

**WPŁYW RÓŻNYCH RESZT
β-AMINOKWASOWYCH NA ZDOLNOŚCI
KOORDYNACYJNE PEPTYDÓW WOBEC JONÓW
METALI PRZEJŚCIOWYCH**

THE INFLUENCE OF DIFFERENT β-AMINO ACID
RESIDUES ON COORDINATING ABILITIES
OF PEPTIDES TOWARD TRANSITION METAL IONS

**Joanna Krzciuk-Gula¹, Patrycja Ledwoń^{1,2},
Agnieszka Staśkiewicz^{1,3}, Rafał Latajka^{1*}**

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

²*Katedra Neurologii, Psychologii, Badań nad Lekami i Zdrowiem Dziecka
- Sekcja Nauk Farmaceutycznych i Nutraceutywnych, Uniwersytet Florencki,
Via Ugo Schiff 6, 50019, Sesto Fiorentino, Włochy*

³*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

Wprowadzenie

1. Koordynacja jonów metali z β-aminokwasami
 2. Koordynacja jonów metali z peptydami
 - 2.1. Dipeptydy
 - 2.2. Tripeptydy
 - 2.3. Tripeptydy z koordynującym łańcuchem bocznym
 - 2.4. Tetrapeptydy i peptydy o dłuższych sekwencjach
 3. β-peptydy zawierające β-aminokwasy z koordynującym łańcuchem bocznym
 - 3.1. Wpływ obecności reszt β-histydyny i β-cysteiny na zdolności koordynacyjne peptydów
 - 3.2. Wpływ obecności reszty β-lizyny na zdolności koordynacyjne peptydów
 - 3.3. Wpływ obecności reszty β-asparagianinu na zdolności koordynacyjne peptydów
 4. Podsumowanie
- Uwagi końcowe
Piśmiennictwo cytowane
-

Dr inż. Joanna Krzciuk-Gula zrealizowała pracę doktorską na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem dr hab. Rafała Latajki, prof. uczelni i obroniła ją w 2016 roku. Jej badania naukowe dotyczyły syntezy i określenia preferencji konformacyjnych różnych grup peptydomimetyków. Aktualnie pracuje jako Project Development Specialist w Oskar Nolte GmbH w Bielefeld (Niemcy).



<https://orcid.org/0000-0002-0201-6773>

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 odbytych 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 hab. Rafał Latajka, prof. uczelni jest pracownikiem Katedry Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Pracę doktorską, realizowaną pod kierunkiem prof. 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

Peptidomimetics are different groups of compounds which are the modifications of natural occurring peptides – mostly in the sense of the structure. Due to these kind of changes, the new, modified systems are more stable and could act as a tool dedicated in specific biological activity. One of the most important and developed group of peptidomimetics are β -peptides.

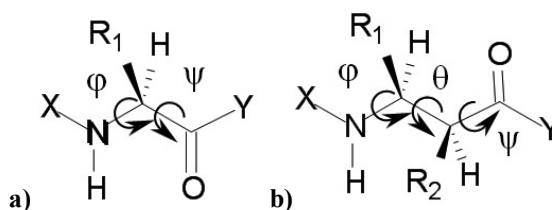
This review discusses the coordination ability of peptides containing β -amino acid residues incorporated into their sequence. Special attention is given to the importance of β Ala residue and metal binding affinity of transition metal ions, especially Cu^{2+} ion. The coordination process occurs analogously to peptides composed of α -amino acids. The complexes are usually formed initially by coordination of *N*-terminal amine group and subsequently, with increasing pH value, by deprotonation of amide bonds. The main difference can be observed in the stability and geometry of complexes. Namely, the stability constants of β -peptides are usually slightly lower than in the case of natural analogues. Furthermore, the review presents data according to coordination ability of peptides containing β -amino acids, such as: β Asp, β His, β Cys and β Lys. In spite of differences between standard peptides and their analogues, containing β -amino acid residues, there are no very important differences in the model of their coordination with the transition metal ions. However, the comparison of β -peptides and their natural counterparts reveals interesting features, which can be useful for more effective designing of new compounds possessing expected properties.

Keywords: β -peptide, coordination, transition metal ion

Słowa kluczowe: β -peptyd, koordynacja, jon metalu przejściowego

WPROWADZENIE

Jedną z najciekawszych grup peptydomimetyków stanowią β -peptydy. Są to analogi naturalnych α -peptydów, lecz główną różnicą między peptydami α - i β - jest lokalizacja grupy aminowej. W przypadku α -peptydów wspomniana grupa jest przyłączona do atomu węgla α , podczas gdy β -peptydy posiadają grupę aminową usytuowaną przy atomie węgla β . Włączenie β -aminokwasu do łańcucha peptydowego umożliwia tworzenie wielu nowych konformerów, które mogą być niezbędne w projektowaniu innowacyjnych leków. Przytoczone szczególne właściwości strukturalne są konsekwencją różnorodnej liczby kątów torsyjnych pomiędzy sąsiadującymi wiązaniami peptydowymi (**Rysunek 1**) [1-4].



Rysunek 1. Kąty torsyjne α - (a) i β -peptydów (b); X, Y: sekwencja peptydu; R₁, R₂: łańcuch boczny
Figure 1. Torsional angles of α - (a) and β -peptides (b); X, Y: sequence of the peptide; R₁, R₂: side chain

Okazuje się, iż struktury β -peptydów są często wykorzystywane jako środki farmaceutyczne [5, 6]. Spełniają one rolę odpowiednich konformacyjnie mimetyków naturalnych peptydów, ponieważ przyjmują struktury drugorzędowe podobne do układów peptydów α . Jednak w przeciwieństwie do naturalnych peptydów, β -peptydy nie są hydrolizowane przez większość enzymów proteolitycznych [7-9]. Jest to powód dla którego przytoczone związki chemiczne są stosowane m.in. jako antybiotyki [10-12], leki przeciwnowotworowe, przeciw wirusowi HIV [13] oraz środki umożliwiające wiązanie z łańcuchem DNA i RNA [6, 14].

Powszechnie wiadomo, iż peptydy posiadają zdolność do koordynowania jonów metali [15, 16]. Najczęściej stosowaną reakcją kompleksowania jest tworzenie 5- i 6-członowych pierścieni chelatowych. W owych układach jon metalu jest skoordynowany przez grupę aminową, atomy donorowe grupy karbonylowej, wiązanie peptydowe bądź atomy donorowe łańcucha bocznego. Zasadniczym miejscem wiązania uczestniczącego w tworzeniu kompleksu jest m.in. azot imidazolowy, siarka tiolowa oraz tlen karbonylowy. Wspomniane lokalizacje należą odpowiednio do reszt histydyny, cysteiny, asparaginy oraz kwasu glutaminowego [17, 18]. Przytoczone aminokwasy, zawierające wymienione wcześniej grupy funkcyjne, najczęściej są obecne w centrach aktywnych enzymów [19-21].

Występowanie jonu metalu w danym białku jest związane nie tylko z jego udziałem w katalizie, ale także odpowiada za stabilizację struktury drugorzędowej

wymaganej w niezbędnych funkcjach biologicznych [22, 23]. W przypadku preferencji koordynacyjnych, β -peptydy są doskonałymi ligandami, gdyż wykazują zdolność do tworzenia kompleksów z jonami metali, zwłaszcza z Cu^{2+} czy Zn^{2+} [22, 24, 25]. Połączenie zdolności koordynacyjnych jonów metali oraz odporności na aktywność enzymów metabolizujących, umożliwia zaprojektowanie serii najnowszej generacji związków chemicznych o potencjalnych aktywnościach farmaceutycznych. Przytoczone układy znajdują zastosowanie jako środki lecznicze w schorzeniach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera lub Parkinsona [26]. Dodatkowym argumentem jest fakt, iż β -peptydy mają znakomite warunki do tworzenia chelatów oraz przenoszenia jonów metali biorących udział w stanach patologicznych [27-29].

W literaturze naukowej można znaleźć głównie informacje dotyczące sposobów koordynacji naturalnych peptydów [16-19], struktur drugorzędowych utworzonych przez β -peptydy [1-3, 13, 30, 31] lub opisujących oddziaływania pomiędzy poszczególnymi jonami metali a strukturami peptydowymi [12, 13]. Aktualnie żaden z opublikowanych artykułów nie scharakteryzował specyficznego sposobu koordynacji zachodzącego między β -peptydami a jonami metali przejściowych. W niniejszej publikacji naszą uwagę chcielibyśmy skupić się na preferencjach koordynacyjnych β -peptydów i β -aminokwasów oraz sklasyfikować obecną wiedzę związaną z owym zagadnieniem. Może to być przydatne w celu projektowania aktywnych biologicznie związków chemicznych, szczególnie użytecznych w leczeniu chorób charakteryzujących się nieprawidłowym poziomem jonów metali przejściowych.

1. KOORDYNACJA JONÓW METALI Z β -AMINOKWASAMI

Jednym z najprostszych β -aminokwasów jest β Ala. Mane i współpracownicy badali stabilność wspomnianego aminokwasu w stosunku do jonów Mn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} oraz Ni^{2+} . W wyniku miareczkowania pH-metrycznego metodą Irvinga-Rossoti ustalono, że stabilność termodynamiczna kompleksów zawierających przytoczone jony metali wynosi odpowiednio: $\text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Mn}^{2+}$. Krzywe miareczkowania β Ala zawierają dwa niezależne etapy neutralizacji, związane z występowaniem grup $-\text{NH}_2$ i $-\text{COOH}$ podatnych na dysocjację [32].

Zdolności koordynacyjne β Ala względem Cu^{2+} były w centrum zainteresowań licznych grup badawczych [33-37]. Zespół Arkosi prowadził badania nad sposobem koordynacji kompleksów pojedynczych β -aminokwasów z jodem Cu^{2+} . Przeanalizowali oni serię β -podstawionych aminokwasów, gdzie $-\text{H}$, $-\text{Me}$, $-\text{Et}$, $-\text{iBu}$, $-\text{iPr}$, $-\text{cHex}$, $-\text{l-EtPr}$ oraz $-\text{tBu}$ stanowiły łańcuchy boczne. Prowadzone eksperymenty wykazały, iż kompleksy te występują w roztworze wodnym w postaci sześciu form: $[\text{CuLH}]^{2+}$, $[\text{CuL}]^+$, $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$, $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ w tym dwóch izomerów $[\text{CuL}_2]$. Ponadto, kompleks Cu^{2+} z β Ala występuje w charakterze $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ przy wartości pH wyższej niż 9,5. Forma $[\text{CuLH}]^{2+}$ przeważa w niskim

pH, w którym grupa aminowa jest uprotonowana. Tylko zdeprotonowana grupa karboksylowa uczestniczy w koordynacji Cu^{2+} . Pozostałe pozycje możliwe do koordynacji są oblegane przez cząsteczki wody, podczas gdy układ $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ tworzy się poprzez zajęcie sfery koordynacji grupy karboksylowej z kolejnego aminokwasu. Wraz ze wzrostem wartości pH, i w konsekwencji deprotonacją grupy aminowej, pojawiają się kompleksy typu $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ oraz $[\text{CuL}]^+$. Pierwsza przedstawiona forma składa się z dwóch grup karboksylowych i aminowych w pozycjach ekwatorialnych do jonu Cu^{2+} . Zaś drugi kompleks zbudowany jest z obu grup funkcyjnych jednej cząsteczki aminokwasu, tzn. grup $-\text{COOH}$ oraz $-\text{NH}_2$. Przy najwyższej wartości pH pojawił się kompleks $[\text{CuL}_2]$, składający się z dwóch cząsteczek liganda oraz grupy aminowej i karboksylowej przyjmując pozycję *trans* lub *cis*, gdzie izomer *cis* jest izomerem korzystniejszym [38]. Aby określić wpływ rodzaju łańcucha bocznego na zdolności koordynacyjne należy posłużyć się stałymi trwałości (Tabela 1) oraz efektami elektronowymi i sterycznymi [39, 40]. Autorzy dowiedli, iż obecność rozgałęzionych podstawników przyczynia się do faworyzowania powstawania zdeprotonowanych ligandów [38].

Tabela 1. Stałe trwałości dwóch najczęściej formowanych typów $[\text{CuL}]^+$ i *cis*- $[\text{CuL}_2]$ uzyskane z eksperymentu potencjometrycznego [38]

Table 1. Stability constants of two of the most common formed species $[\text{CuL}]^+$ and *cis*- $[\text{CuL}_2]$ obtained from potentiometry experiment [38]

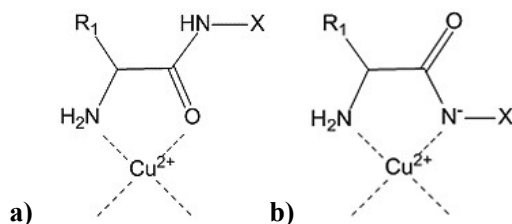
Łańcuch boczny β -aminokwasu	Wartość $\log\beta$ dla $[\text{CuL}]^+$	Wartość $\log\beta$ dla <i>cis</i> - $[\text{CuL}_2]$
-H	7,00(1)	12,51(1)
-Me	7,02(1)	12,80(2)
-Et	7,17(1)	13,14(1)
-iBu	7,12(1)	13,06(2)
-iPr	7,12(1)	13,09(1)
-cHex	7,33(1)	13,38(5)
-1-EtPr	7,23(5)	13,25(8)
-tBu	7,33(1)	13,22(2)

2. KOORDYNACJA JONÓW METALI Z PEPTYDAMI

2.1. DIPEPTYDY

Najczęściej spotykany sposób wiązania dwuwartościowych jonów metali przejściowych to tworzenie 5-członowych pierścieni chelatowych. Wiązanie odbywa się przez grupę aminową i tlen karbonylowy w sąsiedniej sferze koordynacji tworzenia wiązania peptydowego ($-\text{NH}_2$, $-\text{CO}$). Kolejnym

sposobem koordynacji jest wykorzystanie *N*-końcowej grupy aminowej w pozycji chelatującej z atomami donorowymi głównego łańcucha *N*-amidowego ($-\text{NH}_2$, N^-) (**Rysunek 2**). Zaprezentowana na poniższym rysunku geometria koordynacji jest charakterystyczna dla naturalnych dipeptydów [17, 19].



Rysunek 2. Podstawowe sfery koordynacji utworzone przez α -peptydy zawierające wolną *N*-końcową grupę aminową: **a)** (NH_2 , CO); **b)** (NH_2 , N^-); X : sekwencja peptydu

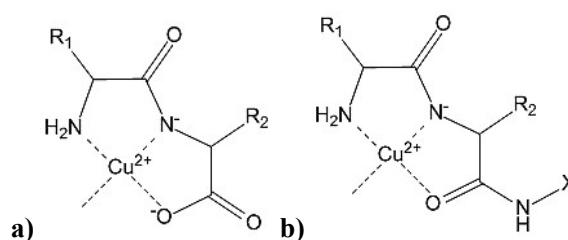
Figure 2. The basic coordination sites formed by α -peptides containing free *N*-terminal amine group: **a)** (NH_2 , CO); **b)** (NH_2 , N^-); X : sequence of the peptide

W porównaniu do naturalnych odpowiedników, wprowadzenie β -aminokwasów do sekwencji peptydowej przyczynia się do występowania różnorodnych rodzajów koordynacji [16, 19]. Obecność dodatkowego atomu węgla między wiązaniami amidowymi (lub/i aminowymi, grupą karbonylową) prowadzi do pojawienia się 6-członowych chelatów. Zasadniczo, ten rodzaj zamiany zmniejsza stabilność kompleksów ze względu na zwiększenie elastyczności struktury. Jest to szczególnie obserwowane, gdy liczba 6-członowych skondensowanych pierścieni rośnie [41, 42].

Stabilność ugrupowań zależy od pozycji reszty β -aminokwasowej w łańcuchu peptydowym. W celu ustalenia roli 6-członowych pierścieni chelatowych dla stabilności kompleksu, Sigel i wsp. zbadali układy - dipeptydy zawierające reszty Gly i β Ala w różnych kombinacjach: GlyGly, Gly β Ala, β AlaGly i β Ala β Ala w charakterze potencjalnych ligandów dla Cu^{2+} [43]. Jon miedzi(II) dzięki zdolności deprotonowania grupy $-\text{NH}_2$, wykazuje najlepsze właściwości koordynacyjne wiązania amidowego obecnego w peptydach spośród innych jonów metali przejściowych. Jest to rezultatem efektu chelatowego, zwykle zaczynającego się od zakotwiczenia jonu Cu^{2+} do bardziej kwasowej grupy, a następnie azotu amidowego, który może być zdeprotonowany oraz odporny w normalnych warunkach, ponieważ wartość $\text{pK} \sim 15$ [15].

Stabilność charakterystycznego dla dipeptydu kompleksu $[\text{CuH}_2\text{L}]$, ze sferą koordynacyjną (NH_2 , N^- , COO^-) utworzoną przez dwa skondensowane pierścienie chelatowe, została ustalona przez zespół badawczy kierowany przez Sigela

(Rysunek 3). W przypadku tego sposobu koordynacji stabilność układu się odpowiednio: $(5, 5) > (5, 6) > (6, 5) > (6, 6)$. Przedstawione dane ukazują włączenie 6-członowego pierścienia jako reszty β -aminokwasowej do układu koordynacji przyczyniając się do zmniejszenia stabilności chelatów [43]. Podobne cechy można zaobserwować w peptydach o dłuższym łańcuchu głównym, w których atomy $-\text{COO}^-$ grupy karboksylowej są zastąpione przez ugrupowanie karbonylowe należące do kolejnego wiązania amidowego. W tym przypadku stabilność przebiega następująco dla $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{CO})$: $(5, 6) \geq (5, 5) > (6, 5) > (6, 6)$ [42].



Rysunek 3. Sfera koordynacji: **a)** $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$; **b)** $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{CO})$; X: sekwencja α -peptydu
Figure 3. The coordination sites: **a)** $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$; **b)** $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{CO})$; X: sequence of the α -peptide

Stechiometria oraz grupy donorowe zaangażowane w koordynację dipeptydów: βAlaGly i $\text{Gly}\beta\text{Ala}$ z Cu^{2+} zostały określone przez Sovago i wsp. (Tabela 2). Układy GlyGly wykazują analogiczny sposób wiązania z naturalnym peptydem, lecz główna różnica opiera się na zastąpieniu pierścieni 5- pierścieniami 6-członowymi (βAla), co przyczynia się do zmian w stabilnościach kompleksów (Tabela 3). Kolejne różnice związane są z preferencjami formowania się kompleksu przy danej stechiometrii. Mianowicie, βAlaGly nie tworzy kompleksu typu $[\text{CuH}_{-1}\text{L}_2]$ w przeciwieństwie do GlyGly czy $\text{Gly}\beta\text{Ala}$. Dodatkowo, βAlaGly również nie preferuje tworzenia kompleksu $[\text{CuH}_2\text{L}_2]^{2-}$, podczas gdy dla $\text{Gly}\beta\text{Ala}$ omówione formy są bardziej stabilne niż w analogu GlyGly [44].

Tabela 2. Stechiometria oraz miejsca koordynacyjne dipeptydu GlyGly i jego analogów zawierających resztę βAla [44]
Table 2. Stoichiometry and coordination sites of dipeptide GlyGly and its analogues containing βAla residue [44].

Peptyd	Stechiometria	Sfery koordynacyjne	pH
Gly β Ala	$[\text{Cu}(\text{HL})_2]^{2+}$	2(COO ⁻)	3,5
	$[\text{CuL}]^+$	(NH ₂ , CO)	4,7
	$[\text{CuH}_1\text{L}]$	(NH ₂ , N ⁻ , COO ⁻)	6,9
	$[\text{CuH}_2\text{L}]^-$	(NH ₂ , N ⁻ , COO ⁻)(OH ⁻)	11,1

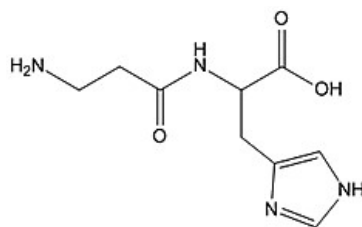
	$[\text{CuH}_1\text{L}_2]^-$	$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{NH}_2, \text{CO})$	11,7
	$[\text{CuH}_2\text{L}_2]^{2-}$	$2(\text{NH}_2, \text{N}^-)$	13,1
βAlaGly	$[\text{Cu}(\text{HL})_2]^{2+}$	$2(\text{COO}^-)$	4,8
	$[\text{CuL}]^+$	(NH_2, CO)	5,4
	$[\text{CuH}_1\text{L}]$	$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$	8,9
	$[\text{CuH}_2\text{L}]^-$	$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{OH}^-)$	11,4
	$[\text{CuH}_1\text{L}_2]^-$	$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{NH}_2)$	10,9
	GlyGly	$[\text{Cu}(\text{HL})_2]^{2+}$	$2(\text{COO}^-)$
$[\text{CuL}]^+$		(NH_2, CO)	4,1
$[\text{CuHL}_2]^+$		$(\text{NH}_2, \text{CO})(\text{COO}^-)$	4,2
$[\text{CuH}_1\text{L}]$		$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$	6,9
$[\text{Cu}(\text{H}_1\text{L})(\text{HL})]$		$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{COO}^-)$	5,5
$[\text{CuH}_2\text{L}]^-$		$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{OH}^-)$	10,3
$[\text{CuH}_1\text{L}_2]^-$		$(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{NH}_2, \text{CO})$	8,6
$[\text{CuH}_2\text{L}_2]^{2-}$		$2(\text{NH}_2, \text{N}^-)$	13,2
$[\text{CuH}_3\text{L}]^{2-}$		$(\text{NH}_2, \text{N}^-)2(\text{OH}^-)$	12,9

Poniższe wartości stałych trwałości wskazują stabilność na poziomie: $(5, 5) > (6, 5) > (5, 6)$ w przeciwieństwie do wyników uzyskanych przez Sigela i wsp. [43].

Tabela 3. Stałe stałości dla $[\text{CuH}_1\text{L}]$ dipeptydów zawierających reszty Gly i βAla [44]
Table 3. Stability constants for $[\text{CuH}_1\text{L}]$ species of dipeptides containing Gly and βAla residues [44]

Peptyd	$\log\beta$
GlyGly	1,33
βAlaGly	1,21
Gly βAla	0,91

Kolejnym interesującym przykładem jest karnozyna (**Rysunek 4**) – naturalnie występujący β -dipeptyd, zbudowany z β -alaniny i histydyny. Wspomniany związek chemiczny bierze udział w wielu procesach biologicznych żywych organizmów, m.in. buforowaniu pH, reakcji przeciwutlenienia oraz regulacji receptorów i enzymów [45, 46]. Ponadto, posiada tendencję do tworzenia kompleksów z jonami metali przejściowych, głównie z Cu^{2+} jak również Zn^{2+} . Dodatkowo, karnozyna wykazuje mniejszą zdolności koordynacyjnej niż AlaHis czy His [47, 48].



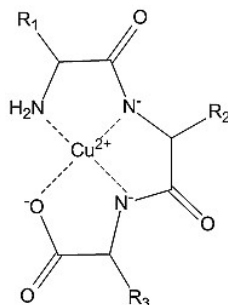
Rysunek 4. Struktura karnozyny
Figure 4. Structure of carnosine

W przypadku kompleksów z Cu^{2+} formy kompleksowe obecne w roztworze występują w postaci monomerów, dimerów oraz trimerów. Przy wartości $\text{pH} > 6,7$ peptyd posiada predyspozycję do tworzenia kompleksów dimerycznych. Uzyskane wyniki wskazują, że w zakresie fizjologicznego pH cząsteczka występuje w trzech różnych formach. Jeden z układów tworzy się przy nadmiarze liganda i obejmuje grupę aminową, zdeprotonowany azot amidowy, grupę karboksylową oraz azot z pierścienia imidazolowego należącego do drugiego liganda [49, 50].

Ponadto karnozyna tworzy nie tylko kompleksy z Cu^{2+} czy Zn^{2+} , lecz również z innymi jonami metali, takimi jak Cd^{2+} , Mn^{2+} i Co^{2+} . Na podstawie stałych trwałości można wysunąć wnioski, iż istnienie zaprezentowanych struktur w organizmach żywych jest niemożliwe [50]. Jon Zn^{2+} indukuje deprotonację *N*-końcowej grupy aminowej i azotu pochodzącego od wiązania peptydowego. Utworzenie kompleksów $[\text{ZnHL}]^+$ jak i $[\text{ZnL}]$ zachodzi głównie przy wartości pH mniejszej niż 7,5. Z kolei przy wyższych wartościach pH następuje proces wytrącania. Co istotne, jon Zn^{2+} posiada zdolności do tworzenia kompleksów *bis*(ligandów), a także form oligomerycznych [49]. Badano również związki kompleksowe z Hg^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Pt^{2+} oraz Ag^+ [51-53], jednak układy z Cu^{2+} zostały przebadane najdokładniej [53].

2.2. TRIPEPTYDY

Przeważającą różnorodność struktur obserwuje się dla tripeptydów, w których atomy azotu kolejnych wiązań peptydowych i *C*-końcowa grupa karboksylowa znajdują się w pozycji chelatującej z *N*-końcową grupą aminową. Zaangażowanie innej „kotwicy” przyczynia się do występowania różnych metod wiązań kompleksów (NH_2 , 2N^- , COO^-) (Rysunek 5), a w konsekwencji do wzrostu stabilności [17].



Rysunek 5. Miejsca koordynacji: (NH₂, 2N⁻, COO⁻); R₁, R₂, R₃: łańcuch boczny
 Figure 5. The coordination sites: (NH₂, 2N⁻, COO⁻); R₁, R₂, R₃: side chain

Peptydy zawierające w swojej sekwencji minimum trzy reszty aminokwasowe na ogół występują w postaci kompleksów z Cu²⁺ w geometrii kwadratowo-płaskiej. Mechanizm sposobu koordynacji opiera się na otoczeniu jonu przez łańcuch peptydowy i nasyceniu czterech ekwatorialnych miejsc wiązania, tworząc 5-członowe pierścienie odpowiadające odległości między sąsiednimi wiązaniami amidowymi w α -peptydach [15-19].

Grupa badawcza kierowana przez Sanna udowodniła znaczenie 6-członowych pierścieni chelatowych wraz z ich ilością w sekwencji dla stabilności kompleksów. Zbadali oni serię tripeptydów zawierających β Ala w różnych pozycjach oraz ich kompleksy z Cu²⁺ (**Tabela 4**) [42].

Zasadniczo, peptydy w charakterze kompleksów z jonami metali występują głównie w postaci: [CuL]⁺, [CuL₂], [CuH₁L], [CuH₂L] i [CuH₁L₂] (**Tabela 4**). Stechiometrie kompleksów są porównywalne do form utworzonych przez peptydy zawierające trzy reszty Gly. Wyjątek stanowią łańcuchy zawierające β Ala w pozycji *N*-końcowej. Owa lokalizacja reszty β -aminokwasowej praktycznie wyklucza tworzenie *bis*(ligandów). Natomiast w przypadku monoligandów stała trwałości formy [CuL]⁺ utworzona przez *N*-końcową Gly i β Ala jest zbliżona [42].

Tabela 4. Sfery koordynacyjne β -tripeptydów [42]
 Table 4. Coordination sites of β -tripeptides [42]

Typ kompleksu	Grupy zawierające atom donorowy
[CuL] ⁺	(NH ₂ , CO)
[CuL ₂]	2(NH ₂ , CO)
[CuH ₁ L]	(NH ₂ , N ⁻ , CO)
[CuH ₁ L ₂] ⁻	(NH ₂ , N ⁻ , CO)(NH ₂ , CO)
[CuH ₂ L] ⁻	(NH ₂ , 2N ⁻ , COO ⁻)

W przypadku kompleksów $[\text{CuL}_2]$ oraz $[\text{CuH}_{1\text{L}}]$ jak i peptydów zawierających βAla w pierwszej pozycji, wykazują one niższą stabilność dzięki utworzeniu 6-członowych pierścieni. Spowodowane jest to przeważającą preferencją chelatów do tworzenia pierścieni 5-członowych. Dodatkowo, związane jest to ze zwiększoną planarnością pierścieni 5- niż 6-członowych. Jednakże chelatacja typu $[\text{CuH}_{1\text{L}}]$ dominuje nawet przy nadmiarze peptydów. Tworzenie *bis*(ligandów) przez peptydy z resztą βAla umiejscowioną w pozycji *N*-końcowej jest niekorzystne oraz wymaga przejściowego zakresu wartości pH [42].

Tabela 5. Stała trwałości kompleksów z jonami Cu^{2+} ($\log\beta$), $\text{pK}(\text{NH}_3^+)$ i $\text{pK}(\text{COOH})$ dla $[\text{CuH}_2\text{L}]$ tripeptydów zawierających reszty Gly i βAla [42]

Table 5. Stability constant of complexes with Cu^{2+} ion ($\log\beta$), $\text{pK}(\text{NH}_3^+)$ and $\text{pK}(\text{COOH})$ values for $[\text{CuH}_2\text{L}]$ species of tripeptides containing Gly and βAla residues [42]

Peptyd	$\log\beta$	$\text{pK}(\text{NH}_3^+)$	$\text{pK}(\text{COOH})$	$\log K_{-2}$
$\beta\text{AlaGlyGly}$	-5,79	9,29	3,26	-15,08
$\beta\text{AlaGly}\beta\text{Ala}$	-6,34	9,29	4,11	-15,63
$\beta\text{Ala}\beta\text{Ala}\beta\text{Ala}$	-	9,33	4,09	-
$\text{Gly}\beta\text{AlaGly}$	-5,51	8,06	3,36	-13,57
$\text{Gly}\beta\text{Ala}\beta\text{Ala}$	-8,37	8,12	4,09	-16,49
$\text{GlyGly}\beta\text{Ala}$	-6,24	7,93	4,09	-14,17
GlyGlyGly	-7,02	7,93	3,32	-14,95

Uzupełnienie omówionych badań stanowią wartości stałych protonacji, przedstawione w **Tabeli 5**. Mianowicie, wskazują one na zwiększoną zasadowość grupy aminowej jak i zmniejszoną kwasowość grupy karboksylowej dla peptydów zawierających βAla odpowiednio w pozycjach *N*- i *C*-końcowych. Wprowadzenie βAla wewnątrz sekwencji nie wykazuje znaczącego wpływu na deprotonację amidowego azotu w łańcuchu peptydowym [42].

Badania kompleksów $[\text{CuH}_2\text{L}]^-$ utworzonych przez tripeptydy pozwoliły na otrzymanie wartości stabilności ($\log K_{-2}$) na poziomie: $(5, 6, 5) > (5, 5, 6) > (5, 5, 5) > (6, 5, 5) > (6, 5, 6) > (5, 6, 6) > (6, 6, 6)$ dla miejsca koordynacji (NH_2 , 2N^- , COO^-). Warto zaznaczyć, że tylko w przypadku $\beta\text{Ala}\beta\text{Ala}\beta\text{Ala}$ występowanie wodorotlenków spowodowało trudności w określeniu $\log K_{-2}$ dla formy $[\text{CuH}_2\text{L}]^-$. Odpowiednie stałe trwałości dla kompleksów utworzonych przez poszczególne peptydy przedstawiono w **Tabeli 5**. Zaprezentowana kolejność potwierdza destabilizujący efekt wprowadzenia βAla , a w konsekwencji obecność 6-członowego pierścienia w pozycji *N*-końcowej [42].

Na uwagę zasługują dane otrzymane dla peptydów z resztą β -aminokwasową na drugiej i trzeciej pozycji w sekwencji peptydowej. Obecność 6-członowego pierścienia chelatowego w układach $(5, 6, 5)$ oraz $(5, 5, 6)$ odpowiednio zwiększa

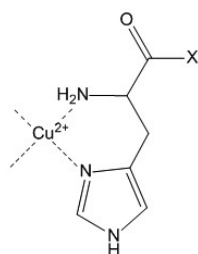
ich stabilność. Prawdopodobnie związane jest to z geometrią kompleksów. Otóż obecność 5-członowych pierścieni przyczynia się do powstawania bardziej napiętych struktur niż ich analogi zawierające 6-członowe pierścienie w wyżej wymienionych układach [42].

Kolejnym interesującym zagadnieniem jest wpływ wielkości pierścienia w pozycji C-końcowej na stabilność kompleksu z jonem Cu^{2+} . Hanaki i in. przedstawili badania dotyczące roli wielkości podstawionego trzeciego skondensowanego pierścienia do sekwencji GlyGlyX. Wyniki potwierdzają, że peptyd zawierający β Ala na trzeciej pozycji jest bardziej stabilny niż analog z Gly tworzący (5, 5, 5)-członowy pierścień. Najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem tego zjawiska jest utworzenie zrelaksowanej struktury kompleksu przez (5, 5, 6)-członowe pierścienie niż z pierścieniami (5, 5, 5)-członowymi [38]. Ogólne zestawienie to: (5, 5, 6) > (5, 5, 5) > (5, 5, 7) > (5, 5, 8) > (5, 5, 9) dla kompleksu $[\text{CuH}_2\text{L}]$ (ładunek został pominięty przez autorów) ze stałą trwałości $\log\beta$ równą odpowiednio: -6,0 > -6,7 > -7,9 > -8,8 > -8,9 [54, 55].

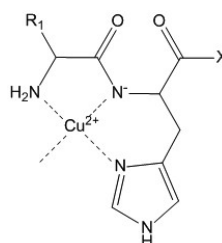
2.3. TRIPEPTYDY Z KOORDYNUJĄCYM ŁAŃCUCHEM BOCZNYM

Właściwości formowanych kompleksów zmieniają się, gdy dodatkowe miejsce koordynujące, np. reszta aminokwasowa z łańcuchem bocznym, zostaje wprowadzone do sekwencji peptydu. Jednym z najlepiej koordynujących fragmentów jest pierścień imidazolowy histydyny. Reszta ta powoduje pojawienie się 6-członowego pierścienia chelatującego z udziałem donora w postaci δ -azotu z pierścienia imidazolowego (**Rysunek 6**), co w konsekwencji podwyższa stabilność kompleksu [16].

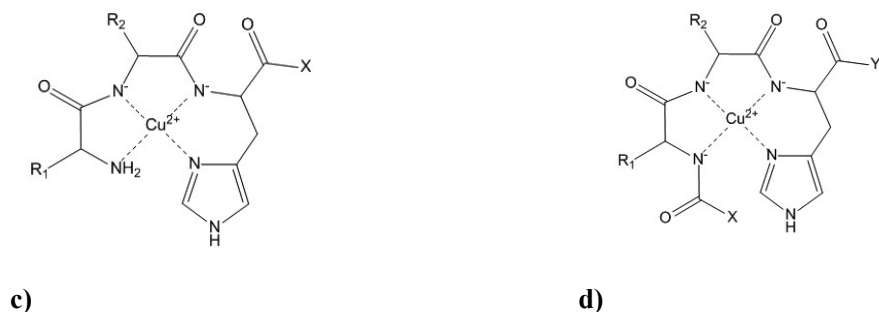
W przypadku β -peptydów, obecność β -aminokwasu przyczynia się do powstania innego, 6-członowego pierścienia chelatującego jon metalu - zjawisko to opisano w pracy Nagaj i in. Przebadano w niej grupę tripeptydów zawierających reszty alaniny (i/lub β -alaninę) oraz histydyny na ostatniej pozycji w łańcuchu (**Tabela 6**), które kompleksowały Cu^{2+} . Każdy z peptydów zawierał amidowy C-końiec sekwencji [25].



a)



b)



Rysunek 6. Podstawowe sposoby koordynacji przez pierścień imidazolowy histydyny: **a)** (NH_2 , N_{im}) - His na pierwszej pozycji; **b)** (NH_2 , N^- , N_{im}) - His na drugiej pozycji; **c)** (NH_2 , 2N^- , N_{im}) - His na trzeciej pozycji; **d)** (4N^- , N_{im}) - His w środku łańcucha peptydowego; $\text{R}_{1,2}$: łańcuchy boczne; X , Y : pozostałe reszty aminokwasowe

Figure 6. Basic coordination modes with imidazole ring of His: **a)** (NH_2 , N_{im}) - His at first position; **b)** (NH_2 , N^- , N_{im}) - His at second position; **c)** (NH_2 , 2N^- , N_{im}) - His at third position; **d)** (4N^- , N_{im}) - His in the middle of peptide chain; $\text{R}_{1,2}$: side chain; X , Y : sequence of the peptide

W głównej mierze peptydy zawierające reszty histydylowe na trzeciej pozycji formują znane kompleksy $[\text{CuH}_2\text{L}]$ z miejscami koordynującymi NH_2 , 2N^- , N_{im} i chelatowanym jonem Cu^{2+} (**Rysunek 6c**) [16, 19, 56]. W naturalnych peptydach Ala-Ala-His-amid, gdzie „amid” oznacza amidowy C -koniec łańcucha, ten sposób koordynacji obserwowany jest już od wartości pH równej 4 i powoduje wiązanie jonów obecnych w roztworze [25].

Tabela 6. Zlogarytmowane skumulowane stałe trwałości kompleksów z jonami miedzi(II) ($\log\beta$) dla ugrupowania $[\text{CuH}_2\text{L}]$ obecnego w tetrapeptydach zawierających reszty alaniny i/lub β -alaniny na dwóch pierwszych pozycjach i histydyny na trzeciej pozycji w łańcuchu peptydowym [25]

Table 6. Logarithmized cumulative stability constant of complexes with Cu^{2+} ion ($\log\beta$) for $[\text{CuH}_2\text{L}]$ species of tripeptides containing Ala and/or β Ala residues at first two positions and His residue at third position [25]

Peptyd	$\log\beta$
AlaAlaHis-amid	-0,53
β -AlaAlaHis-amid	-2,68
Ala- β -AlaHis-amid	-4,86
β -Ala- β -AlaHis-amid	-8,60

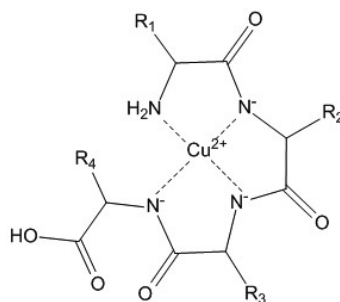
Położenie β -alaniny w pierwszej pozycji w łańcuchu generuje formowanie się kompleksu $[\text{CuL}]$ około wartości pH równej 5, w którym atomy azotu z NH_2 , N^- pełnią funkcje donora i uczestniczą w koordynacji jonu metalu. W konsekwencji powstaje 6-członowy pierścień chelatujący na N -końcu łańcucha.

Kompleks z $[\text{CuH}_2\text{L}]$ powstaje przy wartości pH około 6. Większe zróżnicowanie obserwuje się w przypadku Ala- β Ala-His-amid. W tym wypadku formują się niewielkie ilości trzech różnych kompleksów w pH od 3 do 7: $[\text{CuHL}]$, $[\text{CuL}]$ i $[\text{CuH}_1\text{L}]$, charakterystyczne dla koordynujących atomów 1N, 2N i 3N. Dominujący kompleks $[\text{CuH}_2\text{L}]$ obecny jest w roztworze przy wartości pH około 6. Najmniejsza ilość tego kompleksu w porównaniu do poprzednich peptydów opisanych przez Nagaj formuje się przy udziale peptydu zawierającego dwie reszty β -alaniny. Zaczyna on powstawać w pH=8, ale przy niższych wartościach daje się zaobserwować dość znaczącą ilość innych kompleksów, zwłaszcza $[\text{CuL}]$ około pH=7.

Podsumowując, bazując na stabilności kompleksu $[\text{CuH}_2\text{L}]$, można uszeregować rolę rozmiaru pierścienia chelatującego zaangażowanego w koordynację: $(5, 5, 6) > (6, 5, 6) > (5, 6, 6) \gg (6, 6, 6)$ [25].

2.4. TETRAPEPTYDY I PEPTYDY O DŁUŻSZYCH SEKWENCJACH

W przypadku tetrapeptydów i peptydów z wydłużonym łańcuchem głównym, dodatkowe wiązanie amidowe współuczestniczy w koordynacji. Obecność tychże atomów donorowych pozwala na otrzymanie nowych form, takich jak $(\text{NH}_2, 3\text{N}^-)$ (**Rysunek 7**) czy $(\text{NH}_2, 2\text{N}^-, \text{CO})$, gdzie amidowy atom azotu zamieniony zostaje na karbonylowy atom tlenu z trzeciego wiązania amidowego [17].



Rysunek 7. Miejsca koordynacji: $(\text{NH}_2, 3\text{N}^-)$; $\text{R}_{1,2,3,4}$: łańcuch peptydowy
Figure 7. The coordination sites: $(\text{NH}_2, 3\text{N}^-)$; $\text{R}_{1,2,3,4}$: peptide sequence

Obecność reszty β -alaniny w strukturze tetrapeptydów niesie za sobą podobne konsekwencje jak w przypadku tripeptydów. Sanna i wsp. również przebadali zestaw tetrapeptydów zawierających resztę β Ala wprowadzoną w różnych pozycjach w sekwencji tetraglicyny (**Tabela 7**). Uzyskane rezultaty okazały się być podobne do tych otrzymanych w przypadku tripeptydów. Widoczne są m.in. analogiczne sposoby koordynacji ($[\text{CuL}]^+$, $[\text{CuL}_2]$, $[\text{CuH}_1\text{L}]$, $[\text{CuH}_2\text{L}]^-$ czy

[CuH₁L₂]), ale w przypadku dłuższych łańcuchów występuje dodatkowo [CuH₃L]²⁻ ze względu na obecność atomu donorowego w kolejnym wiązaniu peptydowym. W strukturę tę zaangażowane są cztery atomy azotu: jeden aminowy i trzy amidowe [42].

Tabela 7. Strefy koordynacyjne β-tetrapeptydów [42]
Table 7. Coordination sites of β-tetrapeptides [42]

Koordynacja	Atomy donorowe
[CuL] ⁺	(NH ₂ , CO)
[CuL ₂]	2(NH ₂ , CO)
[CuH ₁ L]	(NH ₂ , N ⁻ , CO)
[CuH ₁ L ₂] ⁻	(NH ₂ , N ⁻ , CO)(NH ₂ , CO)
[CuH ₂ L] ⁻	(NH ₂ , N ⁻ , N ⁻ , CO)
[CuH ₃ L] ²⁻	(NH ₂ , N ⁻ , N ⁻ , N ⁻)

Dla przedstawionych sposobów koordynacji wyznaczono szereg uporządkowany wedle rosnącej stabilności kompleksu, zależnej od pozycji pierścieni 6-członowych w chelatach: (5, 5, 5) ≥ (5, 6, 5) >> (5, 5, 6) > (6, 5, 5), na podstawie wartości logK₃ dla trzeciego wiązania peptydowego (**Tabela 8**).

Drugim zaproponowanym szeregiem właściwym dla koordynacji [CuH₂L]⁻ jest: (5, 5, 6) ≥ (5, 5, 5) ~ (5, 6, 5) > (6, 5, 5). W tym przypadku, zmiany w stabilności kompleksu związane są z rodzajem atomu w trzecim wiązaniu amidowym biorącym udział w formowaniu kompleksu. Strefy koordynacji to odpowiednio (NH₂, 3N⁻) oraz (NH₂, 2N⁻, CO) dla [CuH₃L]²⁻ i [CuH₂L]⁻ [42]. Na podstawie porównania kolejności stabilności tych dwóch typów koordynacji można zauważyć, że najniższą stabilność kompleksów wykazują układy formowane przez peptydy z resztą β-alaniny w pierwszej pozycji. Opisany efekt związany jest z deprotonacją pierwszych dwóch amidowych atomów azotu [42]. Wprowadzenie reszty βAla w trzeciej pozycji powoduje wzrost wartości pK₃ i destabilizuje (5, 5, 6)-członowe chelaty [CuH₃L]²⁻ [42].

Tabela 8. Stałe trwałości kompleksów tetrapeptydów zawierających reszty Gly i βAla z jodem Cu²⁺ (logβ) dla [CuH₂L]⁻ oraz [CuH₃L]²⁻ [42]
Table 8. Stability constant of complexes with Cu²⁺ ion (logβ) for [CuH₂L]⁻ and [CuH₃L]²⁻ species of tetrapeptides containing Gly and βAla residues [42]

Peptyd	logβ [CuH ₂ L] ⁻	logβ [CuH ₃ L] ²⁻	logK ₃
βAlaGlyGlyGly	-8,63	-17,92	-27,20
GlyβAlaGlyGly	-7,33	-16,54	-24,59
GlyGlyβAlaGly	-7,39	-17,98	-25,94
GlyGlyGlyβAla	-7,43	-16,40	-24,38

Co istotne, z danych przedstawionych w **Tabeli 8** można wywnioskować, że większe wartości stałych trwałości odnoszą się do $[\text{CuH}_2\text{L}]^-$. Wytlumaczeniem tego zjawiska jest geometria kompleksu, a zwłaszcza rodzaj atomów biorących udział w formowaniu strefy koordynacji. W przypadku $[\text{CuH}_2\text{L}]^-$ ostatnie miejsce koordynacji zajęte jest przez atom tlenu z trzeciego wiązania amidowego, w związku z czym nie ma konieczności deprotonacji. Dla $[\text{CuH}_3\text{L}]^{2-}$ miejsce to zajmuje atom azotu z tego samego wiązania amidowego. Co za tym idzie, kompleksy te formują się łatwiej w wyższych wartościach pH środowiska [42].

Kolejnym przykładem modyfikacji łańcucha peptydowego jest wprowadzenie reszty β -alaniny do sekwencji (β XaaHisGlyHis), zdolnej do koordynowania jonów Cu^{2+} . Brasuń i współpracownicy zwrócili uwagę na różnice w zdolnościach koordynacyjnych pomiędzy dwoma peptydami: zawierającym acetylową grupę ochronną na *N*-końcu (Ac) i tym, który ma wolny *N*-koniec łańcucha (**Tabela 9**). Peptydy te występują jako kompleksy z Cu^{2+} w następujących koordynacjach: $[\text{CuL}]$, $[\text{CuH}_1\text{L}]$ (w niewielkiej ilości), $[\text{CuH}_2\text{L}]$ oraz $[\text{CuH}_3\text{L}]$.

Wraz ze wzrostem wartości pH, obserwuje się zmianę sposobu koordynacji z uwagi na zjawisko deprotonacji. W przypadku Ac- β AlaHisGlyHis widoczne jest występowanie innych form. W pH około 5 powstaje niewielka ilość kompleksu $[\text{CuHL}]$ z udziałem donora w postaci imidazolowego atomu azotu. Przy wyższej wartości pH, od 4,5 do 6,5, dominującą formą jest $[\text{CuL}]$, gdzie imidazolowe atomy azotu z reszt His formują kompleks o płaskiej geometrii. Kompleksy $[\text{CuH}_1\text{L}]$ występują najliczniej w pH około 6,9, powstając w wyniku deprotonacji azotu amidowego. Deprotonacja kolejnego atomu azotu powoduje powstawanie głównie typu $[\text{CuH}_2\text{L}]$ ze strefą koordynacji (2N^+ , 2N_{im}^-) w pH z przedziału 7,0-9,8. Pojawienie się ostatniego typu koordynacji ($[\text{CuH}_3\text{L}]$) w pH wyższym niż 10, związane jest z oddysocjowaniem protonu z kolejnego wiązania amidowego. Strefa koordynacji to (3N^+ , 2N_{im}^-), co prawdopodobnie prowadzi do kształtu bipyramidy kwadratowej [57].

Tabela 9. Sposoby koordynacji i stałe trwałości kompleksów ($\log\beta$) dla tetrapeptydów X- β AlaHisGlyHis, gdzie X: -H lub -Ac [57]

Table 9. Coordination modes and stability constants ($\log\beta$) for X- β AlaHisGlyHis tetrapeptides, where X: -H or -Ac [57]

Peptyd	Dominujący typ	Strefa koordynacji	Zakres pH	Stała trwałości
Ac- β AlaHisGlyHis	$[\text{CuH}_2\text{L}]$	(2N^+ , 2N_{im}^-)	6,5-9,5	-7,10
β AlaHisGlyHis	$[\text{CuH}_1\text{L}]$	(NH_2 , 2N_{im}^- , N^+)	6,5-8,5	3,12

Peptydy z wolnym *N*-końcem wykazują sposoby koordynacji analogiczne do peptydu GlyHisGlyHis (**Tabela 10**) [58]. Peptyd β AlaHisGlyHis rozpoczyna

formowanie kompleksu od typu $[\text{CuH}_2\text{L}]$ i nie formuje żadnych *bi*-kompleksów [57].

Tabela 10. Typy koordynacji peptydu $\beta\text{AlaHisGlyHis}$ [57, 58]

Table 10. Coordination modes of $\beta\text{AlaHisGlyHis}$ [57, 58]

Typ koordynacji	Grupy zawierające atom donorowy
$[\text{CuH}_2\text{L}]$	(N_{im})
$[\text{CuHL}]$	$(\text{NH}_2, \text{CO}, \text{N}_{\text{im}})$
$[\text{CuL}]$	$(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{im}}, \text{N}')$
$[\text{CuH}_1\text{L}]$	$(\text{NH}_2, 2\text{N}_{\text{im}}, \text{N}')$
$[\text{CuH}_2\text{L}]$	$(\text{NH}_2, 2\text{N}_{\text{im}}, 2\text{N}')$

Innym interesującym zagadnieniem jest wbudowanie reszty β -alaniny w fragmenty białka prionowego PrP:

- PrP(92-96) - GGGTHSQW, reszty aminokwasowe 92-99,
- PrP(106-115) - KTNMKHMAGA, reszty aminokwasowe 106-115.

Rivillas-Acevedo i wsp. ocenili wpływ obecności dodatkowej grupy metylowej w łańcuchu bocznym peptydów oraz rozmiarów pierścienia chelatującego na zdolności koordynacyjne jonu miedzi(II). Przebadali oni właściwości koordynacyjne następujących β -peptydów: $\text{GG}\beta\text{ATHSQW}$, $\text{GGG}\beta\text{ATHSQW}$, $\text{GG}\beta\text{A}\beta\text{ATHSQW}$ i $\text{KTN}\beta\text{AKHMAGA}$ względem Cu^{2+} . W przypadku naturalnego PrP(92-96), pierścień imidazolowy histydyny i trzy poprzedzające atomy azotu z wiązań amidowych były zaangażowane w formowanie kompleksu. Powstał rodzaj koordynacji $(3\text{N}', \text{N}_{\text{im}})$ z $(5, 5, 6)$ -pierścieniami chelatującymi. Wprowadzenie do struktury β -analogów jednej lub dwóch reszt β -alaniny powoduje zmiany w koordynacji głównie w obrębie atomów $(\text{N}_{\text{im}}, \text{O}, \text{N}', \text{O})$ i formowanie $(7, 7, 5)$ -pierścieni chelatujących. Tym sposobem, pierścień imidazolowy i trzy wiązania peptydowe są zaangażowane w koordynację jonu Cu^{2+} . Obecność β -alaniny w sekwencji PrP(106-115) nie powoduje natomiast drastycznych zmian w strukturze. Podobnie jak w przypadku naturalnego wzorca, peptyd formuje kompleksy z udziałem atomów $(\text{N}_{\text{im}}, 4\text{N})$ w strefie koordynacyjnej, ale najczęściej skierowane są one w stronę C-końca łańcucha [59].

3. β -PEPTYDY ZAWIERAJĄCE β -AMINOKWASY Z KOORDYNUJACYM ŁAŃCUCHEM BOCZNYM

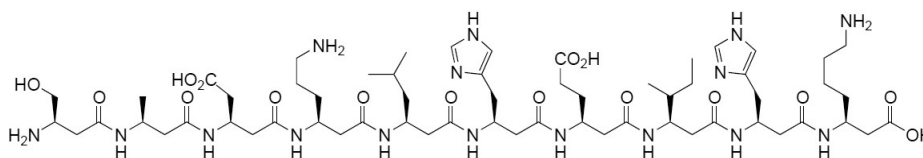
Innym ważnym aspektem chemii koordynacyjnej jest charakter łańcuchów bocznych w strukturach peptydów. Rozgałęzione, hydrofobowe reszty mogą wywierać negatywny wpływ na stabilność termodynamiczną kompleksów. Reszta prolina, ze względu na obecność aminy drugorzędowej w swojej strukturze i brak

możliwości deprotonacji, zachowuje się jak *breakpoint* dla tworzenia kompleksów przez wiązanie amidowe [18, 19]. Największe znaczenie dla zdolności koordynacyjnych wykazują jednak grupy hydrofilowe łańcuchów bocznych, a zwłaszcza polarne fragmenty histydyny, cysteiny, kwasów asparaginowego i glutaminowego. Najsilniejsze zdolności koordynowania jonów metali ma imidazolowy atom azotu w reszcie His, w związku z czym ten aminokwas spotykany jest najczęściej w otoczeniu koordynacyjnym centrum aktywnego metaloenzymów. Dodatkowy wpływ na koordynację wykazują grupy funkcyjne innych reszt aminokwasowych, takich jak tiolowa w cysteinie, amidowa w asparaginie i glutaminie, hydroksylowa w serynie, treoninie i tyrozynie, tioeterowa w metioninie, aminowa w lizynie czy guanidynowa w argininie. Na formowanie kompleksów z ich udziałem znaczący wpływ ma pH środowiska.

Liczność i różnorodność aminokwasów skutkują ważnymi zmianami we właściwościach koordynacyjnych peptydów, podczas gdy sama sekwencja łańcucha może być zmieniana. Zależność tą obserwuje się także dla hydrofobowych, niekoordynujących reszt, np. Ala, Val, Ile, Leu, Phe czy Trp [18].

3.1. WPLYW OBECNOŚCI RESZT β -HISTYDYNY I β -CYSTEINY NA ZDOLNOŚCI KOORDYNACYJNE PEPTYDÓW

Rola obecności β His w dłuższych łańcuchach peptydowych była badana przez Rossiego i współautorów. Sprawdzili oni wpływ wprowadzenia β -analogów aminokwasów na stabilizację struktury drugorzędowej β -dekapeptydów (**Rysunek 8**). Wyniki pokazały stabilność 3_{14} -helikalnej struktury zarówno w neutralnym, jak i zasadowym środowisku, gdzie Zn^{2+} był kompleksowany przez dwa pierścienie imidazolowe [22, 60]. Reszty β His zostały wstawione na 6. (*i*) oraz 9. (*i*+3) pozycji [22]. Zbliżone właściwości strukturalne są również charakterystyczne dla naturalnych peptydów, gdzie reszta His obecna jest w pozycjach *i* oraz *i*+4, a struktura stabilizowana jest dzięki helikalnej konformacji przy udziale jonów Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} i Ni^{2+} [61].



Rysunek 8. Sekwencja β -dekapeptydu zawierającego resztę β -histydyny

Figure 8. Sequence of β -decapeptide containing β -histidine residue

Kolejne peptydy, które wzięto pod uwagę, zawierały reszty β His i β Cys odpowiednio w pierwszej i ostatniej pozycji w łańcuchu. Częsteczki te zawierały dimeryczny fragment: $(S)\text{-}\beta^2\text{hVal-}\beta^3\text{hLys}$, odpowiedzialny za indukowanie konformacji podobnej do β_{II} -skrętu, charakterystycznego dla α -peptydów; ma on również możliwość przyjęcia konformacji 1,4-helikalnej.

Interesujące rezultaty otrzymano dla peptydu $\text{H-}\beta^3\text{hHis-(}\beta\text{hXaa)}_2\text{-}(S)\text{-}\beta^2\text{hVal-}\beta^3\text{hLys-(}\beta\text{hXaa)}_2\text{-}\beta^3\text{hCys-OH}$, gdzie dwa fragmenty $(\beta\text{hXaa})_2$ to odpowiednio $(S)\text{-}\beta^3\text{hAla-}\beta^3\text{hVal}$ oraz $(S)\text{-}\beta^3\text{Leu-}\beta^3\text{Ser}$. Koordynowanie jonu Zn^{2+} przez dwie skrajnie położone reszty β His i β Cys stabilizuje strukturę spinki do włosów w roztworze wodnym, podczas gdy w roztworze metanolemowym peptyd występuje w konformacji 1,4-helikalnej. Inaczej zachowuje się peptyd, w którym oba fragmenty $(\beta\text{hXaa})_2$ to $(2R,3S)\text{-}(\beta^2\text{hAla})_2$. W tym przypadku konformacja skrętu nie musi być stabilizowana przez kompleksowanie w roztworze wodnym. Natomiast peptyd zawierający ugrupowania $\beta^3\text{hAla-}\beta^3\text{hVal}$ i $(S)\text{-}\beta^3\text{Leu-(}S\text{)-}\beta^3\text{Ser}$ nie wykazuje żadnych właściwości powiązanych ze strukturą drugorzędową łańcuchów β , a reszty β His oraz β Cys nie uczestniczą w kompleksowaniu jonu cynku(II) [62].

Podsumowując, w przypadku oktapeptydów tego rodzaju, interakcje między jonom Zn^{2+} a peptydem występują w pH powyżej 7. Powiązane jest to bezpośrednio z deprotonacją pierścieni imidazolowych. We wszystkich analizowanych związkach stechiometria kompleksu równa jest 1:1, nawet jeśli podwyższone zostanie stężenie jonu cynku(II) i w środowisku pojawi się jego nadmiar [48].

3.2. WPLYW OBECNOŚCI RESZT β -LIZYNY NA ZDOLNOŚCI KOORDYNACYJNE PEPTYDÓW

Brasun i wsp. przebadali wpływ obecności reszt $\beta^3\text{hLys}$ i βAla w cyklicznej strukturze peptydu $\text{c}(\beta^3\text{hLysdHis}\beta\text{AlaHis})$ na zdolność koordynacji Cu^{2+} . Peptyd ten jest analogiem innego, $\text{c}(\text{LysdHisGlyHis})$, który w wysokim stopniu koordynuje jony miedzi(II) [63]. W jego przypadku dwa amidowe i jeden imidazolowy atom azotu oraz cząsteczka wody tworzą strefę koordynacyjną, na podstawie czego zaproponowano model koordynacji $[\text{CuH}_1\text{L}]$. Przeprowadzone badania wykazały, że ten rodzaj kompleksu formowany jest w fizjologicznym pH. W bardziej kwaśnym środowisku tylko donorowy atom azotu z jednego z pierścieni imidazolowych bierze udział w koordynacji, prowadząc do struktury $[\text{CuH}_2\text{L}]$. Wraz ze wzrostem wartości pH do około 7, kolejne dwa protony zostają oddysocjowane z wiązań amidowych. Interesująca struktura występuje w pH większym niż 8,7. Tutaj mianowicie cztery amidowe i dwa aksjalne, imidazolowe atomy azotu koordynują jon Cu^{2+} odpowiednio w pozycjach ekwatorialnej i aksjalnej, przyjmując oktaedryczne uporządkowanie i sposób koordynacji

[CuH₄L]. W pH z przedziału 8-8,7, kolejne trzy protony ulegają dysocjacji (z dwóch wiązań amidowych i następnego pierścienia imidazolowego), przyjmując struktury odpowiednio [CuH₂L], [CuH₃L] oraz [CuH₄L]. Wprowadzone modyfikacje w postaci β -aminokwasów w strukturze c(LysdHisGlyHis), pomimo tego, że dostarczają regularnej struktury chromoforu, w niewielkim stopniu redukują stabilność kompleksów [64].

Rola reszty β -lizyny w koordynowaniu Cu²⁺ była także badana przez Stokową i wsp. Wzięli oni pod uwagę kapreomycynę – powszechnie używany antybiotyk przeciwko gruźlicy [65]. Ten cykliczny heksapeptyd składa się z dwóch reszt kwasu α,β -diaminopropionowego, β -ureidodehydroalaniny, seryny i β -lizyny (nienależącej do pierścienia peptydowego). Jon Cu²⁺ związany jest w centrum cząsteczki i otoczony resztą β Lys. Wzrost wartości pH środowiska powoduje zmiany w powstałych strukturach: [CuH₃L], [CuH₂L] i [CuHL]. Udział β Lys w formowaniu kompleksu rozpoczyna się obecnością kompleksu [CuL] (pK=7,13), w którym fragment β NH₂ z β Lys zaangażowany jest w koordynację. Wykazuje on wysoką stałą trwałości (log β =12,46). Bazując na tych danych, da się wywnioskować, że omawiany kompleks może występować w warunkach fizjologicznych jako czynnik chelatujący i wykazujący potencjalne zastosowanie w medycynie. Układy [CuH₁L], [CuH₂L] oraz [CuH₃L] powstają kolejno po sobie. Druga grupa aminowa ϵ NH₂ bierze udział w tworzeniu [CuH₂L] (pK=9,86, log β =-5,50).

3.3. WPLYW OBECNOŚCI RESZT β -ASPARAGINIANU NA ZDOLNOŚCI KOORDYNACYJNE PEPTYDÓW

Ciekawe wyniki uzyskano w przypadku peptydów z resztą β Asp w *N*-końcowej pozycji z wolnym *N*-końcem w łańcuchu. W cząsteczkach tych, gdzie reszta β Ala zastąpiona została β Asp, zauważa się różnice w sposobie koordynacji Cu²⁺ (**Tabela 11**). Różne metody wiązania są konsekwencją obecności wolnej grupy $-\alpha$ COO⁻karboksylowej, zaangażowanej w formowanie struktury. Grupa ta powoduje kompleksowanie jonu bardziej efektywnie i dodatkowo przeciwdziała wiązaniu przez pierwszy amidowy atom azotu. Rozbieżności występują, jeśli chodzi o rolę *N*-końca sekwencji. Dla peptydu β AspHisGlyHis z wolnym *N*-końcem łańcucha, grupa $-\text{NH}_2$ wiąże jon Cu²⁺ przed imidazolowym atomem azotu. Najbardziej znaczącą jednak zmianę w właściwościach koordynacyjnych obserwuje się w stabilności powstałych kompleksów. β AspHisGlyHis preferuje układ [CuL], który jest najbardziej stabilny w pH z przedziału 5,5-8,5, podczas gdy jego analog zawierający resztę β Ala zamiast β Asp zachowuje największą stabilność kompleksu typu [CuH₁L] w pH od 6,5 do 8,8. Te właściwości koordynacyjne są rezultatem kolejności, w jakiej biorą udział

w wiązaniu atomy donorowe. Atom azotu z β AspHisGlyHis należący do pierścienia imidazolowego His, bierze udział w koordynacji przed pierwszym amidowym atomem azotu, w przeciwieństwie do peptydu β AlaHisGlyHis [57].

Tabela 11. Typy kompleksów i stałe trwałości ($\log\beta$) dla tetrapeptydów X- β AspHisGlyHis, gdzie X: -H, -Ac [57]
Table 11. Coordination modes and stability constants ($\log\beta$) for X- β AspHisGlyHis tetrapeptides, where X: -H, -Ac [57]

Peptyd	Typy koordynacji	Sfera koordynacyjna	Zakres pH	Stała trwałości
Ac- β AspHisGlyHis	[CuH ₂ L]	(2N ⁻ , 2N _{im} ⁻)	7-10	-7,08
β AspHisGlyHis	[CuL]	(NH ₂ , α COO ⁻ , 2NH _{im})	5,5-8,5	11,83

Kompleksy peptydów β AlaHisGlyHis i Ac- β AspHisGlyHis z jodem Cu²⁺ były także rozważane w badaniach z zakresu chemii kwantowej. Rezultaty pozwoliły uzyskać najbardziej optymalne struktury konformerów w uprotonowanych i zdeprotonowanych formach. W większości potwierdziły one wyniki eksperymentalne. Znacząca część kompleksów z jodem miedzi(II) występuje w sześć- lub pięciokoordynacyjnej formie, gdzie oprócz atomów donorowych peptydu zaangażowana jest dodatkowo cząsteczka wody. Główne otrzymane typy konformacji to [CuL] dla Ac- β AspHisGlyHis i [CuH₁L] dla β AlaHisGlyHis [67]. Odpowiednie sfery koordynacyjne są formowane przez atomy donorowe wyszczególnione w **Tabeli 11**.

Czapor-Irządęk i wsp. przebadali rolę reszty β Asp w chemii koordynacyjnej. Wzięto pod uwagę dwie sekwencje: Ala β AspSerGly i ArgLys β AspValTyr, będące fragmentami odpowiednio tymopoetyny (reszty 32-36) i fibrynopeptydu (reszty 1-4). Przedstawione cząsteczki są mimetykami naturalnych α -aminokwasów (gdzie resztę β Asp wstawiono w miejscu α Asp). Uzyskane wyniki nie ukazują drastycznych zmian w zdolnościach koordynacyjnych zmodyfikowanych peptydów w porównaniu do naturalnych analogów. Jedną z różnic w geometrii chelatów spowodowaną wprowadzeniem β Asp to formowanie 5-członowego (a nie 6-członowego dla α Asp) pierścienia. Daje to możliwość wystąpienia pierścienia 6-członowego ze względu na dodatkowy atom węgla w łańcuchu głównym [66].

Peptyd o sekwencji Ala β AspSerGly przy wartości pH równej około 4,5 formuje kompleksy typu [CuL] z udziałem atomów grup (NH₂, COO⁻). Dominuje on w szerokim zakresie pH, aż do wartości 9,5. W takich warunkach zachodzi deprotonacja amidowego atomu azotu, co w konsekwencji prowadzi do uzyskania atomów donorowych w grupach (NH₂, N⁻, COO⁻) i formowania kompleksu typu [CuH₁L]. Przyjmuje on geometrię płaskiego kwadratu z cząsteczką wody w sferze koordynacyjnej. Kolejne struktury, [CuH₂L] i [CuH₃L], występują w pH około 9,5, z atomami donorowymi odpowiednio (NH₂, 2N⁻, COO⁻) i (NH₂, 3N⁻). Powyżej pH

równego 10, można zaobserwować dominujący udział $[\text{CuH}_3\text{L}]$. Podobny sposób wiązania widoczny jest w naturalnych analogach [63].

W przypadku $\text{ArgLys}\beta\text{AspValTyr}$, forma $[\text{CuHL}]$ przeważa w szerokim zakresie pH, od 5 do 9, a jon Cu^{2+} ulega koordynacji przez atomy grup $[\text{NH}_2, 2\text{N}^-, \text{COO}^-]$. Inne kompleksy utworzone przez peptyd, takie jak $[\text{CuH}_3\text{L}]$, $[\text{CuL}]$, $[\text{CuH}_1\text{L}]$ i $[\text{CuH}_2\text{L}]$, pojawiają się w niewielkich ilościach. Przy podwyższonym pH środowiska (powyżej wartości 9,5), reszty Tyr, Lys oraz Arg ulegają deprotonacji i biorą udział w kompleksowaniu jonu miedzi(II) [63].

Porównanie peptydów $\text{Ala}\beta\text{AspSerGly}$ jak i $\text{ArgLys}\beta\text{AspValTyr}$ wskazuje na interesujące różnice w ich zdolnościach koordynacyjnych. W pH niższym niż 6, $\text{Ala}\beta\text{AspSerGly}$ wykazuje większą tendencję do formowania struktur $[\text{CuH}_1\text{L}]$ niż $\text{ArgLys}\beta\text{AspValTyr}$. Zupełnie przeciwne zjawisko obserwuje się w wyższym pH, gdzie drugi ligand dominuje jako kompleks $[\text{CuHL}]$ z Cu^{2+} . Zależność tą można wytłumaczyć koniecznością oddysocjowania dwóch protonów amidowych w pentapeptydzie (βAsp w 3 pozycji), co wymaga bardziej zasadowego środowiska. Formowanie kompleksu Cu^{2+} z tetrapeptydem jest wynikiem jednokrotnej deprotonacji (βAsp w 2 pozycji), w związku z czym kompleks $[\text{CuH}_1\text{L}]$ z $\text{Ala}\beta\text{AspSerGly}$ występuje w bardziej kwaśnym środowisku [63].

Innym związkiem zawierającym βAsp analog SPARC 114-128 (sekwencja $\text{Ac-TLEGTKKGHLHL}\beta\text{DY-NH}_2$), opisany przez Janicką-Kłos i współautorów [68]. Białko SPARC jest obecne w wielu typach komórek, ponadto odgrywa w nich znaczącą rolę, m.in. w karcynogenezie. Peptyd βSPARC formuje dziewięć różnych kompleksów z jonem Cu^{2+} w pH od 3 do 11. Ma to związek z obecnością reszt Lys, Tyr, His, Glu i βAsp w sekwencji peptydu. Wszystkie typy kompleksów zależne są od wartości pH środowiska i, w konsekwencji, uprotonowania reszt. Co istotne, układy te występują jako monokompleksy, gdzie znaczącą rolę w ich formowaniu odgrywa imidazolowy atom azotu w pierścieniu His. Badania pokazały, że βSPARC koordynuje jon metalu w sposób bardzo zbliżony do naturalnego analogu. Oznacza to, że wprowadzenie reszty βAsp zamiast naturalnego aminokwasu nie zmienia sposobu koordynacji. Metody obliczeniowe wykazały, że peptyd zawierający resztę β -aminokwasu formuje kompleksy o niższej stabilności – może być to spowodowane większą odległością pomiędzy donorem a akceptorem ładunku, w wyniku czego amidowy i imidazolowy atom azotu nie wykazują płaskiej geometrii [68].

4. PODSUMOWANIE

Reasumując, wprowadzenie reszt β -aminokwasu nie podwyższa stabilności formowanych kompleksów. Jej wzrost można zaobserwować w przypadku

obecności 6-członowego pierścienia chelatującego w sekwencji łańcucha peptydowego zawierającego tylko pierścienie 5-członowe. Jest to spowodowane bardziej swobodną geometrią i, w konsekwencji, mniejszymi napięciami w strukturze [42]. Co więcej, obecność reszty β Ala w sekwencji (zamiast jej α -analogu) nie powoduje drastycznych zmian w sposobach koordynacji jonu metalu. Są one zbliżone do tych obserwowanych w przypadku pojawienia się reszty Gly w strukturze [41-44]. W przypadku dłuższych łańcuchów, koordynacja jonów metali prowadzi do stabilizacji struktury drugorzędowej, podobnie jak w przypadku enzymów czy białek w organizmach żywych [22, 41, 42].

Istotny wpływ na zdolności koordynacyjne ma blokowanie *N*-końca łańcucha peptydowego. Sekwencje z wolną grupą aminową wykazują lepsze zdolności koordynacyjne [57]. Związki te efektywnie wiążą jon Cu^{2+} , ale w przypadku Zn^{2+} wymagana jest również obecność innych atomów koordynujących w łańcuchu bocznym, np. z pierścienia imidazolowego His czy grupy tiolowej Cys [22, 41, 42]. Występowanie reszt biorących udział w formowaniu kompleksu podwyższa zdolności koordynacyjne także *N*-blokowanych peptydów [57]. Jednak najważniejszymi grupami kompleksującymi jest *N*-końcowa, wolna grupa aminowa i imidazolowy atom azotu z pierścienia His [17-19].

Niższa stabilność kompleksów zawierających reszty β -aminokwasów w porównaniu z naturalnymi sekwencjami, może być użyta do projektowania nowych związków farmakologicznie czynnych i zapoczątkowania innowacyjnych strategii terapeutycznych, np. dla chorób neurodegeneracyjnych. Daje to również perspektywę wykorzystania ich jako czynniki chelatujące do wiązania konkretnych jonów (Cu^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$). Co więcej, podwyższona odporność na biodegradację ma znaczenie w zastosowaniu β -peptydów jako potencjalnych leków [52, 69].

UWAGI KOŃCOWE

Niniejsza publikacja stanowi przegląd zdolności i preferencji do koordynowania β -peptydów z jonami metali przejściowych. Mimo, iż na podstawie danych literaturowych można stwierdzić, że zdolności te są zbliżone do peptydów pochodzenia naturalnego, zebrany materiał stanowi cenne wskazówki do projektowania układów o dedykowanej aktywności biologicznej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] K. Mohle, R. Gunther, M. Thormann, N. Sewald, H.J. Hofmann, *Biopolymers*, 1999, **50**, 167.
- [2] D. Seebach, D.F. Hook, A. Glattli, *Biopolymers*, 2006, **84**, 23.
- [3] L.K.A. Pils, O. Reiser, *Amino Acids*, 2011, **41**, 709.
- [4] V. Castelletto, I.V. Hamley, R.A. Hule, D. Pochan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 2317.
- [5] G.N. Tew, D. Liu, B. Chen, R.J. Doerksen, J. Kaplan, P.J. Carroll, M.L. Klein, W.F. DeGrado, *PNAS*, 2002, **99**, 5110.

- [6] M. Zasloff, *Nature*, 2002, **415**, 389.
- [7] J. Frackenpohl, P.I. Arvidsson, J.V. Schreiber, D. Seebach, *ChemBioChem*, 2001, **2**, 445.
- [8] H.N. Gopi, G. Ravindra, P.P. Pal, P. Pattanaik, H. Balam, P. Balam, *FEBS Lett.*, 2003, **535**, 175.
- [9] P. Zubrzak, H. Williams, G.M. Coast, R.E. Isaac, G. Reyes-Rangel, E. Juaristi, J. Zabrocki, R.J. Nachman, *J. Pept. Sci.*, 2006, **88**, 76.
- [10] T. Godballe, L.L. Nilsson, P.D. Petersen, H. Jenssen, *Chem Biol Drug Des*, 2011, **77**, 107.
- [11] E.A. Porter, X. Wang, H.S. Lee, B. Weisblum, S.H. Gellman, *Nature*, 2000, **404**, 565.
- [12] Y. Hamuro, J.P. Schneider, W.F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 12200.
- [13] D. Seebach, J. Gardiner, *Acc. Chem. Res.*, 2008, **41**, 1366.
- [14] D. Seebach, A.K. Beck, D.J. Bierbaum, *Helv. Chim. Acta*, 2004, **1**, 1111.
- [15] H. Sigel, R.B. Martin, *Chem. Rev.*, 1982, **82**, 385.
- [16] H. Kozłowski, T. Kowalik-Jankowska, M. Jeżowska-Bojczuk, *Coord. Chem. Rev.*, 2005, **249**, 2323.
- [17] I. Sovago, C. Kallay, K. Varnagy, *Coord. Chem. Rev.*, 2012, **256**, 2225.
- [18] I. Sovago, K. Osz, *Dalton Trans.*, 2006, 3841.
- [19] H. Kozłowski, W. Bal, M. Dyba, T. Kowalik-Jankowska, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **184**, 319.
- [20] A. Pasternak, J. Kaplan, J.D. Lear, W.F. DeGrado, *Protein Sci.*, 2001, **10**, 958.
- [21] R.H. Holm, P. Kennepohl, E.I. Solomon, *Chem. Rev.*, 1996, **96**, 2239.
- [22] F. Rossi, G. Lelais, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta*, 2003, **86**, 2653.
- [23] R. MacColl, L.E. Eisele, R.F. Stack, C. Hauer, D.D. Vakharia, A. Benno, W.C. Kelly, G.J. Mizejewski, *Biochim. Biophys. Acta*, 2001, **1528**, 127.
- [24] D. Sanna, C.G. Ágoston, G. Micera, I. Sóvágó, *Polyhedron*, 2001, **20**, 3079.
- [25] J. Nagaj, K. Stokowa-Sołtys, I. Zawisza, M. Jeżowska-Bojczuk, A. Bonna, W. Bal, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **119**, 85.
- [26] H. Kozłowski, A. Janicka-Kłos, J. Brasuń, E. Gaggelli, D. Valensin, G. Valensin, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 2665.
- [27] H. Kozłowski, M. Łuczowski, M. Remelli, D. Valensin, *Coord. Chem. Rev.*, 2012, **256**, 2129.
- [28] V.B. Kenche, K.J.Br. Barnham, *J. Pharmacol.*, 2011, **163**, 211.
- [29] A.I. Bush, R.E. Tanzi, *Neurotherapeutics*, 2008, **5**, 421.
- [30] R.P. Cheng, S.H. Gellman, W.F. DeGrado, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 3219.
- [31] T.A. Martinek, F. Fulop, *Eur. J. Biochem.*, 2003, **270**, 3657.
- [32] G.V. Mane, D.G. Kolhatkar, L.P. Shinde, *J. Chem. Pharm. Res.*, 2012, **4**, 1022.
- [33] M.V. Chidambaram, P.K. Bhattacharya, *J. Indian Chem. Soc.*, 1970, **47**, 881.
- [34] O. Yamauchi, H. Miyata, A. Nakahara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1971, **44**, 2716.
- [35] I. Nagypál, F. Debreczeni, F. Erdödi, *Inorg. Chim. Acta*, 1982, **57**, 125.
- [36] F. Gaizer, G. Göndös, L. Gera, *Polyhedron*, 1986, **5**, 1149.
- [37] L.A. Kochergina, O.M. Drobilova, *Russ. J. Phys. Chem. A*, 2008, **82**, 1540.
- [38] Z. Arkosi, T. Szabo-Planka, A. Rockenbauer, N.V. Nagy, L. Lazar, F. Fulop, *Inorg. Chem.*, 2003, **42**, 4842.
- [39] E. Farkas, E. Kozma, M. Pethő, K.M. Herlihy, G. Micera, *Polyhedron*, 1998, **17**, 3331.
- [40] R.W. Taft, *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 4231.
- [41] J. Nagaj, K. Stokowa-Sołtys, I. Zawisza, M. Jeżowska-Bojczuk, A. Bonna, W. Bal, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **119**, 85.
- [42] D. Sanna, C.G. Ágoston, G. Micera, I. Sóvágó, *Polyhedron*, 2001, **20**, 3079.
- [43] H. Sigel, B. Prijs, R.B. Martin, *Inorg. Chim. Acta*, 1981, **56**, 45.
- [44] I. Sovago, D. Sanna, A. Dessi, K. Varnagy, G. Micera, *J. Inorg. Biochem.*, 1996, **63**, 99.
- [45] A.R. Hipkiss, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 1998, **30**, 863.

- [46] A.A. Boldyrev, A.M. Dupin, E.V. Pindel, S.E. Severin, *Comp. Biochem. Physiol.*, 1998, **89B**, 245.
- [47] S. Velez, N.G. Nair, V.P. Reddy, *Colloids Surf.*, 2008, **66**, 291.
- [48] R.P. Agarwal, D.D. Perrin, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1975, 268.
- [49] P. Mineo, D. Vitalini, D. La Mendola, E. Rozzarelli, E. Scamporrino, G. Vecchio, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2002, **16**, 722.
- [50] C.E. Brown, W.E. Anthiline, *J. Phys. Chem.* 1979, **83**, 3314.
- [51] M.M. Eslam, M. Korany, A. Noura, M.T. Shoeib, *Inorg. Chim. Acta*, 2014, **421**, 123.
- [52] V.M. Vishwabharati, M. Tulsi, K. Sudhir, *Radiat. Phys. Chem.*, 2015, **107**, 54.
- [53] G.R. Lenz, A.E. Martell, *Biochemistry*, 1964, **3**, 750.
- [54] O. Yamauchi, Y. Nakao, A. Nakahara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1973, **46**, 2119.
- [55] A. Hanaki, T. Kawashima, T. Konishi, T. Takano, D. Mabuchi, A. Odani, O. Yamauchi, *J. Inorg. Biochem.*, 1999, **77**, 147.
- [56] H. Kozłowski, W. Bał, M. Dyba, T. Kowalik-Jankowska, *Coord. Chem. Rev.* 1999, **184**, 319.
- [57] J. Brasuń, H. Czapór, A. Matera-Witkiewicz, A. Kotynia, A. Sochacka, M. Cebrat, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 6518.
- [58] R.P. Bonomo, F. Bonsignore, E. Conte, G. Impellizzeri, G. Pappalardo, R. Purrello, E. Rizzarelli, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1993, 1295.
- [59] L. Rivillas-Acevedo, L. Maciel-Barón, J.E. García, E. Juaristi, L. Quintanar, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **126**, 104.
- [60] A. Wortmann, F. Rossi, G. Lelais, R.J. Zenobi, *Mass Spectrom.*, 2005, **40**, 777.
- [61] M. Gelinsky, H. Vahrenkamp, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2002, **9**, 2458.
- [62] G. Lelais, D. Seebach, B. Jaun, R.I. Mathad, O. Flogel, F. Rossi, M. Campo, A. Wortmann, *Helv. Chim. Acta*, 2006, **89**, 361.
- [63] J. Brasuń, A. Matera, S. Ołdziej, J. Świątek-Kozłowska, L. Messori, C. Gabbiani, M. Orfei, M.J. Ginanneschi, *Inorg. Biochem.*, 2007, **101**, 452.
- [64] J. Brasuń, A. Matera-Witkiewicz, S. Ołdziej, A. Pratesi, M. Ginanneschi, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.*, 2009, **103**, 813.
- [65] L.M. Fu, T.M. Shinnick, *J Infect*, 2007, **54**, 277.
- [66] K. Stokowa, W. Szczepanik, N. Gaggelli, E. Gaggelli, G. Valensin, M. Jeżowska-Bojczuk, *J. Inorg. Biochem.*, 2012, **106**, 111.
- [67] Ż. Czyżnikowska, J. Brasuń, *J Mol Model*, 2012, **18**, 1365.
- [68] A. Janicka-Kłós, H. Czapór-Irزابek, Z. Czyżnikowska, M. Cebrat, J. Brasuń, *Inorg. Chim. Acta*, 2014, **421**, 67.
- [69] J. Frackenhohl, P.I. Arvidsson, J.V. Schreiber, D. Seebach, *ChemBioChem*, 2001, **2**, 445.

Praca wpłynęła do Redakcji 28 lutego 2020 r.