, **45**, 8645.
- [114] M. Szafranec, K. Stokowa-Soltys, J. Nagaj, A. Kasprzewicz, J. Wrześniński, M. Jeżowska-Bojczuk, J. Ciesiołka, *Dalton Trans.*, 2012, **41**, 9728.
- [115] K. Stokowa-Soltys, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **127**, 73.
- [116] J. Nagaj, P. Kołkowska, A. Bykowska, U.K. Komarnicka, A. Kyzioł, M. Jeżowska-Bojczuk, *Med. Chem. Res.*, 2015, **24**, 115.
- [117] K. Stokowa-Soltys, A. Kasprzewicz, J. Wrześniński, J. Ciesiołka, N. Gaggelli, E. Gaggelli, G. Valensin, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2015, **151**, 67.

Praca wpłynęła do Redakcji 14 lipca 2018