

OTKA F67581 Záró Beszámoló

a „Koordinációs viszonyok és konformációs egyensúlyok vizsgálata aliciklusos β -aminosav származékok réz(II) komplexeinél kétdimenziós ESR spektroszkópiai módszerrel”

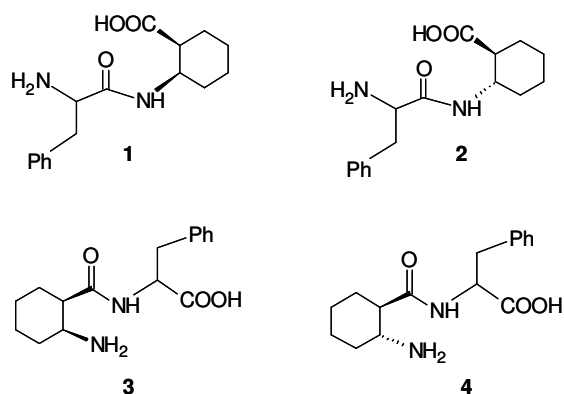
című pályázathoz

A pályázat utolsó harmadában befelyeztük a pályázat fő kutatási területén (aliciklusos β -aminosavak réz(II) komplexei) végzet mérések kiértékelését, az eredmények értelmezését az elméleti számítások segítségével valamint az eredményeket összefoglaló folyóiratcikk megírását. Emelett, a második évben a pályázat témakörébe bevont többi kutatási terület vizsgálati eredményeit is előkészítettük közlésre, amelyekből négy folyóiratcikk már megjelent és további két folyóiratcikk van elbírálás alatt. A pályázat 3 és fél éves időtartama alatt eredményeinket négy nemzetközi, valamint három hazai konferencián előadás, valamint további két nemzetközi konferencián poszter formájában is bemutattuk.

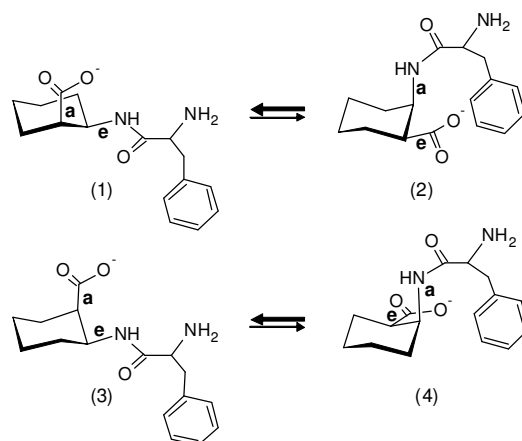
Négy vegyületcsalád segítségével különböző, a ligandumok komplexképzését befolyásoló tényezőket (mint a konformációs és geometriai izoméria, szerkezeti izoméria, szubsztituens hatás) vizsgáltunk, és megállapítottuk, hogy ezek a tényezők jelentősen befolyásolták a komplexképzés erősségét. Eredményeinket a vizsgált vegyületcsaládok szerint a következő négy területre oszthatjuk fel: (1) aliciklusos- β -aminosav származékok sztereokémiájának vizsgálata (2) a fluor csoport helyzetének hatása a 3-,4-,5-,6- pozícióban fluorozott szalicilsavak komplexképzésében (3) különböző módon szubsztituált tioszemikarbazon illetve cumarinból származtatott Schiff-bázisok szubsztituens hatás vizsgálata (4) hisztidineket különböző pozícióban tartalmazó oligopeptidek vizsgálata.

1. Aliciklusos- β -aminosav származékok sztereokémiájának vizsgálata

A sztereoizomer *cis*- és *trans*-2-amino-ciklohexán (*c/t*ACHC) és fenilalaninból (F) képzett F-*c/t*ACHC és *c/t*-ACHC-F ligandum párok (1. ábra) réz(II)ionnal alkotott komplexeit vizsgáltuk folytonos üzemű és impulzus ESR technikával, és az eredményeink értelmezéséhez elméleti (DFT) számításokat is végeztünk. A ligandumok sztereokémiája meglehetősen bonyolult volt, a 2. ábra mutatja egyetlen ligandum lehetséges sztereoizomerjeit. Az előállítás során a diasztereomer párokat sikerült elválasztani, így azokat külön-külön is megvizsgálhattuk.



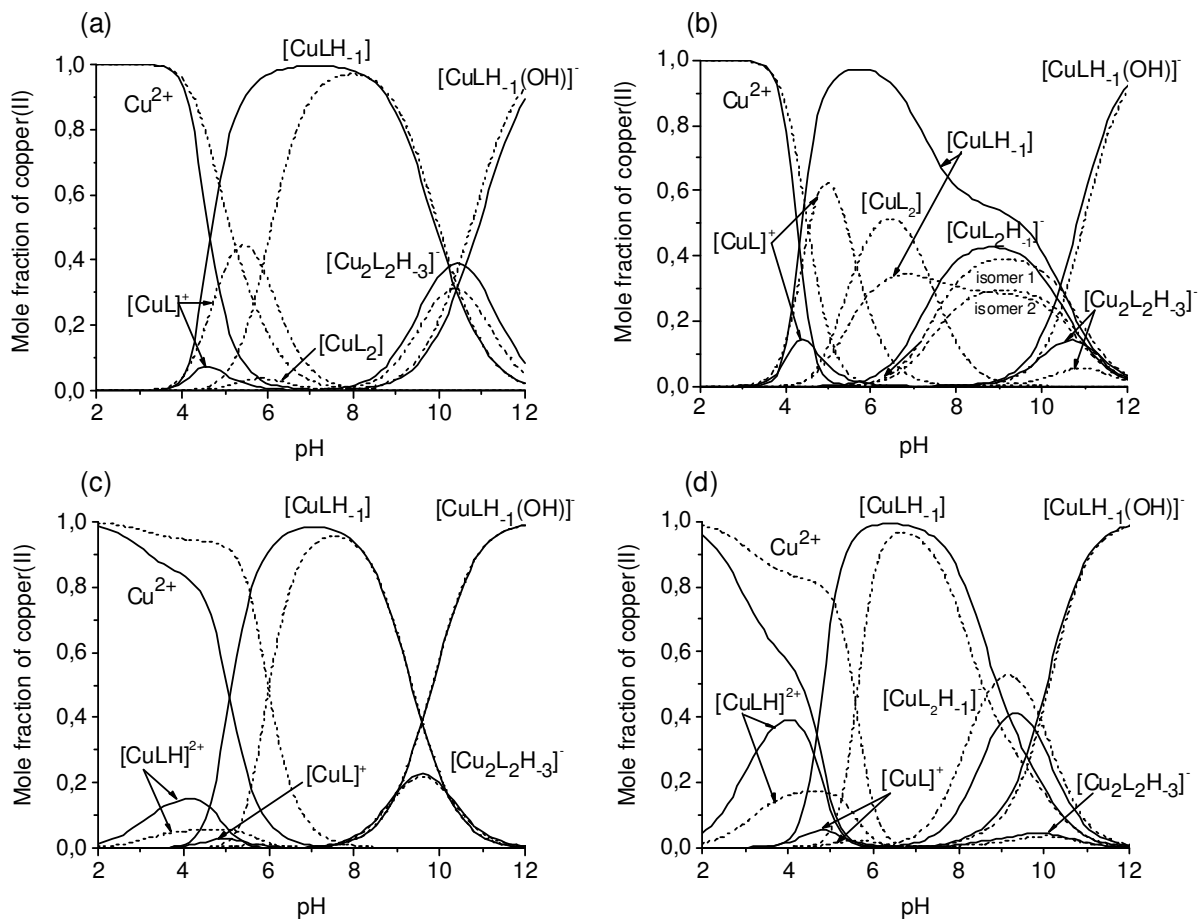
1. ábra A vizsgált ligandumok szerkezete:
1: F-cACHC, 2: F-tACHC, 3: cACHC-F,
4: tACHC-F



2. ábra Az L-F-cisz-ACHC ligandum
sztereoizomerjei: (1)-(2) az L-F-(1S,2R)-
ACHC diasztereoizomer két szék
konformere, és (3)-(4) az L-F-(1R,2S)-2-
ACHC diasztereoizomer hasonló
konformerei

A F-cACHC ligandum két diasztereoizomérének vizes oldatában felvett ESR spektrumsorozatok kiértékelése mérési hibán belül azonos eredményt adott. Az azonosság azonban nem annyira meglepő, hiszen a réz koordináció tekintetében ezek a sztereoizomerek tárgy-tükörképi viszonyban vannak (vö. 2. ábra (1)-(3) valamint (2)-(4) szerkezeteit), így az ESR paramétereikben nem jelentkezett mérhető különbséget. Ezután a másik három ligandum esetén egy-egy tiszta diasztereoizomert vizsgáltunk.

Első lépésként pH-potenciometriás mérés segítségével meghatároztuk a szabad ligandumok deprotonálódási állandóit. A ligandumot és rezet tartalmazó vizes oldat titrálásával ESR spektrumsorozatokat vettünk fel különböző pH-kon, amelyek un. „kétdimenziós”, egyidejű illesztésével meghatároztuk a képződött komplexek képződési állandóit valamint izotróp ESR paramétereit. A kapott eloszlási görbéket a 3. ábra mutatja.



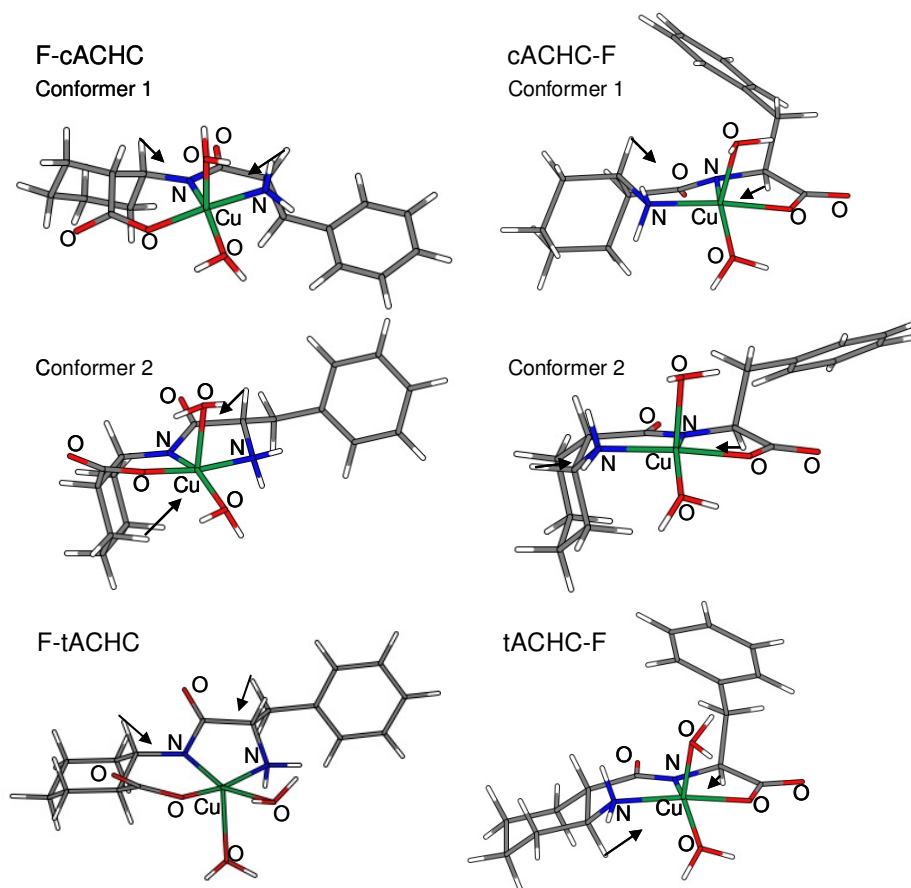
3. ábra A réz(II)ion megoszlása a különböző komplexekben a pH függvényében. A *cis* (egyenes vonal) és *transz* (pontozott vonal) izomerek a F-c/tACHC ligandumra (a) $T_{Cu}=3mM$, $T_L=3mM$ valamint (b) $T_{Cu}=1mM$, $T_L=10mM$, és a c/tACHC-F ligandumra (c) $T_{Cu}=3mM$, $T_L=3mM$ valamint (d) $T_{Cu}=1mM$, $T_L=10mM$ koncentrációknál.

A domináns $[CuLH_{-1}]$ és $[CuLH_{-1}(OH)]^-$ komplexek anizotróp g és réz hiperfinom csatolásának meghatározására kiértékeljük ezen komplexek 77K-en mérhető spektrumait is. A fiziológiai pH-n domináns $[CuLH_{-1}]$ komplexek szerkezetének pontosabb meghatározására ezen túlmenően impulzus ESR méréseket is végeztünk, így ELDOR (electron double resonance) detektált NMR mérésekkel a két koordinálódó nitrogén hiperfinom tenzorát valamint deuterált vízben végzett HYSORE (hyperfine sublevel correlation spectroscopy) mérésekkel a ligandum C_{α} -H és gyűrű protonjainak hiperfinom tenzorát is meghatároztuk.

A vizsgált F-c/tACHC és c/t-ACHC-F ligandumok és a réz(II) oldategyensúlyi rendszerében a következő hasonlóságokat találtuk (a) mind a négy rendszerben az ESR aktív $[Cu(aqua)]^{2+}$, $[CuL]^+$, $[CuLH_{-1}]$, $[CuLH_{-1}(OH)]^-$ és $[CuL_2H_{-1}]^-$ komplexek, valamint az inaktív $[Cu_2L_2H_{-3}]^-$

dimer képződött, valamint (b) a $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplex a $\{\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-\}$ háromfogú kötődéssel domináns mennyiségben képződött a semleges pH-tartományban (3. ábra). Az ACHC aminosavat N- vagy C-terminális részen tartalmazó dipeptidek között a fő különbség az volt, hogy (a) a $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplex is kimutatható volt az első esetben, és (b) mind a $[\text{CuLH}_{-1}]$ mind $[\text{CuLH}_{-1}(\text{OH})]^-$ komplex nagyobb stabilitást mutatott a c/tACHC-F dipeptidek esetén összehasonlítva a F-c/tACHC ligandumokkal, ami az amino csoport nagyobb bázicitásával magyarázható. Mindkét ligandum pár esetén a *cisz* sztereoizomer $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexe nagyobb stabilitást mutatott (szélesebb pH-tartományban volt domináns) mint a megfelelő *transz* izomer (3. ábra). Ezt azzal értelmeztük, hogy a *transz* izomer esetén a ligandum lehetséges konformerei közül az a konformer, ahol a ciklohexán gyűrű mindkét donorcsoportja axiális térállású, geometriai okokból nem tud egyidőben a rézhez koordinálni, így az oldatban lehetséges ciklohexán konformerek száma jelentősen limitált. Míg a *cisz* ligandumoknál mindkét lehetséges szék konformer esetén létrejöhet a koordináció. A F-tACHC esetén ezen túlmenően az ESR paraméterek a $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexben gyengébb ligandumteret is mutattak a megfelelő *cisz* izomerrel szemben, ami a kisebb stabilitás további oka lehet. Ennek köszönhető, hogy ebben a rendszerben a *bisz*komplexek képződése jelentősebb, a másik három rendszerhez képest (3.(b) ábra pontozott vonalai). A nitrogén hiperfinom tenzorok meghatározásával spektroszkópiai bizonyítékát adtuk annak, hogy a deprotonált amid nitrogén síkbeli σ -kötésének gyengülése együtt jár a síkon kívüli π -kötésének erősödésével a $[\text{CuLH}_{-1}(\text{OH})]^-$ vegyes hidroxo komplex képződésekor (amikor a negyedik ekvatoriális pozícióban lévő vízmolekula deprotonálódik). A ligandum protonok hiperfinom tenzorának meghatározásával javaslatot tettünk a ciklohexángyűrű konformációjára a termodinamikailag legstabilisabb (~10K-en képződő) $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexekben. Az elméleti számításokkal (DFT) kapott szerkezeteket a 4. ábra mutatja, ahol a F-cACHC esetén a 2-es míg a cACHC-F esetén az 1-es konformer esetén számoltunk a mért proton hiperfinom tenzorokkal jól egyező értékeket.

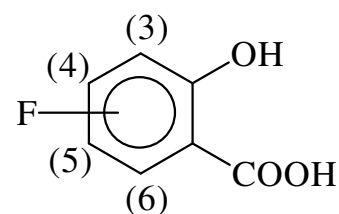
(N. V. Nagy, S. Van Doorslaer, T. Szabó-Plánka, S. Van Rompaey, A. Hamzay, G. K. Tóth, F. Fülöp, A. Rockenbauer, *Inorganic Chemistry*, közlésre benyújtva, 2011)



4. ábra Az elméleti számítások eredményeként kapott lehetséges [CuLH₁] szerkezetek és a két legnagyobb proton csatolás irányai.

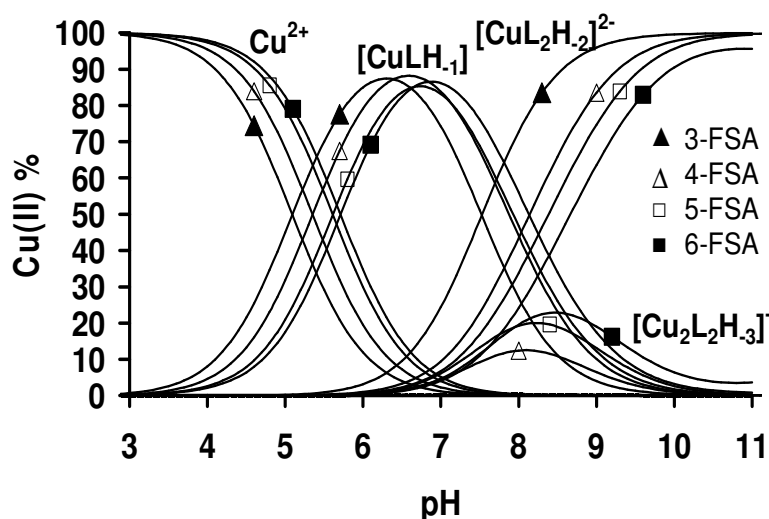
2. A fluor csoport helyzetének hatása a 3-,4-,5-,6- pozícióban fluorozott szalicilsavak komplexképzésében

A különböző pozícióban szubsztituált fluoroszalicilsavak (FSA) vizsgálatának célja az volt, hogy megvizsgáljuk a gyógyszervegyületekben gyakran használt fluoro-csoportnak a komplexképzést befolyásoló szerepét a fenilgyűrűben való elhelyezkedésétől függően. A fluoro-csoport beépítésével számos esetben növelhető a biológiai hatás és a gyógyszermolekula rezisztenciája növelhető a szervezet metabolikus folyamataival szemben. Ezen túlmenően a nagy elektronegativitású fluoro-csoport megfelelő helyzetű beépítésével megváltoztatható a közeli funkciós csoportok bázicitása. A szalicilátok (pl. aszpirin azaz. acetilszalicilsav) és ezek réz(II)komplexeinek biológiai hatása régóta ismert, ezért célul tűztük ki a fluoro-csoport hatásának vizsgálatát a különböző pozícióban szubsztituált 3-, 4-, 5-, 6-fluoroszalicilsav - réz(II) oldategyensúlyi



rendszerekben. Ezen OTKA kutatási projekt tette lehetővé az ESR-spektroszkópiai mérések elvégzését a különböző oldategyensúlyi rendszerekben.

A vizsgálat eredményeképpen megállapítottuk, hogy ekvimoláris fém-ligandum arányánál a CuLH_1 , ligandumfeleslegben pedig a CuL_2H_2 összetételű biszkomplex domináns a biológiai pH-n, amelyben a ligandumok a karboxilát- és fenolát-csoportjaikkal koordinálnak a réz(II)ionhoz. Megállapítottuk, hogy a fluoro-csoport pozíciója nem befolyásolta a komplexekre mérhető ESR-paramétereket, de szignifikáns különbséget okoz a komplexek stabilitásában (5. ábra). A 3-FSA képezi a legstabilabb, míg a 6-FSA a legkevésbé stabilis komplexeket, amelyet az ab-initio számítások segítségével kapott Mulliken töltések alapján azzal hoztunk összefüggésbe, hogy a 6-FSA esetén kapjuk a legkevésbé negatív töltésű donor atomokat. A 4- és 5-fluoroszalicilsavak komplexképző tulajdonságai a 3- és 6-FSA között helyezkedtek el, és nem mutattak szignifikáns különbséget. (T. Szabó-Plánka, B. Gyurcsik, I. Pálinkó, N. V. Nagy, A. Rockenbauer, R. Sípos, J. Sima, and M. Melník., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105, 75-83, 2011)



5. ábra Eloszlási görbék a réz(II)–X-FSA rendszerekben (X = 3,4,5,6) $T_{\text{Cu}} = 0.5 \text{ mM}$ és $T_{\text{L}} = 2 \text{ mM}$ koncentrációknál

A vizsgálatunkat ezután abban az irányban folytattuk, hogy hogyan befolyásolja a fluoroszalicilsavak komplexképzését más komplexképző ligandumok (mint pl. az N,N-dietil-nikotinamid) jelenléte. A vizsgálat célja egyrészt az volt, hogy a valós biológiai rendszerekben a ligandumok között bekövetkező versenyhelyzetet modellezzük, valamint megvizsgáljuk, hogy a terner rendszerekben képződő komplexek stabilitása és aktivitása hogyan viszonyul a biner rendszerekben mérhetővel, ugyanis sokszor szinergizmus léphet fel

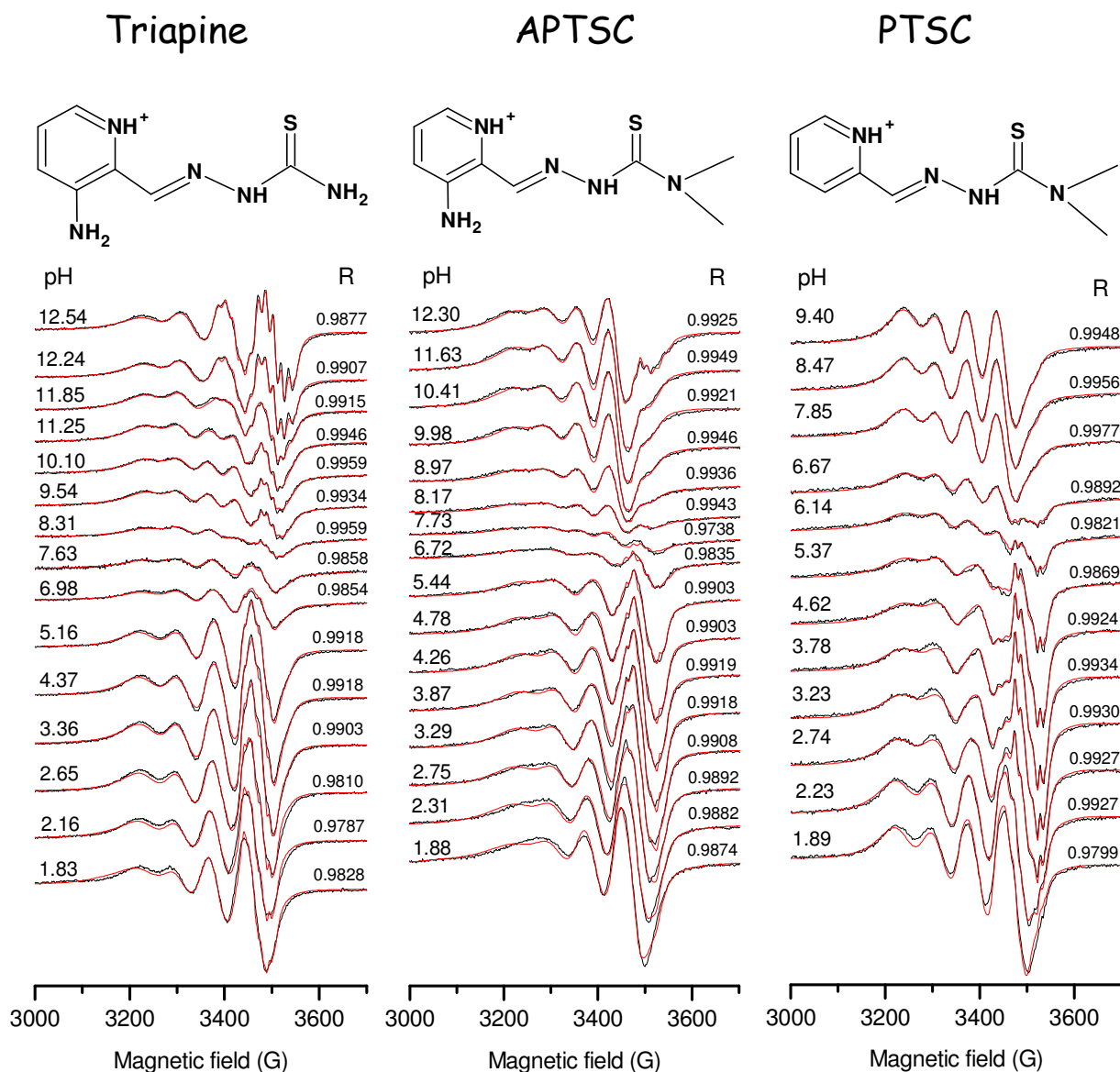
a ligandumok között. Az általunk vizsgált 4-fluoro-szalicilsav és N,N-dietil-nikotinamid rézzel képzett terner komplexe is nagyobb stabilitást mutatott, mint a ligandumok réz(II)komplexei külön-külön. A biológiai pH-n dominánsan képződő terner komplexet sikerült kikristályosítani, és szerkezetét röntgendiffrakciós módszerrel is meghatározni. (*T. Szabó-Plánka, J. Moncol, E. Tóth; B. Gyurcsik, N. V. Nagy, Z. Vasková, A. Rockenbauer, D. Valigura, Polyhedron*, közlésre benyújtva, 2011)

3. Tioszemikarbazon származékok illetve cumarinból származtatott Schiff-bázisok szubsztituens hatás vizsgálata

Három tioszemikarbazon származék komplexképző sajátosságát vizsgáltuk. A triapin (3-aminopiridin-2-carboxaldehid-tioszemikarbazon) az egyik legismertebb tioszemikarbazon (TSC), amely analitikai alkalmazásairól (fémionok spektrofotometriás, spektrofluorimetriás kimutatása) illetve széles körű biológiai hatásáról (antimaláriás, antimikrobiális és antitumor aktivitás) ismert. Ezen túlmenően az α -N-heterociklikus tioszemikarbazonok átmenetifém (Cu(II), Zn(II), stb) komplexei rákellenes hatást is mutattak. A biológia hatás és a komplexképző sajátosságok közötti összefüggések felderítésére elvégeztük három ilyen piridin-tioszemikarbazon vegyület összehasonlító vizsgálatát biológiai jelentőségű fémionokkal (Cu(II), Fe(II), Zn(II)), pH-potenciometriás, UV-Vis spektrofotometriás, ESR, ^1H NMR és ESI-MS módszerekkel (viz-DMSO oldószer elegyben). Ezek közül a jelen pályázat keretei között végeztük el a triapin, a piridin-2-karboxaldehid- N^4, N^4 -dimetil-tioszemikarbazon (PTSC) és 3-aminopiridin-2-karboxaldehid- N^4, N^4 -dimetil-tioszemikarbazon (APTSC) réz(II)-oldategyensúlyi rendszerek ESR spektrumainak felvételét és „két-dimenziós” szimulációs módszerrel történő kiértékelését (ld. 6. ábra).

A vizsgálatok alapján mindhárom rendszerben megállapítottuk, hogy az oldatban a CuLH , CuL , CuL(OH) és CuL(OH)_2 monokomplexek valamint a CuL_2H és CuL_2 biszkomplexek mellett egy Cu_2L_3 összetételű dimer molekula képződik, amely a biológiai pH tartományban domináns. Ennek a molekulának a képződését az UV-Vis spektrofotometriás mérések is alátámasztották, valamint a komplex feltételezett összetételét az ESI-MS mérések megerősítették. A három vegyület komplexképző sajátosságainak összehasonlításából az is kiderült, hogy az N-terminális pozícióban dimetilezett származékok fémmegkötő képessége (a biológiai hatás növekedésével együtt) megnőtt a Triapine-hoz képest (nemcsak a réz(II) de a Fe(II) és Zn(II) esetén is). A jól feloldott ESR spektrumok elemzéséből az is megállapítható volt, hogy a két biszkomplex esetén kötési izomerek jönnek létre, mivel a második ligandum belépése a koordinációba mind az imidazol-N, mind a tio-S donoratomokkal egyaránt

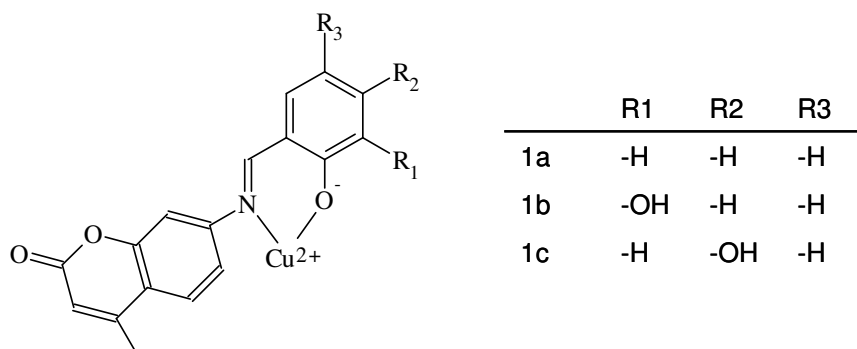
megvalósulhat. (É. A. Enyedy, N. V. Nagy, É. Zsigó, Ch. R. Kowol, V. B. Arion, T. Kiss, B. K. Keppler; *Eur. J. Inorg. Chem.*, 11, 1717-1728, 2010)



6. ábra ESR spektrumsorozatok (fekete) és szimulált görbék (piros) a réz(II)-Triapin, - APTSC, -PTSC 30% DMSO-víz elegyében, $T_{Cu}=1\text{mM}$ és $T_L=2\text{mM}$ koncentrációnál

A kumarinból származtatott Schiff-bázisok réz(II)komplexeinél, nemrégiben jelentős anti-Candida hatást mutattak ki. A biológiai aktivitás meghaladta komplexben nem kötött Schiff bázis valamint a jelenleg forgalomban lévő gombaellenes szer, Amphotericin B hatását is. A vegyületek rossz oldhatósága miatt azonban a komplexképzésükkel kapcsolatban kevés vizsgálat született. Az általunk használt kombinált pH-potenciometriás, UV-látható spektrofotometriás valamint ESR-spektroszkópiai módszerek együttes alkalmazásával, 80%

DMSO-víz elegyben dolgozva, sikerült megbízható információkat szerezni az oldatban képződő komplexek összetételéről és szerkezetéről, amely jelentős hozzájárulást adhat a biológiai hatásmechanizmus megértéséhez.



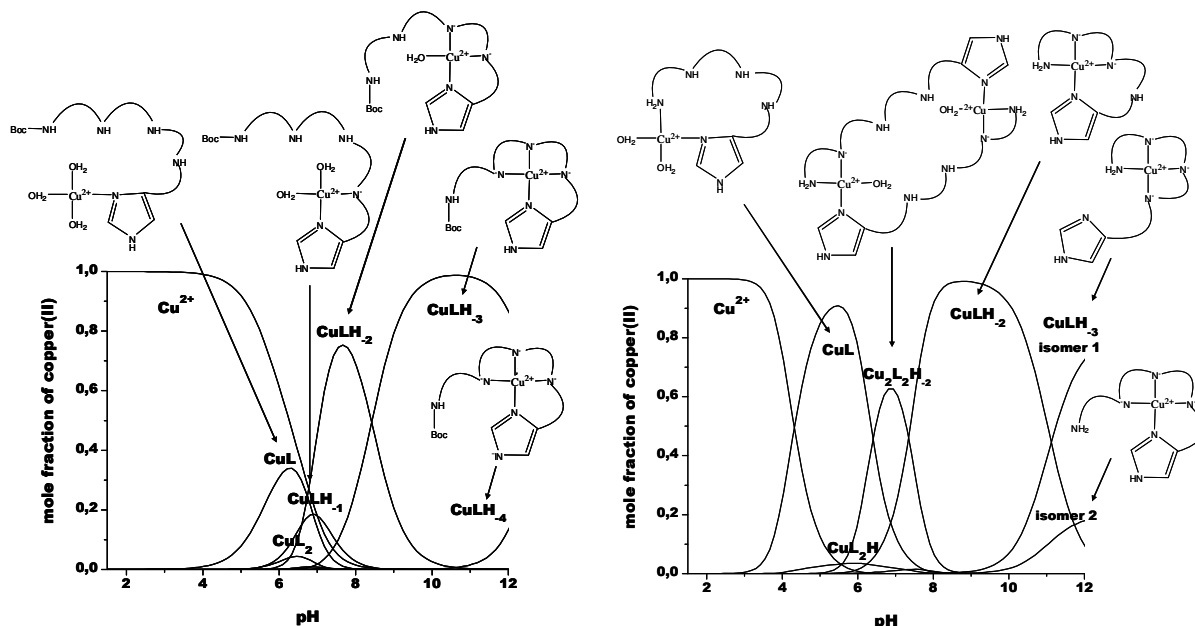
7. ábra Az ESR-spektroszkópiai módszerrel vizsgált 1a-c jelzésű kumarin Schiff-bázisok szerkezete, és a domináns réz(II)komplexeikben kialakuló koordinációs mód

Az ESR-spektroszkópiai mérések azt mutatták, hogy a nagyméretű molekulák komplexei oldatban lassan forognak, így az irányfüggő ESR paraméterek kiátlagolódása nem teljes, és széles, szabálytalan jelalakú spektrumok mérhetőek. Ennek ellenére a spektrumok változását a pH függvényében összevetve a pH-potenciometriás mérések eredményeivel sikerült az oldategyensúlyi viszonyokat tisztázni. A komplexek szerkezetére vonatkozó információkat a minták 77K-en történő mérésével nyertünk, ahol a mozgás befagyasztásával szabályos anizotróp spektrumokat mérhettünk. Mindhárom ligandum esetén a domináns komplex a 7 ábrán látható szerkezetű volt, valamint az 1a-b ligandumok esetén ESR-inaktív, dimer komplex, valamint lúgos közegben vegyes hidroxo komplexek képződését is azonosítottuk. Az 1b származéknál catecholát típusú koordinációt mutattunk ki a $[CuLH_{1.1}(OH)]$ összetételű komplexben. (B. Sarah Creaven, E. Czeglédi, M. Devereux, É. A. Enyedy, A. Foltyn, D. Karcz, A. Kellett, S. McClean, N. V. Nagy, A. Noble, A. Rockenbauer, T. Szabó-Plánka and M. Walsh.; *Dalton Transaction*, 39,10854-10865, 2010)

4. Hisztidin tartalmú oligopeptidek vizsgálata

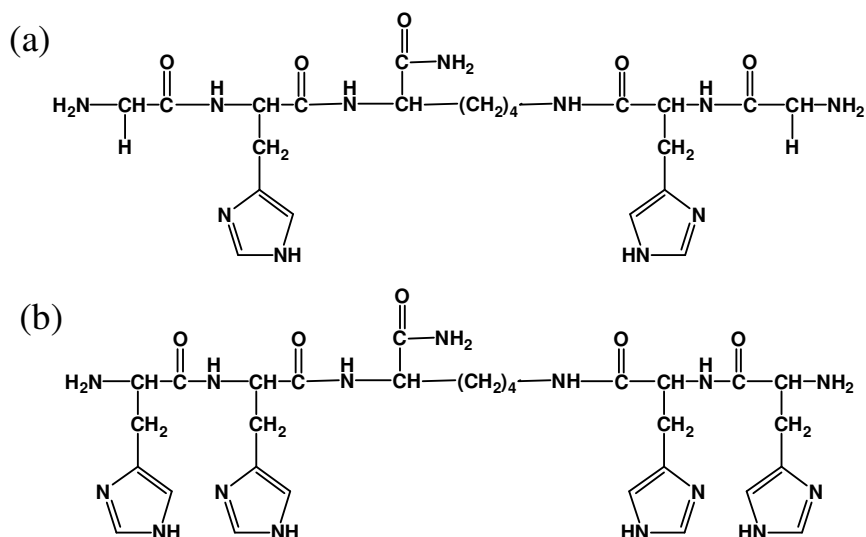
A hisztidin tartalmú ligandumok réz(II) komplexeinek vizsgálata a biológiailag fontos fehérjékben lejátszódó fémkoordináció mélyebb megismerését célozza. Terminális aminosavként, a hisztidin aminosav horgonydonor szerepét kívántuk megvizsgálni a glicil-glicil-glicil-hisztiamin (GGGHa) és t-butiloxikarbonil-glicil-glicil-glicil-hisztiamin (Boc-GGGHa) vegyületek összehasonlításával, ugyanis a terminális aminosavak koordinációja a nagyobb méretű fehérjék (pl. bovine szérum albumin, human szérum albumin, endosztatin)

komplekképzésében is szerepet játszik. Vizsgálataink szerint a két ligandum jelentősen eltérő komplexképzést mutatott. Amíg a védett aminocsoportot tartalmazó Boc-GGGHa esetén az egyfogú imidazol koordinációt az amid nitrogének lépcsőzetes deprotonálódásával képződő komplexek váltják fel, addig a szabad aminocsoportot tartalmazó GGGHa esetén makrokelát koordináció valósul meg a ligandum amino és imidazol végeinek egyidejű koordinációjával, ami jelentősen növeli az így képződő komplexek stabilitását (8. ábra). A $[\text{CuLH}_2]$ komplex esetén ez a koordináció gátolja a harmadik amid csoport deprotonálódását, amely így jelentősen magasabb pH értéken következik be mint a védett aminocsoportot tartalmazó ligandum esetén. A két terminális donorcsoport viszonylag távoli elhelyezkedése és erős koordinációja eredményeképpen a semleges pH-tartományban egy dimer $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ komplex is képződik kis mennyiségben, ahol két ligandum végcsoportjaival hídként köt össze két réz(II)iont. A GGGHa ligandum $[\text{CuLH}_3]$ komplexe esetén a spektrum legjobb illesztését izomeregysúly feltételezésével kaptuk, ahol a nagyobb mennyiségben kimutatott komplex esetén a terminális amino csoport melletti három amid deprotonálódását valószínűsítettük. Kis mennyisége miatt a másik izomer azonosítása bizonytalan, de feltehetően az imidazol csoport ekvatoriális koordinációjával jöhet létre. (A. Jancso; K. Selmeczi; P. Gizzi; N. V. Nagy; T. Gajda; B. Henry, *J. Inorg. Biochem.*, 105, 92-101, 2011)



8. ábra. A Boc-GGGHa (bal oldalon) és GGGHa (jobb oldalon) ligandumot és réz(II)ionokat ekvimoláris mennyiségben tartalmazó vizes oldatokban képződő komplexek eloszlása és javasolt koordinációs módjai (az esetlegesen kialakuló axiális vízkoordinációt nem tüntettük fel)

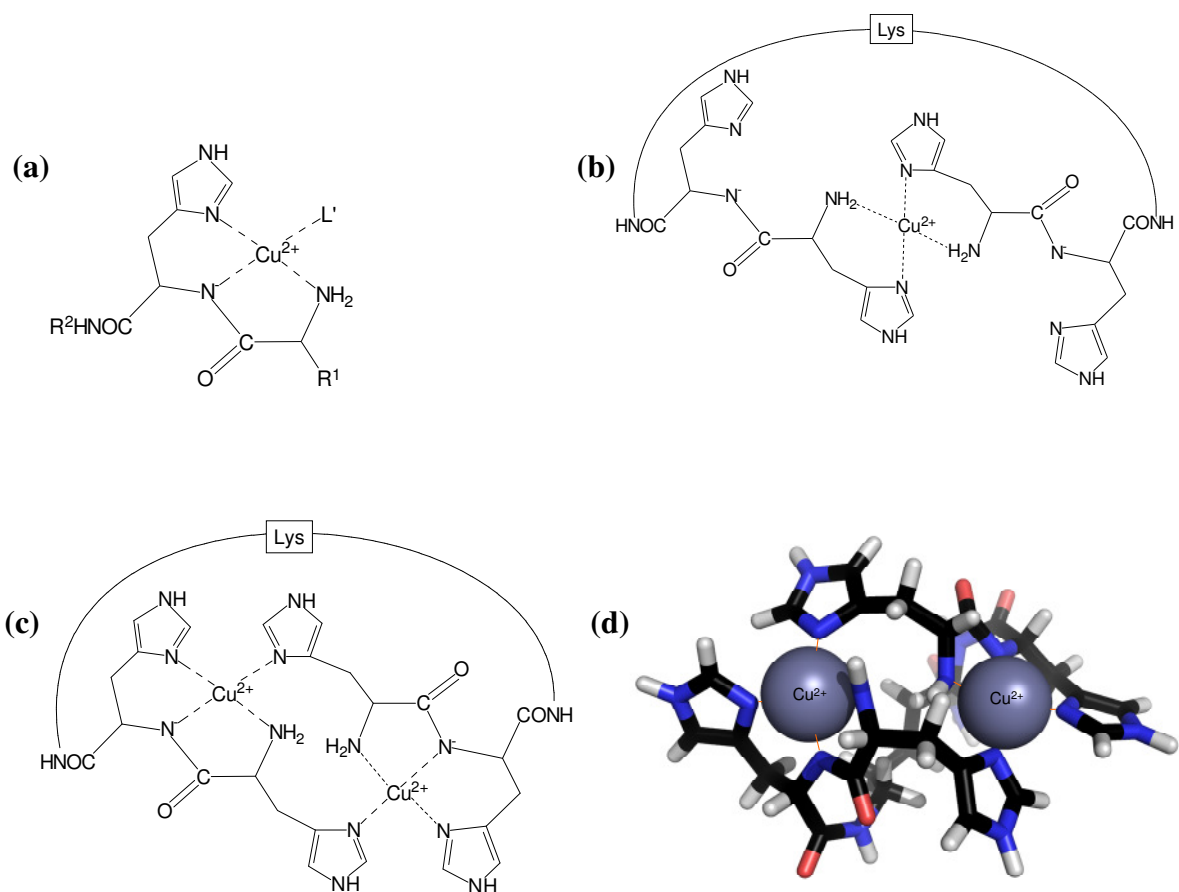
A hisztidin oldalláncok szerepét vizsgáltuk két másik ligandum-pár esetén is. A (GH)₂K és (HH)₂K ligandumokat úgy állították elő, hogy a két GH és HH egységet egy lizin aminosav oldalláncával kötötték össze (9. ábra). Az így előállított ligandumok csak N-terminális végeket tartalmaznak, amelyeket speciálisan az Alzheimer kór terápiás lehetőségeinek vizsgálata során szintetizáltak, mint lehetséges fém kelátorokat, amelyek alkalmasak lehetnek a Cu(II) és Zn(II) ionok által indukált amiloid aggregáció gátlására.



9. ábra. Az (a) H-GHKHG-H és (b) H-HHKHH-H ligandumok szerkezete

Az oldategyensúlyi és szerkezetvizsgálatot pH-potenciometriás, UV-látható spektrofotometriás, cirkuláris dikroizmu (CD), ESR-spektroszkópiai és elektronspray ionizációs tömegspektrometriai (ESI-MS) mérések kombinált alkalmazásával végeztük el. A képződő komplexek nagy mérete (lassú forgása) miatt, a megfagyasztott oldatban (77K-en) felvett ESR spektrumok kiértékeléséből nyertünk szerkezeti és a komplexek eloszlására vonatkozó adatokat. A monokomplexekben megvalósuló jellemző kötőmód a {N_{amino}, N_{amide}, N_{im}} egység háromfogú kötődése (10(a) ábra) valamint a hisztamin-típusú kötődés (10(b) ábra) amely mindkét ligandum esetén kiegészül a távoli amino vagy imidazol oldallánc makrokelát típusú koordinációjával. Kétszeres réz(II) feleslegben mindkét ligandum képes a réz(II)ionokat oldatban tartani, mivel stabilis kétmagvú komplexeket képez (10(c) és (d) ábra). In vitro vizsgálatok azt mutatták, hogy mindkét vegyület képes meggátolni a réz(II)-indukált Aβ(1-40) aggregációt, azonban nem eléggé hatékony a zinc(II)ionok megkötésében. Mindazonáltal eredményeink azt mutatták, hogy a specifikusan tervezett, két N-terminális véget tartalmazó peptidek jelentős potenciállal rendelkeznek fémionok megkötésében, és

ígéretes jelöltek lehetnek az Alzheimer' kór kezelésében, gátolva az amiloid plakkok képződését. (A. Lakatos, B. Gyurcsik, N. V. Nagy, Z. Kele, Z. Csendes, Cs. Triznya, L. Fülöp, T. Kiss, *Dalton Transaction* közlésre benyújtva, 2011)



10. ábra Jellemző $\{N_{\text{amino}}, N_{\text{amide}}, N_{\text{im}}\}$ koordinációs mód a $(GH)_2K$ és $(HH)_2K$ réz(II)komplexeiben, amely kiegészülhet az $N_{\text{amino}}, N_{\text{im}}$ or OH^- koordinációjával az ekvatoriális és N_{amino} or N_{im} csoportok koordinációjával az axiális síkban; $R^1 = H$ a $(GH)_2K$ és $=$ hisztidin oldallánc a $(HH)_2K$ ligandum esetén; R^2 a peptidok további molekularésze. (b) hisztamin-típusú koordináció a $(HH)_2K$ esetén, (c) Cu_2LH_2 komplex sematikus és (d) háromdimenziós szerkezete a $(HH)_2K$ ligandum esetén.