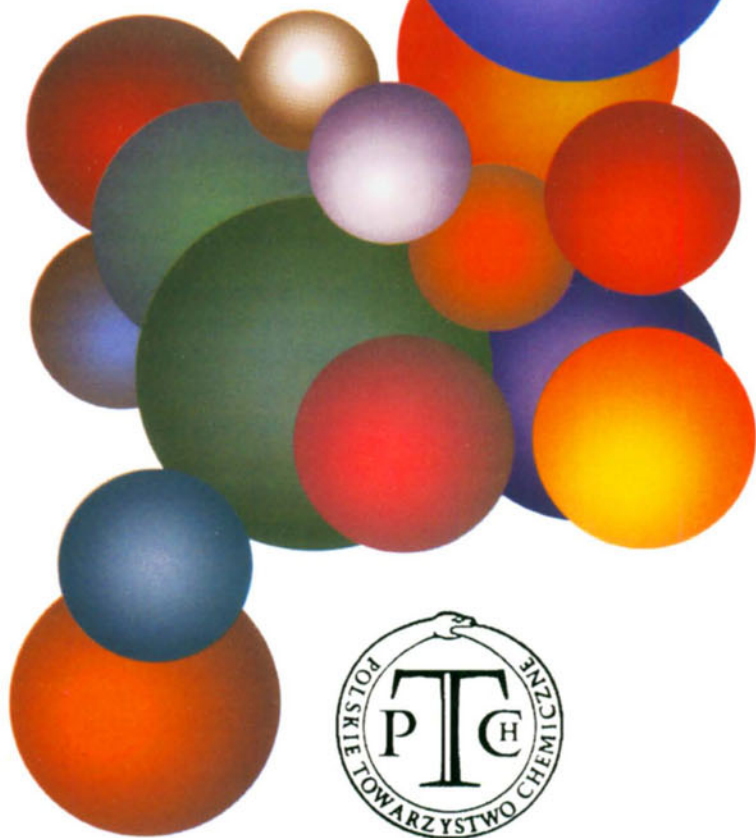


WIADOMOŚCI *chemiczne*



TECHNOLOGIA INFORMACYJNA W KSZTAŁCENIU CHEMICZNYM

INFORMATION TECHNOLOGY IN CHEMICAL EDUCATION

Hanna Gulińska

*Zakład Dydaktyki Chemii, Wydział Chemii UAM
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań*

Abstract

Wprowadzenie

1. Rola, funkcje i skuteczność edukacyjna programów multimedialnych w kształceniu chemicznym
2. Możliwości obrazowania multimedialnego wybranych zagadnień chemicznych na różnych poziomach edukacyjnych
3. Podręcznik drukowany i multimedialny w stacjonarnym i zdalnym kształceniu chemicznym
4. Strategia zdalnego kształcenia chemicznego
5. Nowe narzędzia sprawdzania kompetencji w zakresie chemii

Podsumowanie i perspektywy

Piśmiennictwo cytowane



Profesor UAM, dr hab. Hanna Gulińska ukończyła studia na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu. Pracę doktorską pt. „Oddziaływanie międzycząsteczkowe trójalkoksylanów z rozpuszczalnikami organicznymi i ich wpływ na reaktywność wiązania Si-H w obecności elektrofilowych odczynników” obroniła w 1982 roku. Stopień dr habilitowanego otrzymała w 1997 na podstawie pracy habilitacyjnej pt. „Strategia multimedialnego kształcenia chemicznego”. Uzyskane wyniki badań doprowadziły do opracowania modelu kształcenia przyrodniczego z wykorzystaniem nowych technologii kształcenia. Jest autorem

i współautorem podręczników chemii, których integralnym elementem są płyty CD-ROM zawierające: filmy, animacje ilustrujące przebieg procesów chemicznych, dynamiczne i trójwymiarowe modele oraz zadania problemowe i gry edukacyjne. Jest również autorką prac naukowych opisujących efektywność różnych metod wizualizacji w nauczaniu chemii. Jej działania związane z multimedialnym wspomaganie kształcenia i tworzeniem jego strategii mają dostrzegalny wymiar zarówno w naszym kraju, jak i w ośrodkach zagranicznych, co owocuje zakrojonymi na szeroką skalę badaniami komparatystycznymi.

ABSTRACT

In order to teach effectively and efficiently, one has to combine various elements of depiction and visualization, as well as to create emotional, imaginative and sensational linkages in the learner's mind. Visualization allows to get through to one's real, inner, and subjective emotions, sensations and images. It is sometimes said that our eyes are an interface between our brain and the outside world. A good example of putting this assumption into practice can be found in the educational packages backing up chemistry curricula at different educational levels. The multimedia software designed or code signed by the author of the article comprises either succinct printed textbooks with integral CDs, or multimedia textbooks available both on CDs and on the Internet.

Each of the CD multimedia lessons contains animations and simulations of chemical processes and phenomena, dynamic and three-dimensional element and compound models, tests and problem solving tasks, as well as film sequences illustrating chemical experiments. Not only do those films allow the user to watch respective fragments of a given experiment in close-up so as to analyze interrelationships between them, but they can also be played repeatedly, thus making the user memorize the sequence of laboratory activities or the course of industrial processes. Such presentations of experiments can help teachers and students who are, for some reasons, unable to carry them out on their own. They are also an inspiration for those willing to carry out new experiments and, above all, an aid to those looking for didactic means to explain complex questions. What is important is that all experiments presented on the CDs are only those that can be always carried out safely, successfully and economically. Their visualizations create images of the course of chemical experiments in the learner's mind, which, though no substitute for their actual replication, can still be a valuable source of knowledge.

The article additionally presents the interactive board as means of creating and saving interactive educational images, a tool of interactive evaluation of knowledge and skills, a field for playing educational games, a device helping the teacher organize his work, a medium of remote teaching, and a his inspiration for carrying out and interpreting experiments.

Keywords: chemistry, didactics of chemistry, information technology, multimedia textbooks.

Słowa kluczowe: chemia, dydaktyka chemii, technologia informacyjna, podręczniki multimedialne

WPROWADZENIE

W wyidealizowanym modelu kształcenia przyrodniczego studenci (uczniowie) mają bliski kontakt z eksperymentem chemicznym czy biologicznym i chętnym do pomocy nauczycielem. W rzeczywistości liczba prowadzonych prac eksperymentalnych na każdym poziomie kształcenia jest zubożona do bezpiecznych i tańszych, a liczebność grup ogranicza bezpośredni kontakt uczących się z nauczycielem prowadzącym zajęcia. Nauczanie jest często realizowane metodami podającymi, a laboratorium przystosowuje się do zilustrowania tych treści, które były poruszane w czasie wykładu. Niestety, wykład bywa często nieefektywny ze względu na różny poziom percepcji uczących się, których praca dotyczy przyjęcia informacji w postaci bodźców wzrokowo-słuchowych za pośrednictwem odpowiednich analizatorów oraz notowania treści, które postanowili zapamiętać. Poziom ich uwagi obniża się szybko i po 15 minutach spada do 60% faktycznie uważających. Liczba słuchaczy rzeczywiście zainteresowanych wynosi zazwyczaj poniżej 50% całego audytorium [1]. Zainteresowanie to można z pewnością podnieść, zachęcając słuchaczy do udzielania odpowiedzi na pytania lub aktywnego udziału w pracach wynikających ze stosowania różnego rodzaju mediów. Cytowane dalej badania wykazały, że korzystanie na wykładzie z prezentacji przebiegu eksperymentów z zakresu kinetyki chemicznej (ich oglądanie, opisywanie, analizowanie wyników, określanie równań szybkości reakcji) przyczynia się do osiągnięcia zdecydowanie lepszych rezultatów niż w sytuacji, gdy studenci najpierw słuchali wykładu, a zajęcia w laboratorium odbywali po upływie pewnego czasu [2]. Odstęp między wykładem a jego ilustracją powoduje bowiem, że wielu studentów nie rozumie powiązania teorii z praktyką. Również przebieg zajęć laboratoryjnych w pracowni bywa niekiedy daleki od przyjętego modelu. Znaczną część czasu przeznaczają się na czekanie na potrzebny sprzęt i odczynniki, a asystenci mają niewiele możliwości dyskusji z każdym z uczących się. Ustalono, że również i w tym przypadku włączenie do obowiązującego systemu prac laboratoryjnych oprogramowania multimedialnego może przyczynić się do złagodzenia obserwowanych trudności. Eksperyment pedagogiczny prowadzony w University of Northern Colorado oraz University of Illinois at Urbana-Champaign (USA) polegał na tym, że przez kilka kolejnych lat studenci (w liczbie dwóch tysięcy) przez jeden semestr, korzystając z kilkudziesięciu komputerów w sieci, wykonywali połowę tych zajęć, które były wcześniej realizowane w trybie laboratoryjnym. Mieli oni na przemian zajęcia laboratoryjne i komputerowe (oparte o program multimedialny *Odkrywanie chemii*), dzięki czemu część przestrzeni laboratoryjnej została uwolniona, co wpłynęło korzystnie na finanse uczelni, szczególnie te związane ze zużyciem odczynników chemicznych [3]. Korzystanie z multimedialnych umożliwiło stawianie hipotez i ich praktyczną weryfikację, a także sprawdzanie umiejętności manualnych, takich jak np. miareczkowanie. Zajęcia multimedialne zwolniły nauczycieli z ich niektórych czynności dydaktycznych, zatem mogli więcej czasu poświęcić indywidualnym kontaktom ze studentami. Uczący się nie

musieli pisać długich sprawozdań, a ich praca przebiegała sprawniej, gdyż byli lepiej przygotowani do wykładów i ćwiczeń. Grupy korzystające z programów multimedialnych i pomocy prowadzącego uzyskały 83% poprawnych odpowiedzi w teście kontrolnym, grupy przygotowujące się do wykonania eksperymentu wyłącznie poprzez pracę z programem multimedialnym 59% oraz grupy pracujące w sposób tradycyjny w laboratorium chemicznym 80% odpowiedzi dobrych.

Techniki multimedialne, zapewniające aktywne uczestnictwo uczniów i studentów, efektywne wykorzystanie ich czasu oraz dające możliwość indywidualnej kontroli stały się z pewnością inspiracją do wielu zmian w technologii kształcenia chemicznego. Mówi się, że są i będą one katalizatorem zmian edukacji chemicznej. Nowa metodologia nauczania chemii wystawia uczących się na działanie wielu bodźców, zmusza ich do dokonywania wyborów, integruje wszystkie typy doświadczeń nabytych w trakcie procesu nauczania, ponieważ ogólne reguły i prawa mogą być prezentowane i ilustrowane w tym samym czasie. Mogą oni także odkrywać reguły i zasady poprzez prowadzenie symulowanych eksperymentów, ich konkluzje są wówczas weryfikacją postawionych wcześniej hipotez [4].

Rozwój oprzyrządowania i oprogramowania jest jednym z głównych czynników wpływających na typ i zakres nauczania przy użyciu mediów. Filmy wideo, grafika komputerowa, animacje pozwalają obserwować przebieg reakcji chemicznych, a mysz i ekran dotykowy umożliwiają bezpośredni kontakt z tym, co dzieje się na ekranie. Ograniczenia leżą więc nie w jakości sprzętu, lecz we właściwej strukturze programów multimedialnych, która powinna zapewniać łatwość interakcji użytkowników z przedstawianymi treściami i wymuszać ich wielokierunkową pracę. Szybki dostęp do każdej informacji, bez względu na sposób jej wizualizacji, daje uczącym się pełną kontrolę nad programem i eliminuje przerwy w ich pracy wynikające z niedoskonałości technicznych. W ten sposób nawet mało wprawny użytkownik komputera może skupić uwagę na treściach nauczania, zamiast, jak to miało miejsce dotąd, na technice jego prezentacji. Takie i podobne eksperymenty zachęcają do efektywnego korzystania z multimediiów w nauczaniu i trudno pogodzić się z tym, że nadal wiele zajęć dydaktycznych jest prowadzonych metodą słowną, znaną na długo przed wynalezieniem pisma, a przecież to właśnie przedmioty przyrodnicze są dziedziną, która może w pełni wykorzystać możliwości nowej technologii medialnej [5].

1. ROLA, FUNKCJE I SKUTECZNOŚĆ EDUKACYJNA PROGRAMÓW MULTIMEDIALNYCH W KSZTAŁCENIU CHEMICZNYM

Rozważania nad modelem multimedialnego kształcenia chemicznego winny być wyprowadzone z określonych wcześniej celów dydaktycznych danego przedmiotu [6]. W pierwszym rzędzie należy przedyskutować do jakich celów i jakich zagadnień program multimedialny będzie używany, kiedy i w jaki sposób, a także

dla jakich odbiorców. Przedstawione wyniki badań pozwalają twierdzić, że programy multimedialne mogą stanowić w nauczaniu przedmiotów przyrodniczych samodzielną metodę kształcenia, przydatną zwłaszcza w uczeniu się indywidualnym. Wybrane elementy systemów multimedialnych lub wręcz całe systemy, mogą być oczywiście wykorzystywane w innych sytuacjach dydaktycznych jako środki dydaktyczne, zwłaszcza w charakterze przyrządów wspomagających prowadzenie pomiarów w czasie rzeczywistym. Jednakże biorąc pod uwagę omówione już walory i możliwości edukacyjne systemów multimedialnych, traktowanie ich tylko jako środka dydaktycznego byłoby niewłaściwym uproszczeniem. Warunkiem powodzenia przyjętych założeń jest, by przygotowane systemy multimedialne umożliwiały uczenie się przez przyswajanie, odkrywanie, przeżywanie lub działanie praktyczne.

Multimedia mogą stanowić obudowę wykładów i ćwiczeń lub same generować poszczególne zajęcia dydaktyczne. W wielu krajach utworzono szkoły w sieci komputerowej, nierzadko o zasięgu międzynarodowym. Nauka obejmuje najczęściej problematykę uniwersalną, związaną z ekonomią, prawem międzynarodowym, ochroną środowiska i szeroko pojętą ekologią [7]. Przeprowadzenie cyklu wykładów tego typu z chemii fizycznej dla studentów chemii o specjalizacji biochemia lub chemia środowiska, w czasie których korzystano z pakietu multimedialnych programów wykazało, że taki system nauczania, wskutek zastosowania interesujących metod ilustracji treści, przyczynia się do wzrostu zainteresowania studentów treścią wykładów [8]. Celem wspomnianego eksperymentu było sprawdzenie, czy zastąpienie wykładu konwencjonalnego przez multimedialny spowoduje przełamanie negatywnego nastawienia niektórych studentów do trudnych zagadnień chemii fizycznej. Zastosowanie nowoczesnej techniki przygotowania treści wykładów, a następnie ich prezentacji umożliwiło prowadzenie wykładu dla kilkuset osób jednocześnie. Wyposażenie słuchaczy w kserokopie, przedstawiające treści mieszczące się na kolejnych ekranach komputerowych pozwoliło na zwiększenie koncentracji uwagi studentów, ale spowodowało także w wielu przypadkach pasywne oglądanie programu multimedialnego. Rejestracja wykładów w systemie wideo stworzyła możliwość wielokrotnego z nich korzystania przez bibliotekę w ramach pracy indywidualnej. Największy sukces dydaktyczny osiągnięto w przypadku tych partii wykładów, w których wykorzystano animacje komputerowe, trójwymiarową grafikę komputerową oraz obraz wideo. Słabością eksperymentu był fakt, że wykłady nie miały charakteru interakcyjnego, a wykładowca w czasie trwania wykładu miał niewielką możliwość wpływu na jego strukturę. Słuchacze uważali, że ich kontakt z prowadzącym został ograniczony, gdyż ze względu na duże tempo prezentacji, czas przeznaczony na zadawanie pytań był niewielki. Okazało się, że przygotowanie cyklu wykładów multimedialnych jest na tyle czasochłonne, że może przynieść oczekiwane rezultaty dopiero w przypadku większych grup studenckich i wielokrotnego wykorzystania opracowanych materiałów. Uznano, że dopiero umieszczenie wykładów w sieci komputerowej zapewni szerokie ich wykorzystanie. Doniesienia te przekonują, że przygotowywanie materiałów multimedialnych musi wią-

zać się z szeroko pojętymi badaniami nad ich przydatnością, a później skutecznością w systemie nauczania, w którym mają być stosowane.

Środki multimedialne organizują pracę użytkownikowi, aktywizują jego działania i na nie reagują, zwiększają wysiłek umysłowy, sprowadzając nauczanie do kierowanego odkrywania. Zapewniają sprzężenie zwrotne podnoszące stopień rozumienia, przyczyniają się do wzrostu motywacji uczenia się, a w większości przypadków – do podnoszenia efektywności kształcenia. Stwarzają zatem możliwości indywidualnej pracy zarówno studentom słabym, jak i wybitnie uzdolnionym. Studentom niepełnosprawnym lub tym, którzy z jakichś powodów przerwali naukę, umożliwiają kontynuację uczenia się zgodnie z własnym tempem pracy i posiadanymi zdolnościami [9].

Przykładem programu multimedialnego o wymienionych walorach, a więc ułatwiającego zrozumienie i zapamiętanie zasad zapisywania równań reakcji chemicznych jest program *MAJ – Metody analizy jakościowej*, przygotowany z myślą o studentach pierwszych lat studiów chemicznych, którym uzupełnianie równań reakcji sprawia problemy [10]. Na strukturę programu składają się następujące elementy:

- **tryb prezentacji** (równania reakcji przedstawione w sposób pełny);
- **tryb ćwiczeniowy**, wymagający uzupełnienia równań reakcji obejmujących pięć grup kationów i siedem grup anionów; każde równanie reakcji należące do pakietu wzbogacono o opis toku analizy i zdjęcia produktów;
- **blok sprawdzający umiejętności**;
- **blok wiadomości teoretycznych**, zawierający podstawowe informacje dotyczące uzupełniania równań reakcji, a także krótkie opisy grup analitycznych oraz słowniczek trudniejszych pojęć.

Część ucząca programu pozwala na zapoznanie się z odpowiednimi tokami analiz, elementami wizualizacji przebiegu reakcji. Przed rozpoczęciem pracy użytkownik może wybrać interesującą go grupę analityczną jonów. Kolejną możliwością to przypomnienie wiadomości dotyczących danej grupy albo przejście do ćwiczeń polegających na uzupełnianiu równań reakcji. Należy wspomnieć, że student uzupełnia nie tylko współczynniki w równaniach reakcji, ale również określa jej produkty. W przypadku błędnego uzupełnienia równania, możliwe jest skorzystanie z pomocy programu. Blok kontrolny ma formę testu, gdzie odpowiadający musi uzupełnić losowo wybrane równania reakcji. Jeden test zawiera 20 równań reakcji. Po wykonaniu zadań program oblicza stosunek liczby poprawnie uzupełnionych równań reakcji do liczby wszystkich równań reakcji występujących w teście i na tej podstawie wystawia ocenę. W trakcie rozwiązywania testu korzystanie z pomocy komputera nie jest dostępne, natomiast po uzupełnieniu równania i jego zatwierdzeniu pojawia się komunikat informujący o poprawności wykonanych działań.

Program *MAJ* ma strukturę umożliwiającą samodzielne poszerzanie bazy dostępnych reakcji nawet przy niewielkiej znajomości języka programowania. Będzie to korzystne dla tych studentów, którzy chemią analityczną interesują się w mniej-

szym zakresie i mają kłopoty z zapisywaniem równań reakcji, natomiast wykazują zdolności informatyczne. Można bowiem mieć nadzieję, że tworząc własne komputerowe zbiory równań reakcji, będą równocześnie ćwiczyć określone sprawności chemiczne.

Podobną rolę dydaktyczną wyznaczono programowi *Reakcje utleniania i redukcji* [11]. Program ma strukturę blokową, której funkcjonalność oparto o znany rozkład pomieszczeń laboratoryjnych, co czyni pracę przy komputerze bliższą warunkom naturalnym. Dzięki temu zastosowane symulacje i animacje oraz prezentowane sekwencje filmowe mogą łatwiej znaleźć swoje odniesienia w czynnościach wykonywanych w rzeczywistej pracowni. Pomieszczenia główne to: PRACOWNIA CHEMICZNA, w której możliwa jest symulacja przebiegu wybranych eksperymentów chemicznych, POKÓJ PRZYGOTOWAWCZY, gdzie następuje dobranie sprzętu i odczynników potrzebnych do wykonania eksperymentu, BIBLIOTEKA, gdzie zgromadzono informacje na temat przebiegu reakcji utleniania i redukcji, prezentowane z zastosowaniem różnych technik wizualizacji [12].



Rysunek 1. Fragment programu multimedialnego Reakcje utleniania i redukcji

Reasumując: warto wrócić do tego, co już powiedziano wcześniej – niezależnie od walorów przygotowanych programów multimedialnych, faktyczna rola mediów w edukacji przyrodniczej zależy od koncepcji pedagogicznej, od cech i możliwości technicznych mediów oraz od ich użytkowników: nauczycieli i uczniów [13]. Wiele faktów wskazuje na to, że nauczyciele, którzy nie zechcą zaakceptować mediów w tych nowych rolach edukacyjnych, nie będą akceptowani również przez uczniów, którzy już dziś są dziećmi mediów. Mimo to, wielu nauczycieli, także akademickich, unika stosowania nowych środków technicznych w procesie nauczania, tłumacząc się brakiem czasu i możliwości technicznych lub twierdząc, że nauczyciela nie jest w stanie zastąpić żadna technika. A przecież do szkół wyższych przychodzą uczniowie, którzy mają własne komputery i oczekują od swoich nauczycieli dalszego rozwoju w tej dziedzinie. Mogą oni zrobić znaczące postępy w nauce, jeśli poświęcą odpowiednią ilość czasu na samodzielną pracę z udziałem edukacyjnych programów multimedialnych. Dopiero wtedy czas przeznaczony na zdobywanie

wykształcenia będzie można całkowicie uzależnić od indywidualnych możliwości ucznia i studenta.

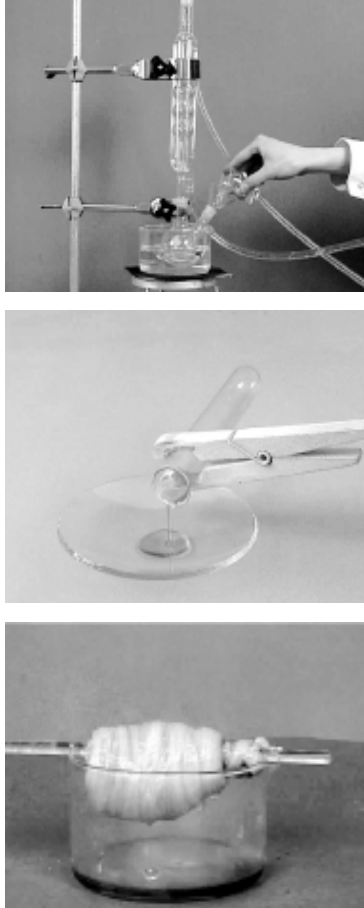
2. MOŻLIWOŚCI OBRAZOWANIA MULTIMEDIALNEGO WYBRANYCH ZAGADNIENÍ CHEMICZNYCH NA RÓŻNYCH POZIOMACH EDUKACYJNYCH

Ważną rolę w kształtowaniu umysłu i zachowań człowieka odgrywają środki wizualne, o czym świadczy choćby stare chińskie powiedzenie, że „jeden obraz wart jest więcej niż tysiąc słów”. Mówi się również, że to oczy stanowią *interfejs* między naszym mózgiem a realnym światem. Komunikaty czysto werbalne są trudniejsze do przyswojenia od komunikatów wizualnych. Porównując percepcję informacji pochodzących z różnych źródeł zauważono, że w wyniku oglądania rysunków człowiek przyswaja trzykrotnie więcej informacji niż w wyniku czytania tekstu. Nowoczesne publikacje periodyczne przeznaczone dla masowego odbiorcy, a także podręczniki szkolne zawierają coraz więcej ilustracji przekazujących informacje kosztem zmniejszenia objętości tekstu. Programy multimedialne stanowią kolejny krok w kierunku zwiększenia udziału informacji wizualnych w procesie kształcenia: pozwalają ilustrować wiele procesów obrazami nie tylko statycznymi, lecz również ożywionymi, czyli animacjami. Postęp techniki komputerowej pozwala w stosunkowo prosty sposób otrzymywać obrazy stwarzające złudzenie trójwymiarowości, co ułatwia wizualizację efektów przestrzennych. Być może właśnie obecność dużego udziału informacji audiowizualnych w programach multimedialnych czyni z nich tak efektywny środek w procesie nauczania-uczenia się [14].

Wizualizacja treści nauczania jest bardzo istotna dla nauczyciela zmierzającego do wzbogacenia wykładanych przez siebie tematów. Dostępne w krajach zachodnich poradniki dydaktyczne, np. *Visualizing chemistry: investigation for teachers*, przedstawiają sto możliwych sytuacji badawczych, których celem jest ilustrowanie wybranych zagadnień chemii, jak np. przemiany energetyczne, rozpuszczalność, kinetyka, elektrochemia, redoks itd. oraz fascynowanie uczących się przedstawianymi problemami poprzez ich wizualizację [15].

Poszukiwanie efektywnych metod wizualizacji wybranych zagadnień chemicznych doprowadziło w ostatnich latach do opublikowania w różnej formie wielu cennych materiałów multimedialnych. Przykładem może być program *Mechanizmy reakcji chemicznych*, zawierający nowoczesne rozwiązania medialne: animacje z komentarzem lektora, ukazujące kolejne etapy reakcji, filmy ilustrujące przebieg eksperymentów chemicznych, prowadzących do uzyskaniażądanego produktu, interaktywne i trójwymiarowe modele otrzymanych związków chemicznych, testy i zadania problemowe [16]. Program został opracowany z myślą o uczniach szkół ponadgimnazjalnych, studentach wydziałów chemicznych i przyrodniczych [17] oraz nauczycielach studiów podyplomowych [18]. Ma strukturę otwartą, co umożliwia

jego modyfikację (m.in. przez dodanie kolejnych mechanizmów reakcji), a w jego skład wchodzi następujące moduły:

Moduły programu multimedialnego <i>Mechanizmy reakcji chemicznych</i>	Przykładowe okna filmowe
Bromowanie alkanów Bromowanie alkenów Bromowanie aniliny Bromowanie benzenu Dehydratacja etanolu Depolimeryzacja polietylenu Fenyloamina Hydroliza kwasowa octanu etylu Hydroliza zasadowa octanu etylu Nitrowanie benzenu Otrzymywanie 6-metylo-2-tiouracylu Otrzymywanie acetyloglicyny Otrzymywanie boranu trietylu Otrzymywanie eozyny Otrzymywanie etanolanu sodu Otrzymywanie fluoresceiny Otrzymywanie hydratu pinakonu Otrzymywanie kwasu barbiturowego Otrzymywanie kwasu benzooesowego ze zw. Grignarda Otrzymywanie kwasu hipurowego Otrzymywanie mydła Otrzymywanie nylonu Otrzymywanie oksymu cykloheksanowego Otrzymywanie oranżu metylowego Otrzymywanie pinakoliny Polimeryzacja metakrylanu metylu Polimeryzacja styrenu Poliuretany Reakcja estryfikacji kwasów karboksylowych Reakcja etanolu z bromowodorem Reakcja kwasowej hydrolizy estrów – octan etylu Reakcja zasadowej hydrolizy estrów Reakcja zmydlenia tłuszczów Synteza aspiryny w obecności katalizatora kwasowego Synteza aspiryny w obecności wodorotlenku sodu Synteza żywicy fenyloowo-formaldehydowej Synteza żywicy mocznikowo-formaldehydowej Zbojętnianie kwasu mrówkowego	

Program *Mechanizmy reakcji chemicznych* poddany był badaniom pedagogicznym z wykorzystaniem systemu ankietarskiego VerdiCT oraz nowego środka dydaktycznego, jakim jest tablica interaktywna StarBoard [19, 20]. Zastosowanie osiągnięć technologii informacyjnej pozwoliło na dokładne omówienie przebiegu mechanizmów reakcji chemicznych i zaznaczenie istotnych elementów w trakcie oglądania animacji. Prezentacja programów multimedialnych na tablicy interaktywnej daje możliwość kontrolowania przebiegu pracy wszystkich uczących się, wspólnego rozwiązywania testów i zadań, w przeciwieństwie do zajęć prowadzonych w pracowni komputerowej, gdzie indywidualna praca studentów prowadzi często

do wyboru dróg chaotycznych, wymagających dłuższej interwencji prowadzącego. W zależności od sytuacji, prowadzący może wyjaśniać trudniejsze partie materiału. Co więcej, formułując odpowiedzi na pytania uczący się aktywnie korzysta z posiadanej wiedzy, a z badań psychologicznych jednoznacznie wynika, że aktywne posługiwanie się informacjami sprzyja ich przyswajaniu i utrwalaniu skuteczniej niż nawet wielokrotne, ale bierne czytanie i powtarzanie. Stwierdzono, że zastosowanie nowego środka dydaktycznego, jakim jest tablica interaktywna, pobudza wielostronną aktywność umysłową i zainteresowania uczących się, oddziałuje na ich zmysły, a przede wszystkim wspomaga warsztat pracy nauczyciela [21].

W nauczaniu przedmiotów przyrodniczych znaczącą rolę odgrywa opis przestrzenności obiektów i zjawisk. Obraz przestrzenny powoduje zmianę sposobu myślenia i pobudza proces twórczego działania. Dzięki poznaniu właściwości oka ludzkiego i psychofizycznych aspektów procesu widzenia, opracowano metody tworzenia płaskich obrazów, które oglądane w pewien szczególnie sposób wywołują złudzenie ich trójwymiarowości. Obrazy takie nazywane są stereoskopowymi i stanowią najlepszą, jak dotąd, wizualną ilustrację relacji przestrzennych (można przypuszczać, że rozwój holografii spowoduje opracowanie konkurencyjnego sposobu wizualizacji tych relacji; można również przypuszczać, że dalszy rozwój technologii komputerowej spowoduje większe możliwości tworzenia złudzeń w przestrzeni wirtualnej). Spośród zagadnień chemicznych, które warto zilustrować korzystając z tej technologii, można wymienić zagadnienia sieci krystalicznych, opis kształtu kryształów i odległości jonowych, problemy stereochemii (w tym izomerii optycznej i chiralności, budowy węglowodanów, białek, kwasów nukleinowych itp.). Do tematów takich można zaliczyć również teorię orbitali atomowych i cząsteczkowych wraz z teorią orbitali zhybrydizowanych, a także strukturę wielu związków chemicznych i mechanizmy reakcji, układy koloidowe czy odmiany alotropowe i polimorficzne. W tradycyjnych podręcznikach stereochemii, krystalografii czy chemii organicznej stosowano tzw. stereogramy – były to dwa rysunki, pokazujące ten sam przedmiot (np. wzór strukturalny) pod nieco innym kątem lub zbiory pozornie przypadkowych kropek; podczas jednoczesnego obserwowania obu części tworzących parę stereograficzną powstawało złudzenie przestrzenności oglądanego obiektu. Jednak wiele osób nie jest w stanie tak sterować świadomie ustawieniem oczu, by każdym z nich widzieć inny rysunek pary, wskutek czego albo widziany obraz pseudoprzestrzenny jest nieostry, albo w ogóle nie osiąga się efektu przestrzenności, co oczywiście ogranicza zastosowania edukacyjne stereogramów [22]. Łatwiej uzyskać złudzenie trójwymiarowości przez nałożenie na siebie obu obrazów (z niewielkim przesunięciem względem siebie) i ich separację poprzez użycie koloru: jeden obraz pary jest czerwony, a drugi zielony (lub niebieski), a do oglądania stosuje się okulary z filtrem czerwonym po jednej, a zielonym (lub niebieskim) po drugiej stronie. W ten sposób (dzięki odcięciu jednego z obrazów przez każdy filtr), lewe oko widzi jeden obraz, a prawe drugi. W wyniku procesów zachodzących w mózgu obraz postrzegany jest jako przestrzenny. Tak przygotowane rysunki

stereograficzne (anaglify) stosuje się w niektórych książkach do wizualizacji zjawisk oraz struktur cząsteczkowych, a także w programach komputerowych i multimedialnych jako obrazy o dużej sile oddziaływania [23]. Dynamiczne obrazy i modele anaglifowe opracowano dla potrzeb kilku omawianych dalej podręczników multimedialnych, jak np. *Chemia z elementami ekologii* i *Ciekawa Chemia*. Ich animacja znacznie zwiększa możliwości ilustrowania omawianych zagadnień przestrzennych i umożliwia oglądanie ich pod różnymi kątami, przez co podnosi realizm prezentowanego materiału oraz dostarcza więcej informacji o omawianej sytuacji.

3. PODRĘCZNIK DRUKOWANY I MULTIMEDIALNY W STACJONARNYM I ZDALNYM KSZTAŁCENIU CHEMICZNYM

Idąc z duchem czasu i rozwojem technik komputerowych, coraz większa liczba autorów zabiega o wyposażenie podręczników w dyski CD-ROM, których elementy multimedialne mają pomóc w wizualizacji tych problemów, które na danym poziomie kształcenia odgrywają decydującą rolę. Rozwiązania te, choć często błyskotliwe, niejednokrotnie kuszące barwami i ruchem, nie spełniają przyjętych zasad i metod nauczania. Od środków dydaktycznych tworzących obudowę podręcznika wymaga się bowiem, aby swoimi treściami i formami prezentacji nie zakłócały procesu kształcenia, lecz bogaciły go i rozszerzały możliwości jego realizacji [24].

Zastąpienie tradycyjnego podręcznika drukowanego podręcznikiem multimedialnym otwiera szereg nowych dróg działania, dostępnych w nowej technologii kształcenia. Podręcznik taki, oprócz funkcji informacyjnej, winien pełnić funkcję kierującą i badawczą, sprowadzającą się do wskazywania dróg samodzielnej pracy użytkownika i rozwijania twórczego myślenia; funkcję ćwiczeniową i stymulującą, polegającą na zachęcaniu użytkownika do realizacji zadań i ćwiczeń kształcących jego sprawności oraz funkcję samokształceniową, określaną jako ułatwianie użytkownikowi prowadzenia autokontroli i samooceny. Podręcznik elektroniczny pozwala na zebranie całości materiału merytorycznego na małej przestrzeni, na którą składa się stacja dysków oraz dysk CD-ROM, zapewniający pracę w systemie interakcyjnym. Nowe nośniki informacji, takie jak dyski CD-ROM lub DVD podnoszą nie tylko jakość przekazu informacji, ale usprawniają dostęp do dowolnego fragmentu zarejestrowanych treści [25]. Przykładem podręcznika elektronicznego spełniającego powyższe warunki jest *Multimedialny Leksykon Eksperymentów Chemicznych*, zamieszczony na pięciu dyskach CD-ROM [26]. Na jego strukturę składa się pięć bloków tematycznych: *Powietrze*, *Woda*, *Gleba*, *Odpady i ich użycie* oraz *Żywność i organizm człowieka*. Każdy blok zawiera kilka modułów, w których obok treści merytorycznych znajdują się pomoce naukowe w postaci animacji, dynamicznych modeli trójwymiarowych, równań reakcji chemicznych oraz sekwencji filmowych, prezentujących związane z nimi eksperymenty laboratoryjne. Zaproponowana struktura *Multimedialnego Leksykonu Eksperymentów Chemicz-*

nych umożliwia uczącym się uzyskanie informacji z każdego punktu programu. Istnieje możliwość omijania poszczególnych elementów oraz rozpoczynania pracy na dowolnym poziomie *Leksykonu*. Przez cały czas pracy użytkownika komputer reaguje na jego komunikaty i udziela potrzebnych mu odpowiedzi lub dostarcza żądanych danych. Nauczyciel (dydaktyk) może wykorzystać zawarte w *Leksykonie* sekwencje filmowe do zobrazowania trudniejszych partii materiału lub zachęcić uczących się do samodzielnego wykonania analogicznych doświadczeń. Uczniowie lub studenci mogą pogłębić swoje wiadomości i sprawdzić osiągnięcia korzystając samodzielnie z *Leksykonu* w pracowni komputerowej [27]. Wybrany do zamieszczenia w *Leksykonie* zbiór eksperymentów sprawdzono praktycznie, m.in. w celu weryfikacji możliwości technicznych ich wizualizacji. Działania te wykazały, że wiele opisów zawiera nieścisłości uniemożliwiające ich bezpieczne wykonanie. Błędy te były często powtarzane w kolejnych zbiorach doświadczeń. W związku z takimi trudnościami, część wybranych wcześniej eksperymentów odrzucono. Pozostałe eksperymenty zweryfikowano pod kątem dostępności odczynników, i sprzętu laboratoryjnego. Niektóre z opisów uproszczono, wiele ponownie odrzucono, jako zbyt trudne do wykonania w warunkach szkolnych, i w ten sposób tworzona pula eksperymentów została dodatkowo pomniejszona o kolejne opisy eksperymentów chemicznych. Wybrany ostatecznie zbiór eksperymentów chemicznych zweryfikowano w odniesieniu do opisów zawartych w podręcznikach zagranicznych i, w konsekwencji, wprowadzono do istniejących opisów poprawki i udoskonalenia lub przygotowano nowe opisy [28].



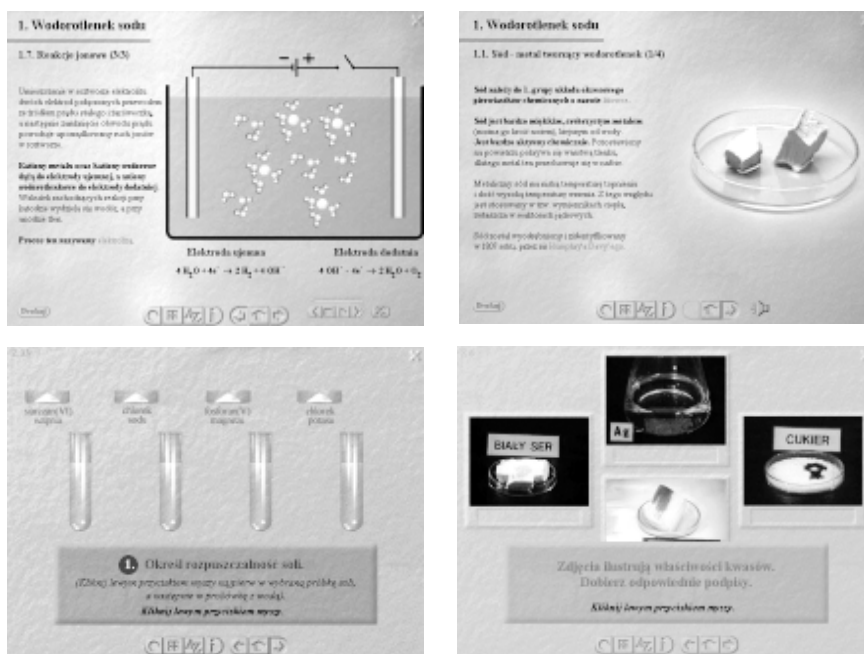
Rysunek 2. Sekwencje filmowe ilustrujące przebieg eksperymentów przyrodniczych prezentowanych w *Multimedialnym Leksykonie Eksperymentów Chemicznych*

Przedmioty typowo eksperymentalne narzucają strukturze podręcznika dodatkowe wymagania i określony kształt, a strukturę podręcznika multimedialnego determinują w szczególności. Zakłada się, że podręcznik taki winien zawierać sekwencje filmowe przedstawiające przebieg ciekawych eksperymentów oraz animacje wyjaśniające mechanizmy zachodzących wówczas reakcji. Winien dawać okazję do symulowania przebiegu procesów chemicznych, konstruowania modeli i ich

oglądania w trzech wymiarach, rozwiązywania zadań rachunkowych, a także umożliwić tworzenie wykresów, zapisywanie równań reakcji chemicznych, a nade wszystko stwarzać swym użytkownikom możliwość samodzielnego prowadzenia badań za pomocą odpowiednich urządzeń pomiarowych połączonych z komputerem poprzez różnego rodzaju interfejsy zewnętrzne. Na niższych poziomach edukacyjnych podręcznik multimedialny może zawierać zadania, których sposób rozwiązania opiera się na zasadach koneksjonistycznych, kiedy prowadzi on ucznia krok za krokiem przez sekwencje zadań aż do rozwiązania problemu. Podejście takie jest szczególnie przydatne w sytuacji, gdy podręcznik będzie wykorzystywany w pracy indywidualnej, w której uczący się może napotkać na trudności grożące zniechęceniem i odstępniem od dalszego rozwiązywania problemu. Zadania takie winny ułatwiać pracę uczącego się poprzez wskazywanie propozycji podejmowania kolejnych działań odpowiadających proponowanym algorytmom, zgodnie z którymi ma on możliwość doskonalenia umiejętności stosowania wiedzy w sytuacjach typowych. Sposób taki pozwala na systematyzowanie wiadomości i porządkowanie ich w struktury, które stanowią element wyjściowy w procesie myślenia twórczego. Aby zapewnić uczącym się możliwość stosowania zdobytych wiadomości w sytuacjach nowych, należy stymulować ich do myślenia przyczynowo-skutkowego i do uruchamiania wyobraźni. Uważa się, że do najważniejszych niebezpieczeństw związanych z korzystaniem z podręczników multimedialnych opartych na strategii koneksjonistycznej należy preferowanie związków czasowo-przestrzennych, ze szkodą dla związków logiczno-przyczynowych [29]. Wizualny sposób przedstawienia treści w podręczniku multimedialnym przyczyni się do łatwiejszego rozpoznawania wiadomości na podstawie ich cech ogólnych oraz odszukiwania relacji między nimi. Niezaprzeczalnym walorem podręcznika multimedialnego opartego na zasadach koneksjonistycznych jest łatwość jego dostosowania do strategii prowadzonych zajęć dydaktycznych, możliwość osiągnięcia przez uczących się jednakowych wyników, rozwój ich umiejętności praktycznych oraz zwiększenie trwałości wiedzy uzyskiwanej w nauczaniu. Większy obszar rozwoju własnej inwencji zapewnić może podręcznik multimedialny oparty na strategii poznawczej, który z powodzeniem może być stosowany zwłaszcza w szkole wyższej. Podręcznik oparty na strategii poznawczej daje nauczycielowi możliwość diagnozowania operatywności wiedzy uczniów oraz ich umiejętności w odniesieniu do rozwiązywanych problemów. Praca z nim wymagać będzie od nauczyciela aktywności ukierunkowanej na pobudzenie myślenia dedukcyjnego.

Przykładem podręcznika multimedialnego opartego w dużej mierze o strategię koneksjonistyczną jest *Chemia z elementami ekologii* [30]. Każdy z rozdziałów podręcznika zawiera wszystkie dostępne rodzaje obrazowania i wizualizacji treści. Podręcznik wyposażono w układ okresowy, zawierający szczegółową charakterystykę pierwiastków chemicznych wraz z ilustracjami opisującymi ich podstawowe zastosowania, oraz słownik chemiczny, umożliwiającą szybkie odszukiwanie potrzebnych informacji i ich kontekstowe wyjaśnienie. Podręcznik dysponuje także

zadaniami, ćwiczeniami i propozycjami eksperymentów chemicznych do samodzielnego wykonania oraz testami zgodnymi z aktualnymi standardami wymagań z chemii. Ćwiczenia zachęcające do samodzielnego uzupełniania współczynników w równaniach reakcji ułatwiają zrozumienie istoty procesów chemicznych. Z kolei ćwiczenia polegające na budowaniu modeli związków chemicznych z dostępnych atomów, a następnie obserwacji ich wielowymiarowych obrazów przez okulary z dwubarwnymi szybkami, zachęcają do samodzielnego modelowania, które jest jednym z istotnych elementów kształcenia przyrodniczego. Zaletą zastosowanego sposobu prezentacji jest możliwość kształtowania wyobraźni przestrzennej. Podręcznik wyróżnia się otwartością umożliwiającą kształcenie myślenia twórczego i pozostawia większe możliwości swobodnych działań osobom z niego korzystającym. Różnorodność zadań i dróg ich rozwiązania stawia medialnych czytelników w sytuacjach problemowych, wymagających nie tylko analizy i syntezy posiadanych wiadomości, ale przede wszystkim samodzielności w podejmowaniu decyzji [31]. W czasie tak zaprojektowanej pracy użytkownik spotyka się najczęściej z problemami zamkniętymi i otwartymi. Pierwsze z nich sprowadzają jego poczynania do akceptacji działań najlepszych z danego zbioru. Ich zamknięty charakter wynika z technicznej konieczności jednoznacznego określenia zakresu możliwych działań i ich ewentualnych wyników. Problemy otwarte skłaniają do podejmowania działań, w wyniku których użytkownik zaczyna poszukiwać rozwiązań odpowiadających poziomowi jego aspiracji [32].



Rysunek 3. Przykładowe strony podręcznika *Chemia z elementami ekologii*

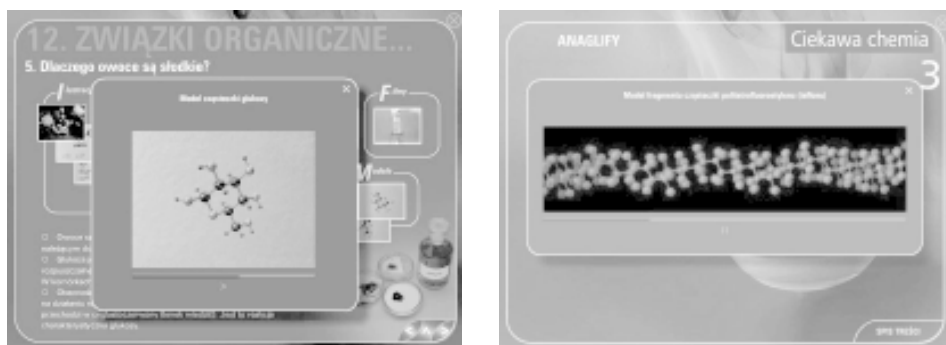
Przywiązanie do tradycji słowa drukowanego zweryfikowało w dużej mierze innowacyjne działania twórców podręczników multimedialnych. Badania wykazały bowiem, że liczba nauczycieli i uczniów traktujących podręcznik w całości multimedialny jako jedyne źródło informacji jest mniejsza niż się spodziewano. Najczęściej poprzestawano na selektywnym wybieraniu z podręcznika potrzebnych w danym momencie elementów multimedialnych (filmy, animacje, zadania interaktywne), co znakomicie wspomagało proces nauczania-uczenia się przez obrazowanie trudniejszych treści, jednak w dużej mierze niweczyło założenia twórców, iż podręcznik taki może i powinien stanowić źródło środka-metody. Elementy wizualne włączone w nieprawidłowo zaplanowaną strukturę lekcji traciły możliwość realizacji przypisanych im zadań, co niekiedy prowadziło do wypaczeń idei kształcenia interaktywnego. Z tego, a także innych powodów, w ostatnich latach zaniechano w naszym kraju tworzenia podręczników w pełni multimedialnych, stanowiących z założenia główne źródło informacji preferując tradycyjne podręczniki drukowane, do których zaczęto dołączać różnego rodzaju media, głównie na płytach CD-ROM i DVD. Obecnie, każdy prawie podręcznik szkolny i coraz więcej podręczników akademickich wyposaża się w te właśnie środki dydaktyczne. Na poziomie szkoły wyższej są one z podręcznikiem drukowanym powiązane niekiedy w sposób dość luźny, stanowiąc dla uczących platformę do samodzielnych poszukiwań, a dla wykładowców inspirację do uatrakcyjnienia wykładów i innych zajęć dydaktycznych. Na niższym poziomie edukacyjnym, w większości wypadków, ich struktura odpowiada strukturze przyjętej w podręczniku drukowanym. Znajdziemy więc na płycie działy i rozdziały tematyczne, a w nich treści ilustrowane zależnie od możliwości finansowych i inwencji twórczej autorów. Łącznikiem między obrazem medialnym a słowem drukowanym bywają coraz częściej zamieszczone w tekście ikony odsyłające do zawartości płyty lub zadań usytuowanych wcześniej w portalach edukacyjnych danego wydawnictwa. Do podręczników spełniających opisane wymogi należą m.in.: *Chemia i my* (podręcznik z płytą, zeszyty dla ucznia, poradniki dla nauczyciela, a przede wszystkim bogate i ciągle aktualizowane wsparcie internetowe) [33], *Chemia w gimnazjum* (podręcznik, zeszyty dla ucznia, poradniki dla nauczyciela i wiele materiałów dodatkowych, w tym zbiory zadań) [34], *Chemia – podręcznik dla liceum ogólnokształcącego, liceum profilowanego i technikum* (poziom podstawowy i rozszerzony) [35].

Najnowszy podręcznik – *Ciekawa Chemia* (trzy podręczniki z płytami CD-ROM każdy, poradniki z płytami, zeszyty ćwiczeń oraz scenariusze lekcji powtórzeniowych i zadania konkursowe w zapisie multimedialnym) to nowoczesny, w pełni interaktywny pakiet uwzględniający wymogi współczesnej dydaktyki, nowe metody nauczania oraz potrzeby ucznia i nauczyciela [36]. Czytelne i ciekawe rozwiązania graficzne, zauważalne zarówno w sferze drukowanej, jak i medialnej, zachęcają do korzystania z technologii informacyjnej. Na płycie dołączonej do podręcznika *Ciekawa Chemia* uczący się znajdzie filmy i animacje ilustrujące przebieg zjawisk i procesów chemicznych, modele związków chemicznych, animacje

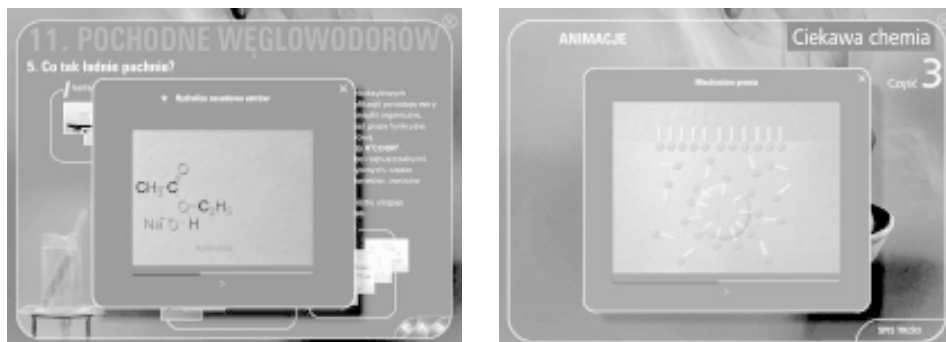
mechanizmów reakcji chemicznych, symulacje procesów chemicznych (dysocjacji, elektrolizy), technologicznych (produkcja papieru, tworzyw sztucznych, sera, mleka, piwa, wina) i środowiskowych (fotosynteza, eutrofizacja, efekt cieplarniany) oraz interaktywny słownik chemiczny, nowy układ okresowy pierwiastków chemicznych [37].



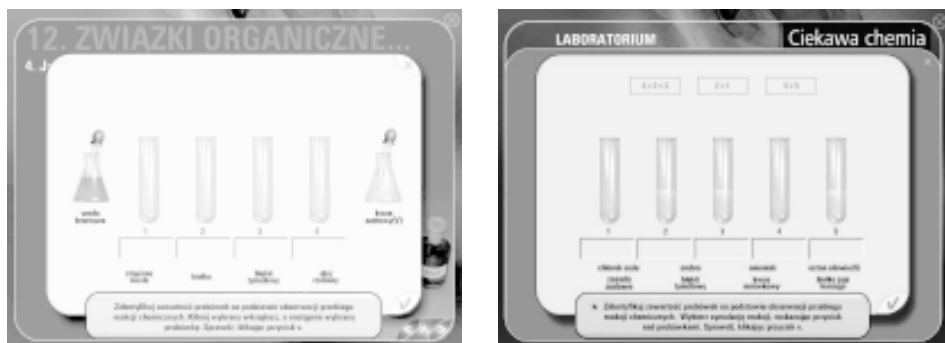
Rysunek 4. Filmy i animacje ilustrujące i wyjaśniające przebieg procesów chemicznych



Rysunek 5. Dynamiczne i trójwymiarowe modele związków chemicznych



Rysunek 6. Dynamiczne mechanizmy reakcji i procesów chemicznych

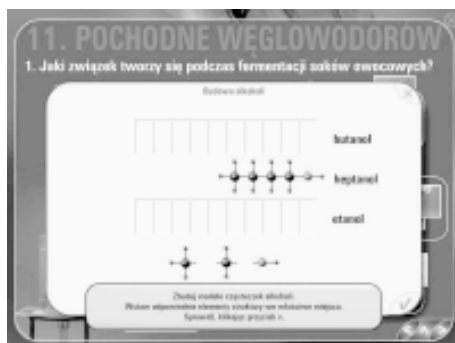
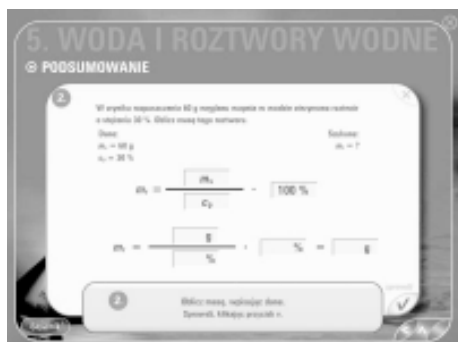
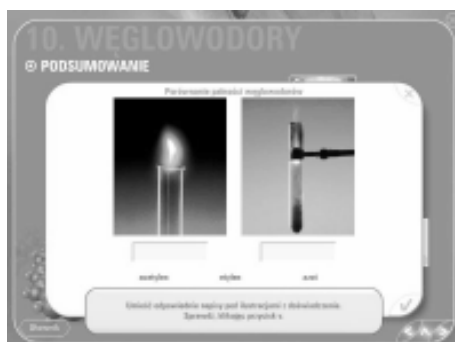


Rysunek 7. Wirtualne laboratorium chemiczne

Multimedialny podręcznik *Ciekawa Chemia* (nominacja do nagrody Edukacja XXI–2007, nagroda Produkt Klasy Marzeń 2007, nagroda Prezesa Polskiej Akademii Umiejętności) pomaga sprawdzać wiadomości i umiejętności uczących się, korzystając z różnego rodzaju ćwiczeń, zadań i testów opatrzonych grafiką i animacjami. Sprawdzanie to polega na stwierdzeniu poprawności rozwiązania problemów, co świadczy o tym, iż poddawany kontroli osiągnął wymagany poziom wiadomości i umiejętności, wykonał konieczne działania, odszukał niezbędne dane i w sposób logiczny połączył zdobyte informacje. Działanie uczącego się polega często na prawidłowym symulowaniu czynności laboratoryjnych i rozwiązywaniu zadań ukazujących praktyczne zastosowania prowadzonych obliczeń. Przygotowany blok kontroli multimedialnej może zapewnić sprawdzenie takich umiejętności, jak: budowanie modeli, pisanie równań reakcji, rozwiązywanie problemów, symulowanie przebiegu wybranych procesów. Kontrola i ocena prowadzona z zastosowaniem płyty CD-ROM *Ciekawa Chemia* pozwala tworzyć wiele wartościowych uwarunkowań, które przyczyniają się do nadania tym stresogennym zazwyczaj czynnościom całkowicie odmiennego charakteru. Wystawiane przez komputer oceny, czy to w formie liczbowej, czy w formie komentarza, są przez uczących się uznawane jako obiektywne. Zadanie nauczyciela sprowadza się wówczas do podania kryterium, zgodnie z którym ma być dokonana ocena.



Rysunek 8. Zadania sprawdzające poprawność czynności laboratoryjnych

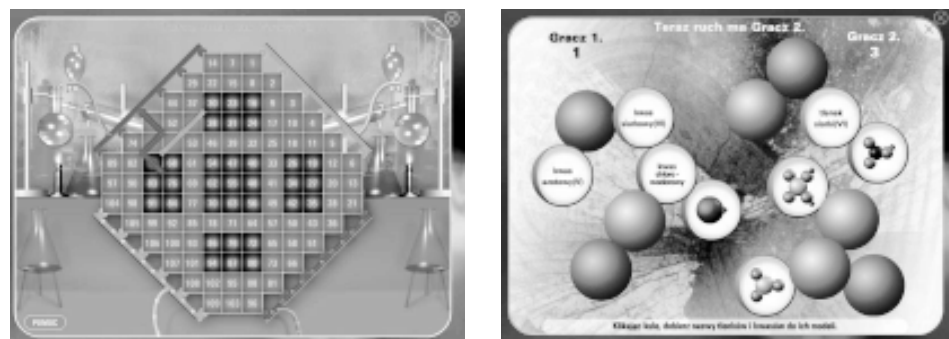
Rysunek 9. Podręcznik *Ciekawa Chemia* – Zadania utrwalające znajomość budowy związków chemicznychRysunek 10. Podręcznik *Ciekawa Chemia* – Zadania rozwijające sprawność myśleniaRysunek 11. Podręcznik *Ciekawa Chemia* – Zadania ćwiczące umiejętność wyciągania wniosków z doświadczeń

Płyta do podręcznika *Ciekawa Chemia* zawiera także wiele gier edukacyjnych, które wykorzystując skłonności młodzieży do tego sposobu pracy z komputerem, pomagają uczyć się przez zabawę [38]. Obok gier przygodowych, zręcznościowych

i strategicznych zamieszczono gry typu: *memory* i przestrzenne krzyżówki. Część przygotowanych gier symulacyjnych ma charakter typowo eksperymentalny – ułatwia lepsze i dokładniejsze opanowanie wymaganych umiejętności, co w dalszej perspektywie służy bezpiecznemu wykonaniu sprawdzonych czynności laboratoryjnych w rzeczywistej pracowni chemicznej. Walorem dydaktycznym opisanych gier jest stwarzanie uczącym się warunków do kojarzenia i interpretacji faktów, co stanowi pożądane przeciwieństwo biernego odtwarzania wiadomości. Wymienione gry komputerowe pomagają podejmować decyzję co do wyboru strategii postępowania, ale przede wszystkim wspomagają utrwalanie wiadomości, polegające na wielokrotnym powtarzaniu materiału nauczania w różnych strukturach logicznych. Przyjęta struktura gier umożliwia stosowanie ich na różnych poziomach kształcenia i przy realizacji wielu tematów pokrewnych. Uczestnictwo w grze przyczynia się do utrwalania poznanych wiadomości oraz ich poszerzenia w atmosferze pozbawionej lęku, jaki mogą wywoływać tradycyjne formy sprawdzania poziomu wiadomości. Umiejętne wykorzystanie gier rozbudza zainteresowanie tematem zajęć, a także dodatkowo wpływa na stosunek uczących się do przedmiotu nauczania [39].



Rysunek 12. Podręcznik *Ciekawa Chemia* – Gry służące podsumowaniu wiadomości z danego działu tematycznego



Rysunek 13. Podręcznik *Ciekawa Chemia* – Gry służące powtórzeniu wiadomości w nowych strukturach logicznych

Prowadzone badania wykazały, że zmiany wywołane korzystaniem z multimedialnych gier edukacyjnych na każdym poziomie procesu nauczania-uczenia się, nie sprowadzają się jedynie do wzrostu efektywności kształcenia mierzonej ilością i szybkością uczenia się, ale przede wszystkim wprowadzają i rozwijają nową jakość tego procesu [40]. Spędzanie czasu na grze ma swoje poważne konsekwencje, choć być może niektórzy uważają gry za coś niepoważnego. Owszem, gry mają zabawowy charakter, lecz poprzez zabawę uczą przede wszystkim tego, że przyjętych reguł należy przestrzegać. Nie wolno ich zmieniać w trakcie rozgrywki, bo zaczyna się grać w inną niż na początku grę, a może nie wszyscy w tę nową grę chcą grać. Podczas gry wychodzą na jaw ludzkie charaktery. Szybko można się zorientować, kto jest ryzykantem, kto pesymistą, kto jest nerwowym i niecierpliwym, a kto jest realistą. Gra jest wycinkiem naszego życia i podczas rozgrywki zachowujemy się jak w życiu. Warto od czasu do czasu poobserwować przeciwników, wiele można będzie się o nich dowiedzieć. Gry kształtują także wiele cech potrzebnych człowiekowi do życia, uczą cierpliwości, rozwijają wyobraźnię, pogłębiają wiedzę i umiejętności językowe.

Zawarte w podręcznikach multimedialnych możliwości symulowania przebiegu doświadczeń chemicznych oraz działania aparatury i urządzeń przemysłowych pozwalają uczącym się na bezpieczne zapoznanie z nimi, a także na zrozumienie konsekwencji nieprzemyślanego i błędnego działania, bez narażania na niebezpieczeństwo i straty finansowe [41]. Dzięki temu, lepiej przygotowują uczniów i studentów do pracy w nowoczesnych laboratoriach i w przemyśle. Komputery wspomagają eksperymentowanie na modelach i zbiorach danych liczbowych, pozwalając kształcić właściwe nawyki związane z prowadzeniem badań i opracowywaniem ich wyników (kodowanie danych empirycznych, porządkowanie, sporządzanie zbiorów danych, wyznaczanie charakterystyk, dokonywanie obliczeń, sporządzanie wykresów, itp.).

Podręczniki multimedialne, dzięki zawartym w nich symulacjom czynności i procesów, ułatwiają tworzenie w procesie kształcenia sytuacji wymagających podejmowania decyzji. O podręcznikach tego typu mówi się, że „stymulują przez symulację”. Dzięki temu, podczas pracy z programami multimedialnymi następuje osobista identyfikacja osoby uczącej się z symulowaną sytuacją, co prowadzi do wytworzenia w procesie kształcenia zdolności do swobodnego myślenia i rozwiązywania problemów. Ponadto symulacje ułatwiają stawianie i weryfikowanie hipotez, a to sprzyja kształtowaniu twórczej aktywności podczas rozwiązywania problemów. Wyniki badań potwierdzają, że wykorzystanie tych możliwości programów multimedialnych wprowadza nową jakość do procesu kształcenia chemicznego [42].

Przedstawione podręczniki, obecne na rynku polskim, w niczym nie odbiegają, a niejednokrotnie przewyższają oferowane w innych krajach. Problem związany z analizą podręczników jest trudny z wielu względów [43]. Jednym z czynników, które mają na to wpływ, jest odmienny czas wejścia chemii w cykl kształcenia, jako oddzielnego przedmiotu. Związane jest to z wiekiem uczniów rozpoczynających

naukę chemii, a to z kolei wpływa na strukturę i rodzaj przekazywanych treści. Inna jest także organizacja systemu kształcenia np. liczba godzin przeznaczona na chemię, jak również rodzaj zajęć, co wpływa na cele nauczania oraz zakres realizacji materiału. W Polsce uczeń styka się z chemią jako przedmiotem nauczania w gimnazjum, w wieku 13 lat, natomiast w innych krajach jest to poziom niższej szkoły średniej, gdzie uczniowie są starsi, co daje im możliwość zapoznawania z bardziej złożonymi i trudniejszymi pojęciami chemicznymi, nawet w pierwszym kontakcie z przedmiotem. Wcześniej chemia wraz z biologią, fizyką i geografiami stanowi jeden przedmiot, nazywany *natural science* (w Polsce – *przyroda*, w szkole podstawowej).

Wśród wybranych do analizy podręczników jako wyróżniający uznano *Chemistry: Visualizing Matter* [44]. Podręcznik narzuca aktywne formy pracy z uczniami, które mają charakter praktyczny i są ukierunkowane na pracę badawczą. Koncepcja zapoznawania uczniów z chemią jednoznacznie nastawiona jest na jej wykorzystanie w życiu codziennym i w przemyśle. Dużo informacji podaje się w formie tabel, wykresów i schematów. Zadania rachunkowe przedstawione są wraz ze szczegółowym algorytmem rozwiązywania. Maksymalne wykorzystanie różnego typu modeli do przedstawiania budowy materii ułatwia tworzenie wyobrażeń o budowie materii. Widoczne jest stosowanie korelacji międzyprzedmiotowej oraz informacje dotyczące problematyki ochrony środowiska. W poszczególnych rozdziałach znajduje się szczegółowe omówienie pierwiastków chemicznych, uwzględniające ich historię odkrycia, występowanie, właściwości i zastosowanie. Dla zainteresowanych zamieszczono adresy internetowe dotyczące omawianych zagadnień. W oddzielnej części podręcznika zamieszczono szczegółową instrukcję do wszystkich opisanych doświadczeń chemicznych. Na końcu każdego rozdziału znajdują się propozycje tematów do przedstawienia w formie *portfolio*, pytania rozwijające krytyczne myślenie oraz rozbudowane podsumowanie, które jest zarówno przypomnieniem omawianych zagadnień, jak i sprawdzeniem wiedzy i umiejętności. W podsumowaniu uderza liczba pytań w formie otwartej i zamkniętej. Struktura podręcznika oraz przekazywane treści dostosowane są do wieku uczniów rozpoczynających naukę chemii (16 lat). Szata graficzna podręcznika oraz jakość zdjęć są znakomite. Duża liczba fotografii ukazuje występowanie substancji w przyrodzie i w codziennym otoczeniu oraz ich zastosowanie.

Porównując przekazywane treści można stwierdzić, że najbardziej rozszerzony materiał zawarty jest w podręczniku *GCSE Chemistry*, którego koncepcja jest nastawiona na zapoznanie z wykorzystaniem chemii w życiu codziennym [45]. Duża liczba szczegółowych opisów doświadczeń chemicznych, schematów aparatury wykorzystywanej w doświadczeniach, wykresów, tabel porównawczych i tabel z danymi. Doświadczenia przedstawiane w podręczniku są skomplikowane, wymagające montowania aparatury, rzadko oparte na substancjach znanych uczniom ze swego otoczenia. Interesujące są częste odwołania do problematyki ochrony środowiska.

Podręcznik *Heinemann Coordinated Science Foundation Chemistry* nie zawiera treści rozszerzonych, w porównaniu z polskim programem nauczania chemii w gimnazjum [46]. Każda z trzech sekcji podręcznika zawiera główny temat z narodowego programu nauczania. Kolejne tematy omówiono korzystając z wielu zdjęć i rysunków. Pomocne w utrwalaniu nowych informacji są pytania sprawdzające rozumienie najważniejszych treści oraz ich definicje. Podręcznik jest atrakcyjny ze względu na sposób przedstawiania treści, wykorzystane zdjęcia i rysunki. Nie zawiera żadnych zadań rachunkowych ani też opisów reakcji chemicznych za pomocą symboli. Zapisy równań reakcji, charakterystycznych dla metali, niemetali, kwasów, węglowodorów, opis budowy atomów oraz niezbędne dane i wykresy zamieszczono na końcu podręcznika, jako informacje dodatkowe.

Celem autora podręcznika *Chemistry For You* jest wprowadzenie w podstawowe prawa chemiczne i ukazanie, jak można te informacje wykorzystać w celu tłumaczenia właściwości substancji, ich występowania w otaczającym świecie i sposobów, w jaki ulegają zmianie [47]. Doświadczenia chemiczne są opisane łącznie ze schematami aparatury. Podsumowanie po każdym rozdziale zawiera syntetyczne pytania w formie testu wielokrotnego wyboru. Na zakończenie każdego z sześciu głównych rozdziałów podane są pytania egzaminacyjne. Obliczenia chemiczne umieszczono na końcu podręcznika jako dodatek. Walorem podręcznika są schematy doświadczeń, opisy procesów zachodzących w przyrodzie oraz modele ułatwiające zrozumienie mechanizmów reakcji.

Do wspólnych cech analizowanych podręczników można zaliczyć:

- częste odwoływanie się do występowania i zastosowania substancji i ich przemian w życiu codziennym,
- wykorzystywanie wiedzy chemicznej do analizy zagadnień związanych z ochroną środowiska,
- zastosowanie środków dydaktycznych: modeli, zdjęć, rysunków w celu upogłądzenia przedstawianego materiału i lepszego jego zrozumienia,
- podsumowania wiadomości i umiejętności w formie testów wielokrotnego wyboru.

Do różnic występujących w analizowanych podręcznikach można zaliczyć:

- koncepcje nauczania,
- metodykę zapoznawania uczniów z zagadnieniami chemicznymi,
- rodzaj i strukturę przekazywanych treści chemicznych,
- sposób wykorzystania obliczeń chemicznych,
- liczbę i sposób prezentacji doświadczeń chemicznych,
- liczbę i sposób zapisu równań reakcji chemicznych,
- liczbę i sposób podsumowania nauczanych treści.

Możliwość analizy metodologii zapoznawania uczniów z problemami chemicznymi stwarza okazję do refleksji nad dotychczasowym sposobem kształcenia chemicznego w Polsce i być może zachęci dydaktyków i nauczycieli chemii do zastoso-

wania innych, sprawdzonych już rozwiązań, które mogą okazać się bardziej skuteczniejszymi niż dotychczasowe.

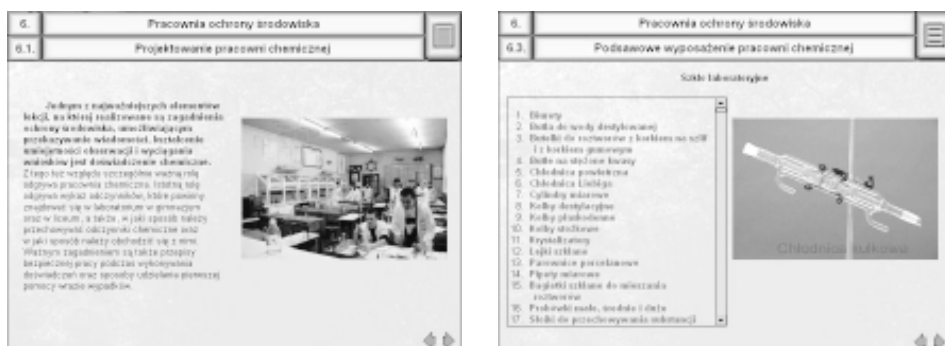
4. STRATEGIA ZDALNEGO KSZTAŁCENIA CHEMICZNEGO

W nauczaniu na odległość użytkownik dysponuje stałym dostępem do materiału będącego przedmiotem szkolenia, co umożliwia korzystanie z niego w dowolnym miejscu i w dowolnym czasie, dostosowanie tempa pracy do własnych potrzeb, a także – w razie konieczności – wielokrotne powtarzanie materiału. Internetowe grupy dyskusyjne oraz listy e-mailowe ułatwiają kontakt z pozostałymi uczestnikami szkolenia oraz z instruktorem, który nadzoruje i wspomaga przebieg nauki. Tak szerokie granice pozwalają objąć elektronicznym nauczaniem zarówno edukację prowadzoną za pomocą Internetu, jak i programów edukacyjnych zainstalowanych lokalnie na komputerze ucznia.

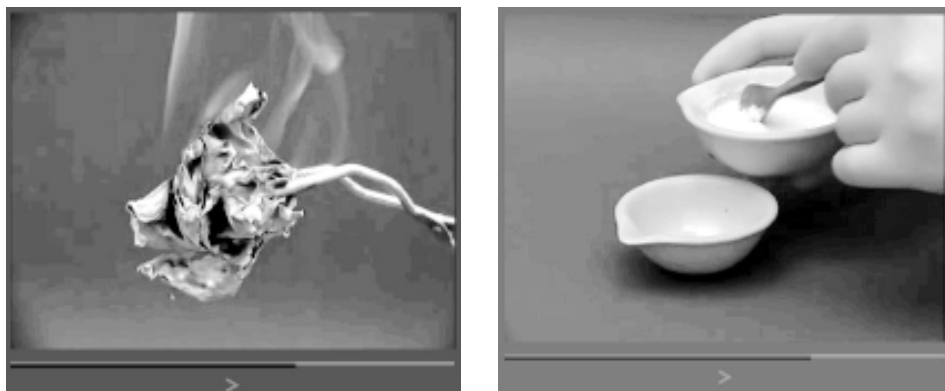
Przykładem podręcznika, który sprawdził się już w kształceniu zdalnym, jest akademicki podręcznik multimedialny *Dydaktyka ochrony środowiska* [48], przygotowany dla strategii kształcenia, w której zakłada się duży udział samodzielnej pracy studenta lub nauczyciela i która w istocie jest odmianą sterowanego samokształcenia. Podręcznik ma strukturę blokową, na którą składają się: Blok 1. Organizacja procesu nauczania, Blok 2. Cele nauczania, Blok 3. Zasady dydaktyczne, Blok 4. Metody nauczania, Blok 5. Środki dydaktyczne i ich wykorzystanie w nauczaniu, Blok 6. Pracownia ochrony środowiska, Blok 7. Utrwalanie i kontrola osiągnięć szkolnych, Blok 8. Przygotowanie się nauczyciela do lekcji, Blok 9. Wybrane zagadnienia nauczania ochrony środowiska, Blok 10. Zasady tworzenia programów nauczania.

Podręcznik *Dydaktyka ochrony środowiska* tym m.in. różni się od podręcznika konwencjonalnego, że wszystkie czynności uczącego się są rejestrowane, co umożliwia dostarczenie mu w odpowiednim momencie właściwych zadań, czy testów. Jest to więc podręcznik interaktywny, a jego modułowa struktura stwarza szansę na nieskomplikowane poszerzanie zawartych w nim treści. Ważnym elementem ilustracji treści zawartych w akademickim podręczniku multimedialnym *Dydaktyka ochrony środowiska* są zdjęcia i sekwencje filmowe. Obraz filmowy jest wręcz nie do przecenienia w każdym nauczaniu przedmiotowym, a szczególnie w kształceniu przyszłych nauczycieli przedmiotów przyrodniczych. Dzięki tym technikom można bowiem śledzić zarówno przebieg doświadczeń chemicznych wykonywanych w laboratorium, jak i przebieg zjawisk przyrodniczych w bliskim i dalekim nam środowisku, można także zobaczyć przebieg zajęć dydaktycznych prowadzonych w różnych szkołach oraz uczelniach w kraju i za granicą przez nauczycieli z większym stażem dydaktycznym oraz przez najlepszych wykładowców i specjalistów z danej dziedziny. To dzięki filmom właśnie możemy zajrzeć do wnętrza probówki, do zakładu produkującego tworzywa sztuczne i do sali wykładowej, aby podziwiać sprawność eksperymentowania, profesjonalizm w wykonywaniu czynności zawo-

dowych lub erudycję wybitnego dydaktyka. Reasumując: należy raz jeszcze podkreślić tę niezaprzeczalną różnicę między podręcznikiem tradycyjnym i multimedialnym, który dzięki zastosowanym technikom może przenosić użytkownika w czasie i przestrzeni, pokazać sekwencje filmowe lub symulacje komputerowe.



Rysunek 14. Podręcznik *Dydaktyka Ochrony środowiska* – Moduł: Projektowanie pracowni chemicznej i jej wyposażenia



Rysunek 15. Podręcznik *Dydaktyka Ochrony środowiska* – Moduł: Prezentacje reakcji chemicznych

Dostrzegając wymienione trudności zwrócono uwagę na możliwość łączenia technik kształcenia zdalnego (*distance learning*, *distance education*) i tradycyjnego, czyli na tzw. nauczanie mieszane (*blended learning*). Proponowana koncepcja zakłada etapowe wprowadzanie elementów elektronicznego nauczania (*e-learningu*) oraz nauczania zdalnego do procesu kształcenia, poprzez integrację opracowanych rozwiązań technicznych, takich jak: moduły symulacyjne, internetowe, instrukcje interaktywne, internetowe programy hipermedialne, ćwiczeniowe, multimedialne oraz interaktywne bazy danych. Efekty zastosowania mieszanego trybu organizacji procesu kształcenia są obiecujące, a wyraźne zwiększenie poziomu indywidualizacji procesu nauczania-uczenia się pozwala oczekiwać podniesienia jego efektywności [49].

Jedno z dość powszechnie już stosowanych rozwiązań polega na zamieszczeniu w witrynach edukacyjnych wydawnictw plików zawierających zadania i testy, o które użytkownik będzie mógł poszerzyć swój podręcznik. Pliki te są umieszczane co pewien czas na stronach www, skąd mogą być pobierane przez użytkowników podręcznika, zgodnie z ich życzeniem [50]. W przypadku podręcznika multimedialnego *Chemia z elementami ekologii* (nagroda Edukacja XXI-2001 za wybitne walory edukacyjne) pliki z zadaniami dodatkowymi, po ściągnięciu z Internetu i zapisaniu w wybranym przez użytkownika katalogu na dysku stałym, można otworzyć wyłącznie z uruchomionego programu w module: Ćwiczenia/ Opcje/Internet. Przygotowane zadania dotyczą tematów szczególnie trudnych i wymagających dłuższego ćwiczenia umiejętności. Do zadań takich należą m.in. modelowanie budowy cząsteczek związków chemicznych, czy obliczanie stężeń. Zwłaszcza w tym drugim przypadku, konieczne jest poznanie różnych wariantów prowadzenia obliczeń opartych na tych samych wzorach. Stale uaktualniana i rozbudowywana obudowa internetowa podręcznika jest dla uczących się cenną pomocą dydaktyczną w nabywaniu umiejętności poszukiwania, porządkowania i wykorzystywania informacji z różnych źródeł oraz efektywnego posługiwania się technologią informacyjną [51].

Innym rozwiązaniem jest zamieszczenie programu multimedialnego na stronach www przeznaczonych dla nauczycieli i dydaktyków, skąd może być przez nich pobierany. Zrzeszenie zainteresowanych osób w grupę badawczą pozwoli na realizację wspólnych zadań, jak np. prowadzenie zajęć dydaktycznych z fragmentami oprogramowania i dyskusję rezultatów w witrynie edukacyjnej. W ten sposób wykorzystano program multimedialny *Przyroda: wybrane doświadczenia*, umieszczając go na stronach portalu Ministerstwa Edukacji Narodowej www.scholaris.pl, a następnie organizując cykliczne spotkania z zainteresowanymi nauczycielami i publikując wyniki ich prac na tychże stronach portalu. Struktura programu została podzielona na pięć bloków tematycznych: *Rośliny, Woda, Gleba, Powietrze, Żywność*, z których każdy zawiera osiem jednostek poświęconych omówieniu jednego zagadnienia [52]. Podstawowym narzędziem wspomagającym poznanie problemu jest eksperyment reprezentowany przez sekwencję filmową. Powtarzające się elementy każdej jednostki to: treści związane z tematyką eksperymentu (teksty i hiperteksty), słownik zawierający hasła związane z danym eksperymentem, informacje poszerzające wiedzę tematyczną, reprezentowane przez rysunki i wykresy, wykaz zasad bezpiecznego postępowania podczas pracy eksperymentalnej, pakiet pytań pozwalający na atrakcyjne sprawdzenie zasobu wiadomości w interesującym zakresie.



Rysunek 16. Elementy programu *Przyroda: wybrane doświadczenia*

Program *Przyroda: wybrane doświadczenia*, podobnie jak wcześniej omówione produkty multimedialne, poddano ocenie w celu sprawdzenia jego użyteczności dydaktycznej. Celem badań był m.in. pomiar czasu potrzebnego na zapoznanie się z opisem eksperymentu, wykonanie czynności laboratoryjnych i udzielenie odpowiedzi na pytania sprawdzające poprawność zapamiętanych informacji oraz poprawność wykonania czynności laboratoryjnych, w zależności od zastosowanego środka dydaktycznego: programu multimedialnego lub ilustrowanego opisu eksperymentu w formie drukowanej. Zadania składające się na poszczególne eksperymenty chemiczne oceniano pod kątem właściwego użycia substratów reakcji, zastosowania odpowiedniego sprzętu laboratoryjnego i prawidłowego wykonania czynności manualnych. Z analizy porównawczej wynika, że liczba błędów popełnionych w czasie trwania badań była mniejsza o 21% w przypadku, gdy grupy przed wykonaniem eksperymentu korzystały z programu multimedialnego, w porównaniu z sytuacją, gdy te same grupy korzystały z ilustrowanej instrukcji pisemnej [53]. Uczniowie (i podobnie – studenci) wykonujący eksperymenty nie poprzedzone emisją filmu mieli m.in. trudności ze zmontowaniem zestawu aparatury, mimo dokładnego opisu czynności i odpowiednich rysunków w instrukcji drukowanej. Osoby korzystające z przygotowanych sekwencji filmowych wykonały poprawnie preparat, natomiast osoby korzystające z tradycyjnego opisu uzyskały preparat o nieprawidłowej konsystencji. Analiza wyników pozwala na stwierdzenie, iż stosowanie programu multimedialnego ułatwiło realizację zadań w zakresie nabywania wprawy w wykonywaniu czynności manualnych. Uzyskane rezultaty badań pedagogicznych potwierdziły skuteczność programu multimedialnego jako środka wspomagającego proces nauczania i uczenia się chemii, także w zakresie prezentacji przebiegu czynności laboratoryjnych. Jednym z dodatkowych walorów takiego wykorzystania multimedii jest promowanie samooceny uczących się, którzy porównując filmowy przebieg eksperymentu chemicznego z rezultatami własnej pracy, mogą ocenić swoje postępy oraz naprawić popełnione błędy. Przygotowane programy stanowią jedno z nielicznych środków dydaktycznych ułatwiających zastąpienie tradycyjnie stosowanego w nauczaniu „przerabiania materiału” kształceniem konkretnych umiejęt-

ności. Takie planowanie kształcenia zdalnego dąży do coraz częściej opisywanej w literaturze sytuacji [54], w której zaprojektowany system na podstawie zachowania uczestnika procesu nauczania będzie potrafił dobrać dla niego metodę nauczania i reprezentację informacji, uzależniając decyzję od rzeczywistych postępów i upodobań indywidualnych odbiorcy, podnosząc tym samym efektywność kształcenia. Dobry przykład zastosowania *interfejsu* www do celów edukacyjnych stanowi elektroniczny podręcznik informatyki medycznej [55].

5. NOWE NARZĘDZIA SPRAWDZANIA KOMPETENCJI W ZAKRESIE CHEMII

Środkiem, który być może ułatwi wyjście z tego impasu, ale również wyznaczy nowe cele i metody przydatne w kształceniu zdalnym jest **tablica interaktywna**.

Wyniki badań pilotażowych wpływu wykorzystania tablic interaktywnych na skuteczność nauczania oraz wyniki referendum, w którym 88% ludzi było za jej włączeniem do systemu nauczania w Stanach Zjednoczonych, spowodowały podjęcie decyzji o zakupie tych urządzeń do wszystkich szkół okręgu Forsyth (USA), w ramach projektu *Klasa XXI wieku* [56]. Czym więc jest tablica interaktywna? – to urządzenie łączące w sobie elementy komputera, ekranu do wyświetlania prezentacji i tablicy samokopiującej. Jedną taką tablicą jest alternatywą dla pracowni komputerowej. Umożliwia prowadzenie zajęć frontem do uczących się oraz interaktywną prezentację multimedialną usytuowaną na jednym (tablicy interaktywnej) ekranie, co ułatwia łączenie działań nauczyciela i uczniów. Obecnie na polskim rynku dostępnych jest wiele tablic interaktywnych m.in.: InterWrite MeetingBoard, firmy GTCOCALCOM, Walk and Talk czy Webster, firmy Polyvision, oraz StarBoard, firmy Hitachi. Wszystkie wymienione, niezależnie od rodzaju zasady działania opierają się na tych samych technologiach, w ramach danej klasy. Trudno jednoznacznie określić, która z wymienionych tablic ma większe możliwości edukacyjne. Jednak tylko firma Hitachi (współpracując z brytyjskim Cambridge, niemieckim Klett Cooperation oraz polskimi Wydawnictwami Szkolnymi i Pedagogicznymi) przygotowała specjalne oprogramowanie wspomagające pracę nauczycieli. W wyniku tych działań w ramach portalu WSiPnet (www.wsipnet.pl) powstał dział zajmujący się edukacją interaktywną. Można znaleźć tam scenariusze, jak również pomysły na ciekawe zajęcia, oraz specjalne aplikacje do tablicy interaktywnej StarBoard, w postaci plików w formacie YAR. Udostępnione materiały pozwalają wykorzystać możliwości tablicy interaktywnej i aktywizować uczniów na lekcjach [57].

Tablica interaktywna pomaga zapewnić efektywne uczenie się poprzez rozwijanie zdolności i umiejętności, takich jak: doświadczenie, refleksyjne obserwacje, tworzenie abstrakcyjnych hipotez, aktywne prowadzenie eksperymentów [58, 59]. Funkcje tablicy umożliwiają wstawianie i edytowanie różnego rodzaju obiektów, zapisywanie tekstów w dowolnym momencie pokazu (przeznaczonym do tego celu pisakiem), ich zaznaczanie lub podkreślanie kolorem z „palety barw”. Wszystko, co

w danym momencie znajduje się na tablicy interaktywnej, można trwale zapamiętać w pamięci komputera i wydrukować. Systematyczne korzystanie z pomocy tablic interaktywnych daje okazję do weryfikacji i atrakcyjnego spożytkowania istniejącego oprogramowania multimedialnego [60].

W celu rozpowszechnienia nowego środka dydaktycznego organizowane są cykliczne konferencje krajowe i zagraniczne poświęcone wykorzystaniu tablic interaktywnych w nauczaniu, warsztaty dla użytkowników tablicy oraz lekcje chemii z udziałem tablicy StarBoard dla uczniów i nauczycieli [61]. Lekcje te są niejednokrotnie rejestrowane za pomocą kamery cyfrowej, a materiał po odpowiedniej obróbce zapisywany na płytach CD-ROM, dostępnych dla szerokiego grona odbiorców.

Jednym z trybów pracy tablicy interaktywnej jest telekonferencja. Do tej pory uważano, iż wadą nauczania zdalnego, także z pomocą nowoczesnego podręcznika multimedialnego, jest brak kontaktu z prowadzącym. Tablica interaktywna rozwiązała ten problem, umożliwiając interaktywny kontakt pomiędzy prowadzącym i uczestnikami spotkania znajdującymi się w odległych miejscach. Dzięki zastosowaniu specjalnego pisaka lub ekranu dotykowego, na tablicy można nie tylko pisać i rysować, ale również prowadzić notatki bezpośrednio na obrazie filmowym lub animacji. Zapewnia to komfort w prowadzeniu zajęć oraz przyczynia się do aktywizacji ich uczestników. Niewątpliwym walorem jest możliwość prowadzenia zajęć ze specjalistycznych przedmiotów dla zainteresowanych grup odbiorców, bez potrzeby wyjazdów do ośrodków zamiejscowych. Kamera internetowa i mikrofon zapewniają odległym od siebie grupom dobry kontakt w czasie rzeczywistym. Zadanie takie zostało z powodzeniem zrealizowane pierwszy raz w Polsce w roku 2004, kiedy to przeprowadzono równoległy cykl zajęć dla słuchaczy Studiów Podyplomowych w Poznaniu i Szczecinie [62], a następnie weszło do stałego cyklu zajęć współpracujących jednostek dydaktycznych. W uzasadnionych wypadkach tablica interaktywna może być z powodzeniem stosowana w doradztwie nauczycielskim. Możliwości takie są niezwykle przydatne młodym nauczycielom, a także tym wykształconym jedнопredmiotowo, a prowadzącym zajęcia o charakterze interdyscyplinarnym.



Rysunek 17. Prezentacja działania tablicy interaktywnej i współdziałania tablic

Zaprezentowane rozwiązania telekonferencyjne, wykorzystujące tablicę interaktywną, pozwalają nie tylko zaoszczędzić czas i obniżyć koszty związane z podróżą, ale również umożliwiają wykorzystanie aparatury, której z różnych względów na konferencję nie można przetransportować [63].

Interaktywnym systemem służącym do przeprowadzania testów, ankiet i głosowań jest zestaw **VerdiCT**, pozwalający stworzyć ciekawe i dynamiczne środowisko do nauki i pozyskiwania opinii [64]. Za pomocą działających na podczerwień bezprzewodowych pilotów wszyscy respondenci mogą odpowiadać na pytania w czasie rzeczywistym, wybierając numer odpowiedzi na klawiaturze pilota. Rezultaty wyświetlane są w postaci wykresu ukazującego procentowy rozkład odpowiedzi na ekranie komputera, tablicy interaktywnej lub dużym ekranie. Wszystkie informacje dotyczące uzyskanych odpowiedzi, czasu po jakim zostały one udzielone oraz liczby prób są rejestrowane w systemie, indywidualnie dla każdej osoby. W połączeniu z wbudowanym dziennikiem ocen i narzędziami skalowania trudności odpowiedzi system umożliwi automatyczną ocenę, oszczędzając czas potrzebny na sprawdzanie i sporządzanie statystyk.



Rysunek 18. Sposób pracy z pilotami należącymi do systemu VerdiCT

Korzystający z nowoczesnego systemu ankietarskiego VerdiCT ma do wyboru pięć trybów przeprowadzania testów ankiet oraz quizów: 1. Ewaluacja, 2. Pytanie, odpowiedź – kto pierwszy ten lepszy, 3. Rywalizacja – natychmiastowa odpowiedź, 4. Ankieta, 5. Zadawanie pytań. System VerdiCT może być wykorzystywany podczas testów, głosowań, oceny osiągnięć, ankiet, kontroli odbioru prezentacji, wykładu itp., sprawdzianu typu pytanie-odpowiedź, konkursów grupowych, quizów [65]. Prowadzone badania nad wykorzystaniem systemu VerdiCT w procesie kształcenia uczniów, studentów, a także dokształcania nauczycieli przyniosły już wymierne wyniki [66].

PODSUMOWANIE

Opisane w tej pracy programy i podręczniki multimedialne przeznaczone do wspomagania nauczania chemii, chemii środowiska oraz dydaktyki chemii zostały z powodzeniem zweryfikowane w obowiązującym w Polsce systemie edukacyjnym. Przedstawienie zbioru reguł, na których oparto się podczas ich projektowania i realizacji, umożliwiło sformułowanie ogólnych zasad technologii tworzenia tego typu środków dydaktycznych, od doboru treści poczynając, a na rozwiązaniach technicznych kończąc. Zasady te mogą stanowić pomoc szczególnie dla tych twórców multimedialnych, którzy wywodzą się z grona dydaktyków i nauczycieli. Analiza przygotowanych programów multimedialnych doprowadziła do wniosków ogólniejszych dotyczących zależności struktury programu multimedialnego od treści merytorycznych i planowanych zadań dydaktycznych. Następnym wnioskiem, który z przeprowadzonych badań można wyciągnąć, to stwierdzenie, że programy multimedialne ze względu na sposób przekazu informacji (poprzez obrazy statyczne i dynamiczne, prezentacje dwu- i trójwymiarowe, wykorzystanie technik hipermedialnych, a przede wszystkim wskutek tworzenia swoim użytkownikom warunków aktywnej i interakcyjnej pracy) mogą stanowić narzędzie intelektualne, które w rękach dobrze przygotowanego nauczyciela i wykładowcy przekształca się w nowoczesną metodę kształcenia, przydatną do wyjaśniania wielu problemów chemii i chemii środowiska, a przez analogię także i innych przedmiotów przyrodniczych. Podobne zależności zauważono także w innych krajach [67–69]. Oznacza to, że systemy multimedialne mogą sterować procesem uczenia się, przejmując niektóre czynności nauczyciela, a tym samym stając się w pewnym sensie jego partnerem. Oceniając uzyskane rezultaty, nie można zapominać jednak o tym, że opisane wyniki nauczania zagadnień chemicznych z wykorzystaniem multimedialnych zależą w pewnej mierze od warunków, w jakich te media stosowano, od indywidualnych cech osób uczących się oraz od metodyki pracy z nimi. Uwaga taka w żadnym stopniu nie umniejsza jednak ich wymiernego wpływu na tworzenie klimatu emocjonalnego, sprzyjającego przede wszystkim koncentracji i skupieniu uwagi, który to stan decyduje w znacznym stopniu o przebiegu procesu twórczego uczenia się, a niekiedy warunkuje jego powodzenie.

Podobne zależności opisują badacze innych krajów i tak, np. w norweskiej reformie szkolnej z 2006 propagowanej jako „Promocja wiedzy” umiejętność użycia technologii informacyjnej i komunikacji jest jedną z pięciu „podstawowych umiejętności” jakie uczący winni pozyskać. Z kolei prorektor Uniwersytetu w Ostrawie, Jana Kapounova na pytanie: *W jaki sposób szacować wyniki ze stosowania ICT w edukacji w porównaniu do nie używania ICT* odpowiada: *Pomimo, że nie posiadam samochodu, liczba ich wciąż wzrasta, postępu nie można zatrzymać* [70]. Nieco bardziej rygorystycznie do obecności komputera w naszym życiu podchodzą krytycy, którzy obawiają się zmian w dotychczasowym sposobie myślenia i kształtowania nawyków uczenia się. Ich zdaniem rozszerzenie komunikowania się za pomocą komputerów może prowadzić do osłabienia więzi międzyludzkich i w wyniku

tego do rozwarstwienia społecznego [71]. Wskazuje się mniejszą skuteczność hipermediów w zrozumieniu przyczyn, uzasadnianiu zdarzeń, formułowaniu refleksji na temat toczących się procesów i przedstawianiu propozycji możliwych do wprowadzenia poprawek [72].

Zaproponowany w niniejszej pracy model multimedialnego kształcenia stanowi propozycję zmian w odniesieniu do koncepcji metod nauczania, które zastosowane w sposób zgodny z wysuniętymi regułami dydaktycznymi mogą przyczynić się do przeobrażeń systemu nauczania chemii i innych przedmiotów przyrodniczych. Trzeba bowiem podkreślić, że mimo, iż nie ma wątpliwości, że tradycyjna książka nie ma jeszcze konkurencji – nie ma bowiem nic bardziej ergonomicznego do czytania niż książka, a edukacji nikt nie może sobie wyobrazić bez czytania [73], to jednak multimedia włączane do systemu kształcenia mają wszelkie warunki po temu, aby stanowić w nim pełnoprawną metodę nauczania.

Rozważania nad kierunkami wykorzystania programów multimedialnych w kształceniu przyrodniczym, z jednej strony wywodzą się z technologii kształcenia i przyjmują za punkt wyjścia formułowane przez nią założenia, z drugiej natomiast przyczyniają się do empirycznej weryfikacji niektórych założeń na gruncie nauk przyrodniczych. Badania te odpowiadają bowiem na pytania, jaki jest cel kształcenia multimedialnego w nauczaniu przedmiotów przyrodniczych, jakie treści chemiczne i w jaki sposób można eksponować z wykorzystaniem programów multimedialnych, jak organizować kształcenie multimedialne na lekcjach chemii w szkole podstawowej, średniej i na zajęciach uniwersyteckich, jakie metody kształcenia multimedialnego pozostają w zgodzie z metodami kształcenia chemicznego i przez to mogą być przez nauczycieli chemii zaakceptowane i stosowane oraz jakie kwalifikacje winni posiadać nauczyciele, aby móc realizować kształcenie przyrodnicze tym systemem i w końcu, jakich wyników należy spodziewać się przy korzystaniu z programów multimedialnych w nauczaniu tych przedmiotów. Udzielenie w tej pracy odpowiedzi na powyższe pytania pozwoli, miejmy nadzieję, chemikom i nauczycielom chemii wykorzystywać z powodzeniem programy multimedialne w swojej pracy, a technologom kształcenia zweryfikować poprawność postulowanych założeń. Warto też pamiętać i o tym, że jeśli badania z dydaktyki chemii przyczyniają się do wytworzenia modyfikacji teorii uczenia się lub do doskonalenia modeli dotyczących procesu nauczania, to jednak głównym celem tych badań jest spowodowanie lepszego poznania wiedzy chemicznej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] T. Tomaszewski, *Procesy percepcji. Myślenie i rozwiązywanie problemów. Podejmowanie decyzji*, PWN, Warszawa 1995.
- [2] L.L. Jones., S.G. Smith., *Multimedia technology: A catalyst for change in chemical education*, Pure and Appl. Chem., 1993, **65**, 2, 245–249.
- [3] L.L. Jones, L. Ushakov, *Chemistry for information age: an International Curriculum Project Using Multimedia Technology*, 14th International Conference on Chemical Education, Brisbane (Australia), 1996, W 2.1, s. 38.

- [4] W. Jr. Treadway, *The multimedia chemistry laboratory: perception and performance*, J. Chem. Educ., 1996, **73**, 9, 876–878.
- [5] V. Kwiatkowska, *Wpływ formy wykładu na skuteczność dydaktyczną w kształceniu akademickim*, E-mentor, 2007, **1(18)**, 58–61.
- [6] H. Gulińska, *Strategia multimedialnego kształcenia chemicznego*, Wyd. Naukowe UAM, Poznań 1998.
- [7] R. Bush, *Global education through telecommunication*, Communications of the ACM, 1993, **36**, 8, 36–41.
- [8] R.M. Whitnell, E.A. Fernandes, F. Almassizadeh, J.J.C. Love, B.M. Dugan, B.A Sawrey, K. Wilson, *Multimedia chemistry lectures*, J. Chem. Educ., 1994, **71**, 721–725.
- [9] H. Gulińska, *Methodology of Using Multimedia Educational Software in Teaching Chemistry*, Research in Chemical Education, University of Ljubljana, Slovenian Chemical Society, Ljubljana 2004, s. 99–102.
- [10] H. Gulińska, Ambroziak T., *Chemiczne metody analizy jakościowej – multimedialny program edukacyjny*, Wyd. Beta Graf PUH, Poznań 2003, str. 9–12.
- [11] H. Gulińska, J. Szczepański, *Reakcje utleniania i redukcji – dysk CD-ROM*, Wyd. Nauka, Poznań-Warszawa 1998.
- [12] A. Burewicz, H. Gulińska, *How to teach chemistry with a help of modern didactical techniques*, XI Winter School on Coordination Chemistry, Karpacz 1998, 3–7.
- [13] W. Strykowski, *Rola mediów w edukacji*, Edukacja Medialna, 1996, **2**, 4–10.
- [14] H. Gulińska, *Oprogramowanie edukacyjne w kształceniu chemicznym, Problemy i wyzwania w edukacji chemicznej*, Wyd. PG, Gdańsk, 2005, 30–33.
- [15] J.B. Ealy, J.L. Jr. Ealy, *Visualizing chemistry: investigations for teachers*, ACS Publications Catalog 1995.
- [16] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Multimedia software for representation of chemical reaction mechanism – high school and college level*, Journal of Science Education, 2006, **Vol. 7**, 1.
- [17] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *How to use multimedia to assist learning on the mechanisms of chemical reactions*, Recent Research Developments in Learning Technologies, III International Conference on multimedia & ICT's in Education, Caseres 2005 (Spain), 1089–1093.
- [18] L. Celewicz, K. Ciszewski, H. Gulińska, *Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej dla słuchaczy podyplomowego studium dla nauczycieli*, skrypt + płyta CD-ROM zawierająca filmy i animacje mechanizmów reakcji, Wyd. UAM, Poznań 2005, 1–26.
- [19] H. Gulińska, D. Żołędziowski, *Interactive StarBoard*, European Variety in Chemistry Education, Kraków 2005, 150–153.
- [20] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Application of interactive voting systems to teaching*, II Międzynarodowa Konferencja „Badania w dydaktyce chemii” poszerzona o „Badania w dydaktykach nauk przyrodniczych”, Kraków 2006.
- [21] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Visualization of Mechanisms of Chemical Reactions*, European Variety in Chemistry Education, Kraków 2005, 144–146.
- [22] B. Hankinson, A. Hermida, *Komputerowe stereogramy*, Wyd. Intersoftland, Warszawa 1995.
- [23] N. Miranowicz, H. Gulińska, A. Burewicz, *Obraz stereoskopowy w przyrodznawstwie*, Wiadomości Chemiczne, 1992, **46**, 413–420.
- [24] J. Skrzypczak, *Konstruowanie i ocena podręczników*, Wyd. Instytutu Technologii Eksploatacji, Poznań-Radom 1996.
- [25] A. Burewicz, H. Gulińska, J. Skrzypczak, *Metodologiczne procedury modelowania i oceny edukacyjnych programów komputerowych o charakterze podręcznikowym*, Wyd. UAM, Poznań 2006, 149.

- [26] H. Gulińska, M. Zielińska, *Multimedialny Leksykon Eksperymentów w procesie kształcenia chemicznego*, Informatyka w Szkole, Mielec 2001, 625–632.
- [27] H. Gulińska, M. Zielińska, *The Results of Research on the Efficiency of Multimedia Lexicon of Chemical Experiments in Teaching Science*, Science and Technology Education, Wyd. UMCS, Lublin 2004, 257–268.
- [28] H. Gulińska, *Eksperyment chemiczny jako element kształcenia chemicznego wspomaganego medialnie*, Ekologia i technika, vol. XIII, 2005, 6, 247–252.
- [29] B. Siemieniecki, *Wpływ środków dydaktycznych na proces rozwiązywania problemów*, Neodidagmata XXI, 1993, 63–75.
- [30] H. Gulińska, A. Burewicz, *Podręcznik multimedialny „Chemia z elementami ekologii”*, sześć dysków CD-ROM + Poradniki, WSiP, Warszawa 2000–2002.
- [31] H. Gulińska, A. Burewicz, *Zbiór multimedialnych zadań do gimnazjum*, 3 płyty CD-ROM, WSiP, Warszawa 2002, ISBN 83-02-07615-5, 83-02-08267-8, 83-02-08537-501.
- [32] H. Gulińska, *Chemistry with Elements the Use of Multimedia Textbook in Junior Secondary School*, Media a edukacja, Wyd. eMPI2, Poznań 2000, 309–317.
- [33] R. Janiuk, K. Skrok, *Chemia i my*, WSiP, Warszawa 1999.
- [34] Z. Kluz, K. Łopata, *Chemia w gimnazjum*, WSiP, Warszawa 1999.
- [35] A. Czerwiński, A. Czerwińska, M. Jelińska-Kazimierzczuk, K. Kuśmierczyk, *Chemia 1, Chemia 2* oraz A. Czerwiński, A. Czerwińska, M. Jeziorska, M. Kańska., *Chemia 3*, WSiP, Warszawa 2002–2004.
- [36] H. Gulińska, J. Haładuda, J. Smolińska, *Ciekawa Chemia część 1 i 2*, WSiP, Warszawa 2006 oraz H. Gulińska, J. Smolińska, *Ciekawa Chemia część 3*, WSiP, Warszawa 2006.
- [37] H. Gulińska, *Phyta CD-ROM jako element podręcznika multimedialnego*, Komputer w edukacji, Wyd. Naukowe Akademii Pedagogicznej, Kraków 2006, 61–69.
- [38] H. Gulińska, *Games and simulations in Ciekawa Chemia* (a handbook for teaching chemistry in secondary junior schools), II Międzynarodowa Konferencja „Badania w dydaktyce chemii” poszerzona o „Badania w dydaktykach nauk przyrodniczych”, Kraków 2006.
- [39] H. Gulińska, *Visualization Multimedial Handbooks of chemistry*, 19 th International Conference on Chemical Education, Korea, Seoul 2006.
- [40] L. i W. Pijanowski, *Gry świata*, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2006.
- [41] H. Gulińska, *Wyniki badań nad skutecznością gier edukacyjnych w kształceniu chemicznym*, Horyzonty Dydaktyki Chemii, MEN, zeszyt 10, Scholaris 2006.
- [42] H. Gulińska, *O sztuce łączenia wizualizacji, ćwiczeń i eksperymentu w podręczniku do nauczania chemii w gimnazjum*, Horyzonty Dydaktyki Chemii, MEN, zeszyt 6, Scholaris 2006.
- [43] A. Kamińska-Ostęp, *Wpływ innowacji dydaktycznych na skuteczność kształcenia chemicznego*, praca doktorska, promotor H. Gulińska, UAM Poznań 2005.
- [44] R. Thomas, K. Myers, B. Oldham, S. Tocci, *Chemistry: Visualizing Matter*, Spanish River Community High School, 2000.
- [45] B. Earl, L.D.R. Wilford, *GCSE Chemistry*, 1995.
- [46] A. Bethrll, J. Dexter, M. Griffiths, *Heinemann Coordinated Science Foundation Chemistry*, 1996.
- [47] L. Ryan, *Chemistry For You*, National Curriculum Edition for GCSE, 1996.
- [48] A. Burewicz, H. Gulińska, P. Jagodziński, M. Miranowicz, N. Miranowicz, R. Wolski, *Akademicki podręcznik multimedialny Dydaktyka Ochrony Środowiska w systemie kształcenia stacjonarnego i zdalnego*, Wiadomości Chemiczne, 2002, 56, Wrocław-Warszawa, 1054–1085.
- [49] A. Burewicz, M. Miranowicz, N. Miranowicz, *Projekt Intel – nauczanie ku przyszłości w kształceniu przyszłych nauczycieli*, Informatyka w szkole XIX, 2003, 183–185.
- [50] H. Gulińska, *From the conventional to the multimedial textbook*, Biernik Doneckowo Uniwersytetu, Prirodnici nauki, 2003, 2, 381–385.

- [51] H. Gulińska, A. Burewicz, *Środki dydaktyczne w multimedialnym podręczniku do gimnazjum i jego internetowe wspomaganie*, Facultatis Chemiae, Universitatis Studiorum Mickiewiczianae Posnaniensis, Annales II, Wyd. Naukowe UAM, Poznań 2002, 87–108.
- [52] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Rola programu multimedialnego Przyroda: wybrane doświadczenia w rozwijaniu edukacji medialnej*, Wyd. Adam Marszałek, Toruń 2004, 323–357.
- [53] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Weryfikacja skuteczności edukacyjnej programu multimedialnego Przyroda: wybrane doświadczenia*, Badania w dydaktyce chemii, Wyd. Naukowe AP, Kraków 2004, 80–84.
- [54] M. Michałowski, *Multimedialne systemy edukacji zdalnej*, Media a edukacja, Wyd. eMPI², Poznań, 430–436.
- [55] R. Koczorowski, R. Rudowski, *Elektroniczny podręcznik informatyki medycznej dla studentów działających w trybie on-line*, Media a edukacja, Wyd. eMPI², Poznań, 382–384.
- [56] Classroom Instruction: Whiteboard 'shootout' helps Forsyth County corral the right system for its needs Bailey Mitchell Contents Copyright 2006 eSchool News
<http://www.eschoolnews.com/news/showStoryts.cfm?ArticleID=5961>
- [57] W Jędrzychowski, *Informatyka w szkole, StarBoard – tablica interaktywna firmy Hitachi – przełom w edukacji*, Wyd. A. Marszałek, Toruń 2004.
- [58] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Próba porównania skuteczności edukacyjnej nowych mediów*, Technologia Informacyjna i Komunikacyjna w Edukacji „Nowoczesne Narzędzia TI w Edukacji”, Szczecin 2005.
- [59] Wing Ho Leung, Tshuan Chen, *A Multi-User 3-D Virtual Environment with Interactive Collaboration and Shared Whiteboard Technologies*, Multimedia Tools and Applications Volume 20, Number 1 / May, 2003, 7–23.
- [60] M. Wienecke, G.A. Fink, G. Sagerer, *Toward automatic video-based whiteboard reading Received*, International Journal on Document Analysis and Recognition, 7, 2005.
- [61] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Tablica interaktywna jako nowe narzędzie edukacji, Zastosowanie technologii informacyjnej na lekcjach przyrody i chemii*, Horyzonty Dydaktyki Chemii, zeszyt 7, MEN, Scholaris 2006.
- [62] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, A. Salamońska [w:] *Tablica interaktywna StarBoard jako element w kształceniu zdalnym*, Edukacja informacyjna – komputer, Internet i multimedia w domu, szkole i w pracy, K. Wenta, E. Perzycka, red., Oficyna Wydawnicza CDiDn, Szczecin 2006, 310–317.
- [63] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Tablica interaktywna środkiem wspomagającym nauczanie*, E-mentor, 2007, 1 (18), 27–34.
- [64] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *System ankietki VerdCT – nowa metoda oceny sprawności w nauczaniu*, II Krajowa Konferencja Naukowa „Nowe technologie w kształceniu na odległość”, Wyd. Politechniki Koszalińskiej, Koszalin 2006, 243–245.
- [65] M. Uhari, M. Renko, H. Soini, *Experiences of using an interactive audience response system in lectures*, Oulu, Finland 2003.
- [66] H. Gulińska, M. Bartoszewicz, *Bezprzewodowe systemy interaktywne do głosowania i oceniania*, TIK w edukacji, Szczecin 2006, 27–34.
- [67] M. Ganajova, L. Kuklova, M. Kozurkova, A., Ornak, M. Lichvarova, J. Poracova, *Nove technologie vo vyucechemie a biologie u ziakov zakladnych a strednych skol k trvalo udrzatelnemu rozvoju*, Badania w dydaktyce przedmiotów przyrodniczych, Kraków 2006, 122–126.
- [68] Cambridge *International Examinations Syllabus and Support Materiale – materiały informacyjne*, University of Cambridge, Cambridge 2003.
- [69] G. Blinkov, N. Blinkova, Y. Petrenko, I. Satikov, *Problems of testing in distance education*, Nowe technologie w kształceniu na odległość, Wyd. PK, Koszalin 2006, 245–248.

- [70] H. Nielsen, *ICT jako narzędzie w edukacji na odległość w świecie perspektywy ekologicznej*, [w:] W. Wenta, E. Perzycka, *Edukacja informacyjna*, Oficyna Wydawnicza CDiDN, Szczecin 2006, 20–25.
- [71] M. Abelite, *Internet w szkole i w domu ucznia – szanse i zagrożenia*, [w:] M. Sokółowski (red.), *Oblicza Internetu. Internet a globalne społeczeństwo informacyjne*, Elbląg 2005.
- [72] M. Abelite, *Rola technologii informatycznej w samodzielnym działaniu i myśleniu ucznia*, [w:] A. Czajkowski (red.) *Dydaktyka nauk stosowanych*, Szczecin 2006.
- [73] M.M. Sysło, *Model rozwoju TI w edukacji*, Informatyka w szkole, Wyd. Argi, Wrocław 2004, 21–29.

Praca wpłynęła do Redakcji 26 marca 2007

**EFEKTYWNOŚĆ
GRUP DONOROWYCH NUKLEOTYDÓW
W REAKCJACH Z JONAMI METALI
W UKŁADACH PODWÓJNYCH I POTRÓJNYCH
Z UDZIAŁEM TETRAMIN**

THE EFFICIENCY
OF NUCLEOTIDE DONOR GROUPS
IN REACTIONS WITH METAL IONS
IN BINARY AND TERNARY SYSTEM
INCLUDING TETRAMINES

Anna Gąsowska

*Zakład Chemii Koordynacyjnej, Wydział Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
e-mail: gas@amu.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Kompleksy nukleotydów z jonami Cu(II), Ni(II) i Co(II)
 - 1.1. Donorowe atomy azotu nukleotydu jako efektywne centra koordynacji
 - 1.2. Grupa fosforanowa i donorowe atomy azotu nukleotydu jako efektywne centra koordynacji
 - 1.3. Grupa fosforanowa nukleotydu jako efektywne centrum koordynacji
2. Oddziaływania niekowalencyjne w układach nukleotyd/tetramina
3. Oddziaływania w układach trójskładnikowych metal/nukleotyd/tetramina
 - 3.1. Heteroligandowe kompleksy molekularne $ML \cdots H_x L'$
 - 3.2. Kompleksy mieszane protonowane $MLH_x L'$
 - 3.3. Kompleksy mieszane MLL'

Wnioski

Piśmiennictwo cytowane

Dr Anna Gaśowska jest starszym wykładowcą w Zakładzie Chemii Koordynacyjnej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Zajmuje się badaniami oddziaływań jonów metali z nukleotydami i poliamidami, a szczególnie ocenę wpływu poliamin na aktywność grup donorowych nukleotydów w ich reakcjach z jonami metali, głównie Cu(II), Ni(II) i Co(II). W badaniach wykorzystuje potencjometryczne i spektroskopowe techniki badawcze. Dr Anna Gaśowska jest autorką lub współautorką 44 publikacji z zakresu chemii koordynacyjnej i bionieorganicznej.

ABSTRACT

Nucleotides, being multifunctional ligands with donor nitrogen and oxygen atoms, take part in the majority of selective and specific processes occurring in nature [1–15]. It has been established that nucleotides react with the polyamines (biogenic amines) present in the living organisms and take part in genetic information transfer [16–24]. Nucleotides are composed of a purine or pyrimidine base, sugar residua and phosphate groups (Fig. 1) [25–27]. Each of the three components have potential centres of interaction with metal ions [28–29]. Because of the wide diversity of coordination possibilities there are often controversies as to the mode of coordination even in simple complexes with metal ions. Some authors claim that only nitrogen atoms of the nucleotide are effectively engaged in the metallation [30–43], while others maintain that it requires a combined engagement of nitrogen atoms and phosphate group [44–71]. There are also researchers who point to the involvement of only phosphate group of the nucleotide in the metallation [72–77].

The reaction of nucleotides with tetramines results in the formation of molecular complexes (Fig. 3) [78–88]. In the literature to date, there is no agreement as to the character of interactions and effectiveness of nucleotide donor groups in the formation of adducts with polyamines [80–82, 85–87, 89, 90]. According to some authors, the interaction between a nucleotide and polyamines in the metal-free systems has a noncovalent ion-ion or ion-dipole nature and the stability of molecular complexes is determined by the number of active centres in the reagents and the structural factor [80–84, 87]. According to other authors, it is a typical electrostatic interaction and the adduct stability is determined by the charge of the reagents [85, 89]. In the adducts formed by nucleotides with polyamines, the main interaction centres of a nucleotide are endocyclic nitrogen atoms and a phosphate group (the latter undergoes deprotonation already at a low pH), while in the case of tetramine the interaction centres are the NH_x^+ groups [77, 80–87, 89–91].

In the ternary systems of metal/nucleotide/tetramine, the following heteroligand molecular complexes are formed: $\text{ML} \cdots \text{H}_x\text{L}'$ ($x = 4$, $\text{H}_x\text{L}'$ -fully protonated polyamine) (Fig. 4) [80–82, 91, 94, 96], mixed protonated complexes $\text{MLH}_x\text{L}'$ ($x = 1, 2, 3$) (Fig. 5) [81, 82, 92, 96] and MLL' type complexes (Fig. 6) [81, 82, 91]. A significant influence of polyamines on the character of interactions of nucleotides with metal ions has been noted [80–82, 90–96]. In molecular complexes, the fully protonated polyamine is located in the outer coordination sphere. In the $\text{MLH}_x\text{L}'$ type complexes, the deprotonated nitrogen atoms of tetramine are involved in the coordination, while its protonated centres $-\text{NH}_x^+$ take part in noncovalent interactions that additionally stabilise the complex [81, 82, 92, 96, 97]. In the MLL' type complexes, oxygen atoms of nucleotide phosphate group and deprotonated nitrogen atoms of tetramine are in the inner coordination sphere, while nucleotide donor nitrogen atoms do not take part in the metallation [81, 82, 91].

Keywords: molecular complexes, coordination compounds, nucleotide, tetramine, Cu(II), Ni(II), Co(II)

Słowa kluczowe: kompleksy molekularne, związki koordynacyjne, nukleotyd, tetramina, Cu(II), Ni(II), Co(II)

WPROWADZENIE

Nukleotydy, wielofunkcyjne ligandy z donorowymi atomami azotu i tlenu, jedne z najważniejszych metabolicznych substancji, uczestniczą w większości selektywnych i specyficznych procesów obserwowanych w przyrodzie [1–4]. Szczególną rolę wśród nukleotydów pełnią adenozyjno 5'-trifosforan (ATP), określane wewnątrzkomórkowym źródłem energii [5, 6], oraz guanozyjno-5'-trifosforan (GTP) niezbędny w procesie syntezy protein [7] i np. wzrostu nerwów [8, 9].

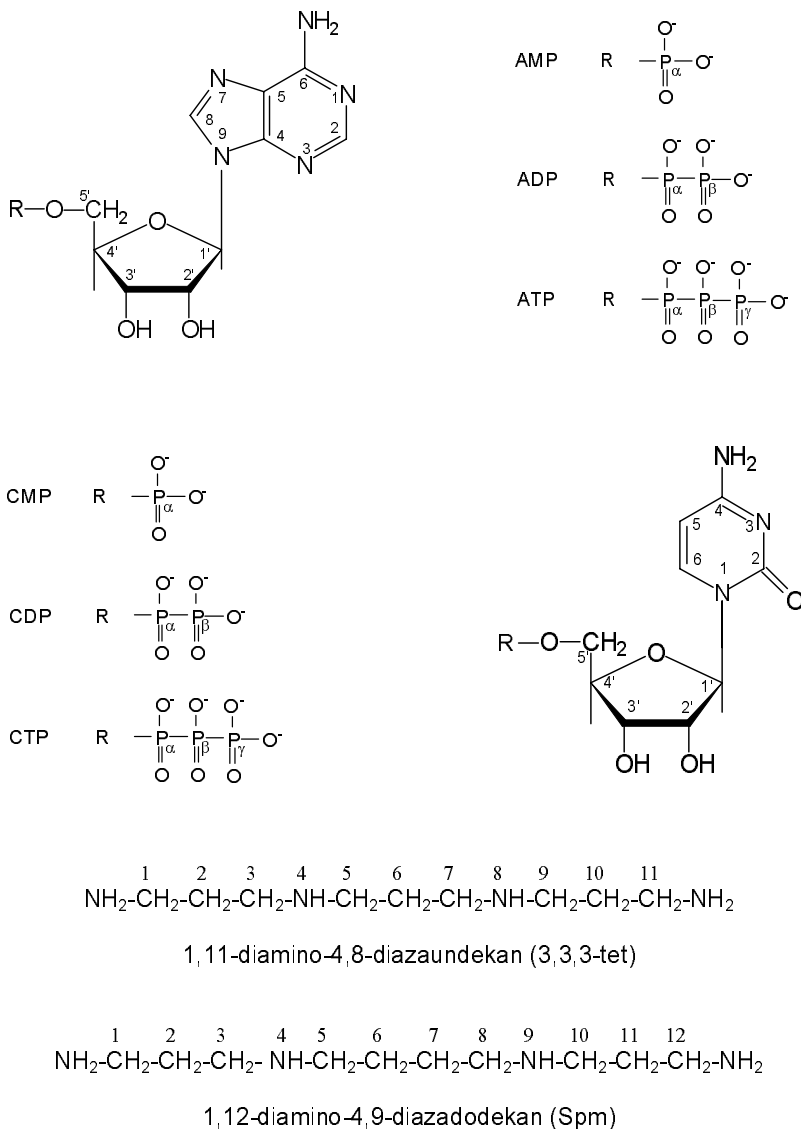
ATP, ADP oraz nieorganiczne fosforany uczestniczą w większej ilości procesów chemicznych niż wszystkie inne substancje, z wyjątkiem wody [6]. Obliczono, że w związku z kluczową rolą adenozyjno-5'-trifosforanu w metabolizmie, organizm człowieka średnio syntetyzuje dziennie ATP w ilości równej ciężarowi jego ciała [10, 11].

Nukleotydy i ich kompleksy z jonami metali uczestniczą w syntezie kwasów nukleinowych oraz w wielu reakcjach enzymatycznych, pełniąc w nich rolę kofaktorów [12–15]. Ustalono także, że nukleotydy jako składniki kwasów nukleinowych reagują z obecnymi w organizmach żywych poliaminami, wśród których do najważniejszych należą aminy biogenne: putrescyna, spermidyna i spermina [16–18]. Efektem oddziaływań fragmentów DNA i RNA z tymi biocząsteczkami są zmiany w strukturze kwasów nukleinowych na różnych poziomach organizacji, a w konsekwencji udział poliamin w procesach przekazu informacji genetycznych [19–21]. Bezpośrednim efektem reakcji kwasów nukleinowych z poliaminami jest zmiana gęstości i temperatury topnienia DNA [19–21]. Oddziaływanie nukleotydów z poliaminami możliwe jest dzięki ich wysokiej zasadowości, co powoduje, że w warunkach fizjologicznych są one sprotonowane i jako takie reagują ze zdeprotonowanymi grupami fosforanowymi i endocyklicznymi atomami azotu nukleotydów [22, 23]. Chociaż konsekwencje oddziaływań nukleotydów, jonów metali i poliamin są znane, to jednak mechanizm tych procesów jest nadal daleki od wyjaśnienia [24], a różnice poglądów istnieją nawet co do efektywności grup donorowych nukleotydów w ich binarnych połączeniach z jonami metali [16, 17].

Niniejsza praca przedstawia dotychczasowe osiągnięcia w dziedzinie badań nad efektywnością donorowych grup nukleotydów w ich reakcjach z jonami metali, w układach podwójnych oraz w układach potrójnych z udziałem tetramin. Biogenna spermina (Spm) i jej krótszy homolog 1,11-diamino-4,8-diazaundecan (3,3,3-tet), ze względu na długość łańcucha i obecność kilku ugrupowań $-NH_x^+$ w cząsteczce, reagują z nukleotydami i jonami metali odmiennie niż inne poliaminy. Spermina, zawierająca w cząsteczce dwa ugrupowania 1,3-propylodiaminy rozdzielone czterema ugrupowaniami $-CH_2-$, zachowuje się jak dwie diaminy.

1. KOMPLEKSY NUKLEOTYDÓW Z JONAMI Cu(II), Ni(II) I Co(II)

Nukleotydy zbudowane są z zasady purynowej lub pirymidynowej, reszty cukrowej oraz grupy fosforanowej [25–27]. Zasady purynowe występujące w cząsteczkach nukleotydów, to adenina i guanina, a zasady pirymidynowe to cytozyna, uracyl i tymina (Rys. 1). Reszta cukrowa nukleotydu to zwykle cykliczna, pięcioczłonowa β -D-ryboza lub β -D-2'-deoksyryboza (Rys. 1).



Rysunek 1. Nukleotydy i tetraminy

W każdej z wymienionych trzech podjednostek nukleotydów występują potencjalne centra oddziaływań z jonami metali. W zasadzie purynowej są nimi głównie endocykliczne atomy azotu N(1) i N(7), a w pirymidynowej – atom azotu N(3). W reszcie cukrowej potencjalne centra donorowe stanowią grupy hydroksylowe. Grupa fosforanowa natomiast, w skład której wchodzi kilka donorowych atomów tlenu, uczestniczy w oddziaływaniach jako ligand mono- lub wielofunkcyjny [28, 29]. Ta różnorodność możliwości koordynacyjnych nukleotydów powoduje, że w doniesieniach literaturowych autorzy prezentują różne poglądy dotyczące sposobu koordynacji, nawet w prostych połączeniach tych związków z metalami. Jedni uważają, że w kompleksach z jonami metali efektywny udział w koordynacji biorą tylko donorowe atomy azotu nukleotydu [30–43], inni postulują jednoczesny udział atomów azotu i grupy fosforowej w metalacji [44–71], a jeszcze inni stwierdzają efektywny udział w wiązaniu jonów metalu tylko grupy fosforanowej nukleotydu [72–77]. Zdarza się często, że sposób koordynacji dla jednego kompleksu, np. Cu-AMP, jest prezentowany zupełnie odmiennie przez różnych autorów [35, 38, 58–64], co pokazane zostanie w kolejnych trzech podrozdziałach.

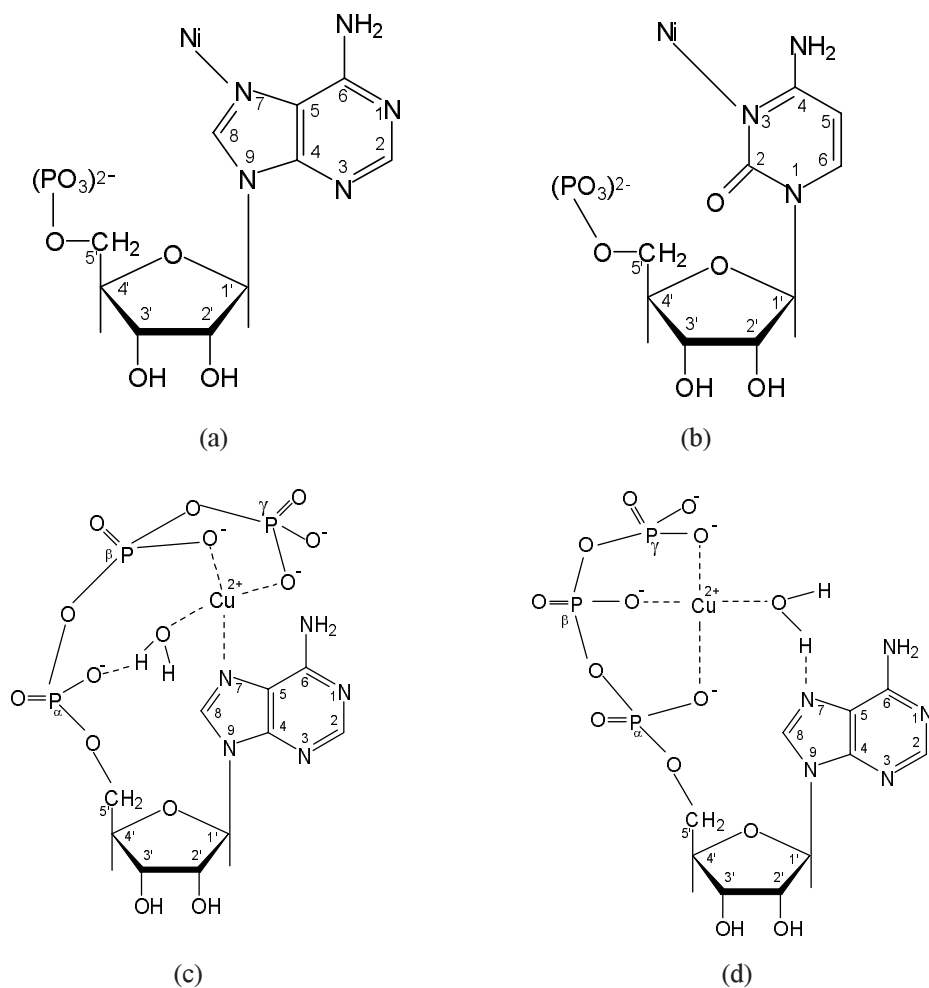
1.1. DONOROWE ATOMY AZOTU NUKLEOTYDU JAKO EFEKTYWNE CENTRA KOORDYNACJI

Zdolność donorowych atomów azotu z pierścieni purynowych i pirymidynowych nukleotydów do koordynacji jonów metali maleje zgodnie z szeregiem: N(7) z Guo \geq N(3) z Cyd \geq N(7) z Ado \geq N(1) z Ado $>$ N(3) Guo (Guo – guanozyna, Cyd – cytydina, Ado – adenozyne) [30]. Atomy azotu z ugrupowania HN(1) z reszty guaniny i HN(3) z uracylu, sprotonowane do pH około 9, koordynują tylko te jony metali (np. jony miedzi), które są zdolne do usunięcia protonu w warunkach obojętnego pH [31–33]. Natomiast, z punktu widzenia teorii miękkich i twardych kwasów oraz zasad, największe powinowactwo do „miękkich” azotów będą wykazywały miękkie metale, jak np. Cd(II), Hg(II), Pd(II) lub Pt(II) [1, 34]. Jony Cu(II), Ni(II) i Co(II) należą do jonów wykazujących właściwości pośrednie i dlatego wykazują powinowactwo zarówno do „miękkiego” azotu, jak i „twardego” tlenu [1, 34].

Niektórzy autorzy sugerują, na podstawie wyników badań potencjometrycznych oraz kalorymetrycznych, że w kompleksach Cu(II) z adenozyne 5'-monofosforanem (AMP) głównym centrum koordynacji jest atom azotu nukleotydu [35]. Uzyskane dla układu Cu(II)/AMP wartości ΔH^0 , ΔS i ΔG^0 porównano z analogicznymi dla układu Cu(II)/Im (Im = imidazol). Ich zbliżone wartości wskazują, że endocykliczny atom azotu N(7) jest głównym, efektywnym centrum donorowym w kompleksach adenozyne 5'-monofosforanu z jonami miedzi [35]. Udział w koordynacji atomu N(7) lub N(1), a także możliwość wiązania metalu przez grupę aminową przy C(6) ATP postuluje się dla kompleksu tego nukleotydu z Cu(II) na podstawie wyników badań IR [36].

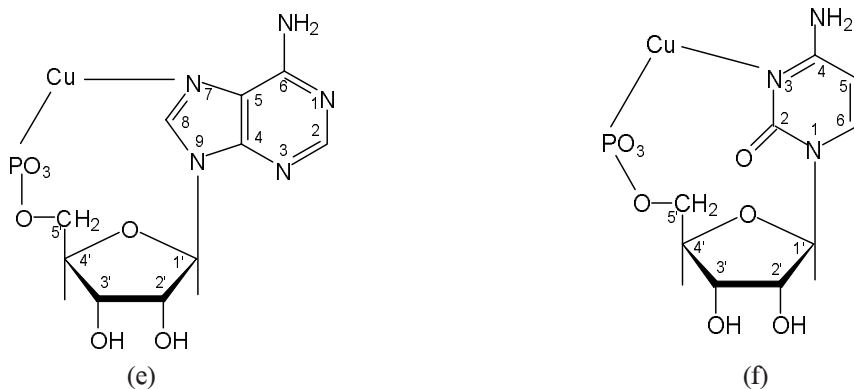
Dla cyklicznego nukleotydu 3',5'-cAMP ustalono, na podstawie badań potencjometrycznych, tworzenie tylko jednego kompleksu $\text{Cu}(3',5'\text{-cAMP})$ [37]. Uzyskane parametry z różnicowych widm UV, które wykazują pasmo absorpcji przy 270 nm, oraz wyniki badań EPR i CD ($g_{\parallel} = 2,366$ i $A_{\parallel} = 140\text{Gs}$) wskazują jednoznacznie, że atom azotu N(7) z reszty adeninowej nukleotydu jest jedynym centrum koordynacji [37].

W kompleksach Ni(II) z nukleotydami purynowymi oraz pirymidynowymi ustalono, że endocykliczne atomy azotu stanowią główne centrum metalacji (Rys. 2a,b). Wskazują na to wyniki porównawczej analizy oznaczonych wartości stałych trwałości jak i rezultaty badań spektroskopowych [38–43].



Rysunek 2. Sposób oddziaływań w układach jonów metali z nukleotydami w kompleksach typu ML

- a) Ni(AMP) [38]; b) Ni(CMP) [38]; c) makrochelat wewnętrzny Cu(ATP) [47];
d) makrochelat zewnętrzny Cu(ATP)(H₂O) [47]; e) Cu(AMP) [38]; f) Cu(CMP) [38]



Rysunek 2. Ciąg dalszy

W zakresie widzialnym widm UV, które wykonano dla wartości pH z przedziału dominacji Ni(AMP), Ni(ADP) i Ni(ATP), λ_{maks} pasma absorpcji wynosi około 380 nm i 780 nm, co świadczy o udziale w koordynacji jednego atomu azotu nukleotydu. W widmach ¹³C i ³¹P NMR omawianych układów, obserwuje się istotne przesunięcia sygnałów tylko od atomów węgla z otoczenia endocyklicznych atomów azotu nukleotydu N(1) i N(7), a nieistotne zmiany położenia sygnałów od atomów fosforu. Utworzenie przez jon niklu chelatu z udziałem w koordynacji obu donorowych atomów azotu jest niemożliwe ze względów przestrzennych. Powstaje zatem mieszanina dwóch izomerów dla każdego z kompleksów Ni(AMP), Ni(ADP), Ni(ATP) z udziałem w wiązaniu jonu metalu atomu N(1) lub N(7) (dychotomia koordynacyjna) [38–40].

Dla układów Ni(II) z nukleotydami pirymidynowymi: CMP, CDP i CTP ustalono, że głównym centrum metalacji jest atom azotu N(3) pierścienia pirymidynowego ligandu (Rys. 2 b) [38, 39].

Model oddziaływań z atomem azotu N(7) w wewnętrznej sferze koordynacyjnej jonu niklu potwierdzono dla kompleksu Ni(AMP) w roztworze stosując technikę ¹H i ¹³C NMR [41]. Natomiast udział atomu N(1), a także grupy C(6)NH₂ w koordynacji jonów niklu stwierdzono dla układów Ni(II) zarówno z AMP, ADP, jak i ATP na podstawie wyników z badań potencjometrycznych i spektroskopowych [42, 43].

1.2. GRUPA FOSFORANOWA I DONOROWE ATOMY AZOTU NUKLEOTYDU JAKO EFEKTYWNE CENTRA KOORDYNACJI

Istotnym, z punktu widzenia możliwości koordynacyjnych nukleotydu, jest fakt, że zarówno w roztworze, jak i w fazie stałej przyjmują one głównie konformację *anti* [26, 27, 44–46], co oznacza, że w wypadku nukleotydu purynowego wiązanie N(9)-C(8), a pirymidynowych N(1)-C(6) usytuowane jest w kierunku reszty cukrowej (Rys. 1) [26]. W konformacji *syn* natomiast, w ten sposób usytuowane jest

wiązanie N(9)-C(4) puryny i wiązanie N(1)-C(2) pirymidyny [26]. Jednocześnie zatem udział w oddziaływaniu z jonami metalu donorowego endocyklicznego atomu azotu i grupy fosforanowej, biorąc pod uwagę możliwości przestrzenne, efektywny jest głównie w przypadku nukleotydów purynowych [8, 30, 32, 38–40, 42, 47].

W wyniku jednoczesnego udziału w koordynacji grupy fosforanowej i atomu azotu nukleotydu powstają kompleksy z pierścieniem chelatowym, nazywane często makrochelatami (Rys. 2c,d,e) [8, 30, 32, 38–40, 48, 49–55]. Tworzenie tego typu kompleksów stwierdzono dla nukleotydów mono-, di- i trifosforanowych z resztą adenozyiny, gваноzyiny oraz inozyiny [8, 30, 32, 38–40, 48, 49–55].

Na stabilność makrochelatów ma wpływ geometria sfery koordynacyjnej jonu metalu [30]. Z tego względu, w kompleksach z jonami Ni(II) wiązanie z atomem azotu jest bardziej preferowane niż z atomem tlenu, a dokładnie odwrotnie jest w kompleksach z jonami Cu(II) [34]. Połączenia koordynacyjne nukleotydów z jonami Cu(II) przyjmują geometrię oktaedru zaburzonego efektem Jahn-Tellera, z silną tendencją do koordynacji atomów donorowych w pozycjach ekwatorialnych. Wśród nich trzy pozycje zajmują atomy tlenu z grupy fosforanowej nukleotydu, a tylko dwie pozycje *cis* (ze względów przestrzennych) są dostępne dla atomu azotu [56]. Natomiast w oktaedrycznej sferze jonu Ni(II) koordynacja z atomem azotu N(7) jest bardziej preferowana [57].

W makrochelatach adeninowych nukleotydów monofosforanowych zarówno atomy tlenu grupy fosforanowej, jak i atomy azotu pozostają w wewnętrznej sferze koordynacyjnej atomu centralnego (Rys. 2e). Efektywność tych grup w oddziaływaniu z atomem centralnym Cu(II), Ni(II) i Co(II) rośnie w szeregu $M(5'-AMP) < M(5'-IMP) < M(5'-GMP)$, ($M = Cu(II), Ni(II), Co(II)$) [38–40, 58–64]. Tego typu model oddziaływań obserwuje się także dla deoksynukleotydów, jak np. dla $5'-(2'-dAMP)$ [65].

W makrochelatach Cu(II) z adenozyino $5'$ -difosforanem (ADP) lub adenozyino $5'$ -trifosforanem (ATP) stwierdzono oddziaływania atomów donorowych nukleotydu z jodem centralnym, z udziałem cząsteczki wody, która pełni rolę mostka w omawianych połączeniach (Rys. 2c,d) [26, 54, 58, 66–71]. Największą tendencję do tworzenia tego typu kompleksów wykazują nukleotydy difosforanowe [66–71].

Cytydino $5'$ -trifosforan przyjmuje w roztworze głównie konfigurację *anti*, w której wiązanie pomiędzy atomami N(1)-C(6) zwrócone jest w kierunku rybozy, dlatego atom N(3) jest zbyt oddalony od grupy fosforanowej, by z jodem Cu(II) wytworzyć związek chelatowy [26, 32, 72–74]. Wbrew powyższym twierdzeniom ustalono, że kompleks Cu(CTP) jest makrochelatem z udziałem w oddziaływaniu atomów tlenu grupy fosforanowej i atomu azotu N(3) pierścienia purynowego. Powinowactwo jonu Cu(II) do atomu azotu jest wystarczająco duże, by zmienić konformację CTP z *anti* na *syn*, co wymaga energii około 6 kJ/mol [30, 47, 66]. Podobne wnioski dla kompleksu Cu-CTP, a także efektywny udział atomu azotu N(3) i grupy fosforanowej w koordynacji ustalono dla kompleksów Cu(II) i Co(II) z CMP i CDP (Rys. 2f), [38–40]. Udział atomu N(3) w wiązaniu jonu metalu potwierdzono

porównawczą analizą oznaczonych wartości stałych trwałości oraz metodami spektroskopowymi (UV-Vis, NMR, EPR). Wyniki badań UV-Vis i EPR wskazują jednoznacznie na obecność atomu azotu, obok atomów tlenu w wewnętrznej sferze koordynacyjnej jonu metalu w kompleksach Cu(CMP) i Cu(CDP) oraz analogicznych kompleksach z jonami Co(II). Istnieje zatem możliwość zmiany konformacji *anti* na *syn* nukleotydu, w wyniku oddziaływań z jonami miedzi, zarówno w CTP, jak i w CMP oraz CDP. Należy jednak zaznaczyć, że w kompleksach z jonami kobaltu głównym centrum donorowym w nukleotydzie pozostaje grupa fosforanowa, a udział atomu azotu N(3) w koordynacji jest drugorzędny [38–40].

1.3. GRUPA FOSFORANOWA NUKLEOTYDU JAKO EFEKTYWNE CENTRUM KOORDYNACJI

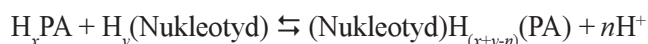
Doniesienia o kompleksach z grupą fosforanową, jako jedynym centrum wiązania jonów Cu(II), Ni(II) lub Co(II), dotyczą głównie nukleotydów pirymidynowych. Ten model oddziaływań ustalono w kompleksach Cu(II), Ni(II) i Co(II) z cytydino-5'-monofosforanem (CMP) i cytydino-5'-difosforanem (CDP) [26, 32, 72–74]. We wszystkich tych połączeniach donorowy atom azotu pierścienia pirymidynowego nie jest włączony w oddziaływanie z atomem centralnym. Wnioski te wydają się zaskakujące, ponieważ sama cytydyna tworzy szereg kompleksów z wymienionymi wyżej jonami metali, z udziałem w koordynacji właśnie atomu azotu N(3) [75]. Należy jednak uwzględnić fakt, że dominującą w roztworze jest dla nukleotydu konformacja *anti*, co uniemożliwia jednoczesne uczestnictwo w koordynacji obu centrów donorowych nukleotydu. Wyjątek stanowi układ Cu(II)/CTP, w którym znaczne powinowactwo jonów miedzi do azotu pozwala na zmianę konfiguracji nukleotydu i utworzenie kompleksu Cu(CTP), w którym w koordynację włączone są zarówno atomy tlenu grupy fosforanowej, jak i atom azotu N(3) z cytydino-5'-trifosforanu [66].

Mimo braku ograniczeń związanych z rodzajem konformacji, w przypadku nukleotydów purynowych ustalono, na podstawie porównawczej analizy oznaczonych wartości stałych trwałości oraz wyników badań kalorymetrycznych, że jedynym centrum donorowym w kompleksach Cu(II) z ATP jest grupa fosforanowa [76, 77]. Zaskakującym jest fakt, że wyniki pracy tych samych autorów [76] dotyczących kompleksów Cu(II) z AMP wykluczają grupę fosforanową z oddziaływania z jonami Cu(II), a jako jedyne centrum koordynacji autorzy podają azot N(1) z reszty adeninowej [35].

2. ODDZIAŁYWANIA NIEKOWALENCYJNE W UKŁADACH NUKLEOTYD/TETRAMINA

Nukleotydy są obecne praktycznie we wszystkich organizmach żywych, a ich reakcje ze związkami występującymi w tych organizmach, szczególnie z poliaminami, odgrywają istotną rolę w procesach biologicznych. Oddziaływania nukleotydów z innymi biomolekułami mają charakter słabych oddziaływań niekowalencyjnych i są odpowiedzialne, między innymi, za selektywność procesów zachodzących w układach biologicznych [78, 79].

Centra donorowe nukleotydu oddziałują ze sprotonowanymi w warunkach fizjologicznych ugrupowaniami -NH_x^+ tetramin, w wyniku czego powstają kompleksy molekularne (addukty) zgodnie, z reakcją:



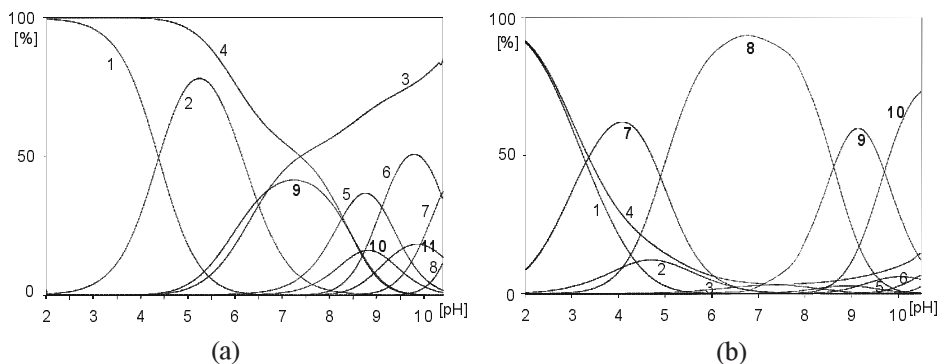
Tworzenie adduktów nukleotyd-tetramina przesuwają równowagę kwasowo-zasadową układu, czemu towarzyszy zwiększenie stężenia kationów wodorowych. Umożliwia to zastosowanie metod potencjometrycznych dla wyznaczenia składu i termodynamicznej trwałości powstających adduktów [80–87]. Kompleksy molekularne tworzą się zwykle, gdy w reagującym układzie występują co najmniej dwa centra aktywne (ujemne na zdeprotonowanym nukleotydzie, a dodatnie na sprotonowanej poliaminie) [88]. W konsekwencji słabych oddziaływań nukleotyd-tetramina, zmienia się gęstość elektronowa na efektywnych w oddziaływaniu centrach donorowych nukleotydu. W wyniku zmian gęstości obserwuje się przesunięcia położenia sygnałów w widmie NMR (w stosunku do wolnego ligandu) zarówno od atomów będących centrami oddziaływań, jak i od atomów sąsiednich. Stwierdzono ponadto, że zmiany położenia sygnałów w widmie NMR od atomów nukleotydu oddalonych od centrów oddziaływań są nieistotne (Tabela 1) [80, 81].

Tabela 1. Zmiany w położeniu sygnałów w widmach ^{13}C NMR [ppm] (w stosunku do wolnego ligandu) dla układów nukleotyd/poliamina [80, 81]

Addukt	Centra oddziaływania w nukleotydzie	pH	Nukleotyd								
			C(2)	C(6)	C(5)	C(8)	C(4)	C (5')	P _α	P _β	P _γ
(AMP)H ₂ (Spm)	N(1), N(7)	10	0.245	0.745	0.714	0.189	0.003	0.010	0.012		
(ADP)H ₄ (Spm)	N(1), N(7)	7	0.070	0.107	0.114	0.067	0.000	0.007	0.004	0.008	
(ATP)H ₄ (Spm)	N(1), N(7)	7	0.089	0.056	0.044	0.124	0.009	0.013	0.015	0.004	0.008
(ADP)H ₄ (3,3,3-tet)	N(1), N(7), -PO ₃ ²⁻	5	0.570	0.300	0.314	0.100	0.000	0.070	0.664	0.176	

W dotychczasowych doniesieniach istnieje znaczna rozbieżność poglądów autorów co do charakteru oddziaływań i efektywności grup donorowych nukleotydu w tworzeniu adduktów z poliaminami [80–82, 85–87, 89, 90]. Niektórzy autorzy uważają (na podstawie porównawczej analizy oznaczonych wartości stałych trwałości oraz badań spektroskopowych), że oddziaływania te mają charakter niekowalencyjny typu jon-jon lub jon-dipol, a o trwałości tworzonych kompleksów molekularnych decyduje ilość aktywnych centrów w reagentach, długość łańcucha poliaminy oraz czynnik strukturalny [80–84, 88]. Inni natomiast twierdzą, że są to typowe oddziaływania elektrostatyczne, a stabilność tworzonych adduktów jest uzależniona tylko od ładunku reagentów [85–87, 89]. Znaczne zróżnicowanie poglądów co do efektywności w oddziaływaniu ze sprotonowanymi atomami azotu tetraminu dotyczy głównie endocyklicznych atomów azotu pierścieni purynowych i pirymidynowych oraz zdeprotonowanej, już w niskim pH, grupy fosforanowej nukleotydu [77, 80–87, 89, 90].

Stwierdzono, na podstawie badań równowagowych i spektroskopowych (^{13}C i ^{31}P NMR), że w adduktach AMP, ADP i ATP ze sperminą grupa fosforanowa jest mało efektywna w oddziaływaniu [80, 81]. Wniosek ten jest tym bardziej zaskakujący, że w układach tych właśnie częściowo zdeprotonowana grupa fosforanowa jest jedynym zdolnym do oddziaływań ze sprotonowaną poliaminą centrum donorowym, przy niskich wartościach pH. Ustalono, że ta niska efektywność grupy fosforanowej jest konsekwencją konkurencyjnych reakcji z nukleotydem jonów sodu i potasu obecnych w układzie [79]. Usunięcie jonów potasu zmienia obraz oddziaływań między bioligandami, co uwidacznia się szczególnie w tworzeniu nowych połączeń z udziałem grupy fosforanowej w oddziaływaniach, przy niskich wartościach pH. W układzie ATP/Spm zaobserwowano tworzenie kompleksów molekularnych od pH około 4,0 (Rys. 3a), podczas gdy w tym samym układzie bez jonów potasu, w pH 4,0, blisko 60% ligandów tworzy addukt $(\text{ATP})\text{H}_2(\text{Spm})$ (Rys. 3b) [81].



Rysunek 3. Krzywe dystrybucji adduktów tworzących się w układach (procentowa zawartość adduktu w stosunku do całkowitego stężenia wolnego ligandu) [81]: a) ATP/Spm: 1. H_2ATP ; 2. HATP ; 3. ATP ; 4. H_4Spm ; 5. H_3Spm ; 6. H_2Spm ; 7. HSpm ; 8. Spm ; 9. $(\text{ATP})\text{H}_4(\text{Spm})$; 10. $(\text{ATP})\text{H}_3(\text{Spm})$; 11. $(\text{ATP})\text{H}_2(\text{Spm})$; $C_{\text{ATP}} = 0,01\text{M}$; $C_{\text{Spm}} = 0,01\text{M}$; b) ATP/Spm bez K^+ : 1. H_2ATP ; 2. HATP ; 3. ATP ; 4. H_4Spm ; 5. H_3Spm ; 6. H_2Spm ; 7. $(\text{ATP})\text{H}_3(\text{Spm})$; 8. $(\text{ATP})\text{H}_4(\text{Spm})$; 9. $(\text{ATP})\text{H}_2(\text{Spm})$; 10. $(\text{ATP})\text{H}_2(\text{Spm})$; $C_{\text{ATP}} = 0,01\text{M}$; $C_{\text{Spm}} = 0,01\text{M}$

Nukleotydy purynowe zachowują się odmiennie w reakcjach z krótszym homologiem sperminy – 1,11-diamino-4,8-diazaundecanem (3,3,3-tet) [81, 91]. W tworzących się kompleksach molekularnych grupa fosforanowa nukleotydu także stanowi efektywne centrum donorowe. Usunięcie jonów potasu z układów AMP, ADP lub ATP z 3,3,3-tet powoduje tylko nieznaczne różnice w wartościach stałych trwałości tworzących się kompleksów molekularnych, natomiast skład ich pozostaje niezmienny. Wyniki powyższe wskazują, że udział grupy fosforanowej nukleotydów purynowych w oddziaływaniu z tetraminami jest wypadkową dwóch czynników, tj. ingerujących w oddziaływanie nukleotyd-poliamina jonów sodu i potasu oraz czynnika strukturalnego, czyli dopasowania bioligandów. Z drugiej strony, te różnice w efektywności oddziaływań nukleotydów z biogenną sperminą i tych samych nukleotydów z jej krótszym homologiem 3,3,3-tet są istotne w tłumaczeniu różnic w aktywności biologicznej poliamin i szukaniu odpowiedzi na pytanie, dlaczego tylko kilka z szeregu amin występuje w znacznym stężeniu w komórkach żywych. Wpływ jonów potasu, sodu i anionów chlorkowych na aktywność grup donorowych nukleotydu w reakcjach z tetraminą obserwowano także w układach UMP, ADP i ATP ze sperminą (UMP – urydyno-5'-monofosforan) [83, 85–87].

3. ODDZIAŁYWANIA W UKŁADACH TRÓJSKŁADNIKOWYCH METAL/NUKLEOTYD/TETRAMINA

Charakter koordynacji w kompleksach tworzących się w układach metal/nukleotyd/tetramina określano wykorzystując zmiany w wartościach parametrów uzyskanych z badań spektroskopowych (UV-Vis, EPR, NMR), obserwowane wraz ze wzrostem ilości atomów donorowych biorących udział w koordynacji [81–83, 91–95]. Wpływ paramagnetycznych jonów na widmo NMR nukleotydu można zminimalizować wykonując badania w układach z dużym nadmiarem ligandu w stosunku do stężenia jonów metalu. Ogólne wnioski, dotyczące oddziaływań w badanych układach potrójnych, uzyskuje się łącząc analizę wyników badań spektroskopowych z rezultatami porównawczej analizy oznaczonych wartości stałych trwałości [80–82, 91, 92, 94, 95].

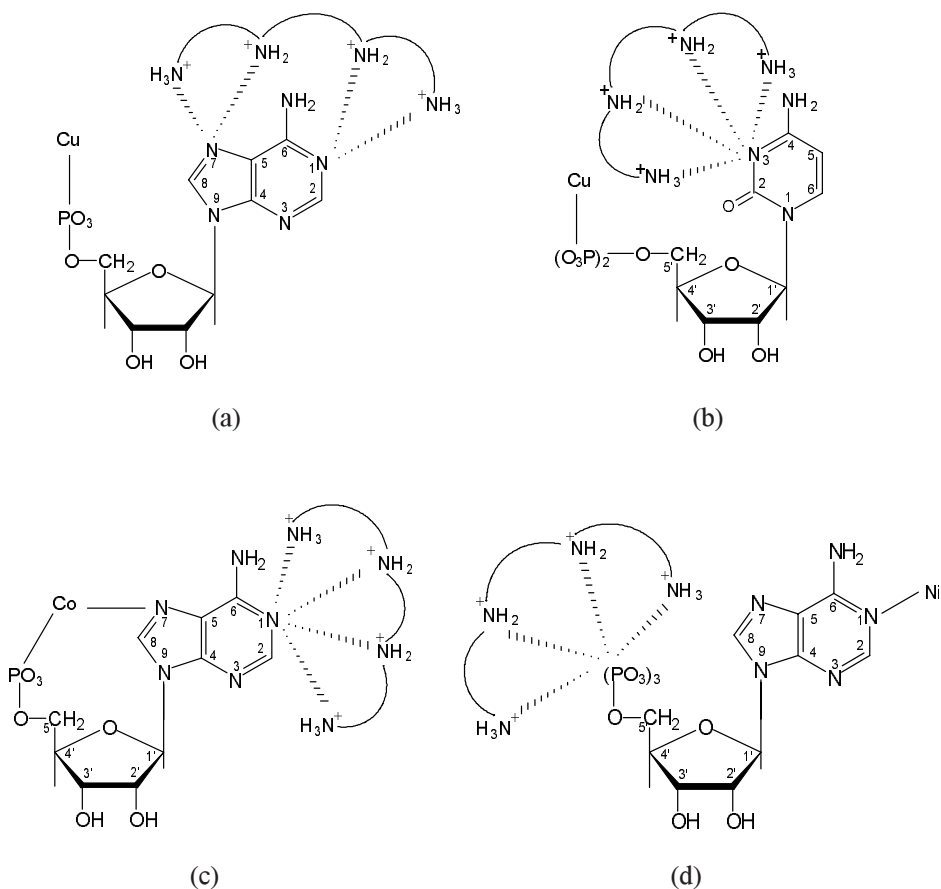
Centra oddziaływań niekowalencyjnych w nukleotydzie to jednocześnie potencjalne miejsca koordynacji, zatem jony metalu, obecne także w komórkach żywych, traktować należy jako czynnik ingerujący w tego typu oddziaływanie. W kompleksach mieszanych metal/nukleotyd/tetramina grupy elektrodonorowe nukleotydów uczestniczą zarówno w wiązaniu jonu metalu, jak i słabych oddziaływaniach z poliaminą. Koordynacja jonów niklu(II) przez grupą fosforanową nukleotydu, w stosunku do jonów miedzi(II) i kobaltu(II), jest dużo mniej efektywna [38–40, 92].

W omawianych układach trójskładnikowych, poza kompleksami ML, powstają heteroligandowe połączenia molekularne $ML \cdots H_x L'$ ($x = 4$, $H_x L'$ to całkowicie sprotonowana poliamina, która oddziałuje niekowalencyjnie z kompleksem ML nukleotydu), kompleksy mieszane protonowane $MLH_x L'$ ($x = 1, 2, 3$) oraz typu MLL' .

3.1. HETEROLIGANDOWE KOMPLEKSY MOLEKULARNE $ML \cdots H_x L'$

Kompleksy mieszane molekularne tworzą się (przy niskich wartościach pH) w wyniku interakcji w pełni sprotonowanej tetraminy (H_4L') z wiążącym jon metalu (M) nukleotydem (L). Całkowicie sprotonowana poliamina (zablokowane do koordynacji ugrupowania $-NH_2^+$) pozostaje w zewnętrznej sferze koordynacyjnej jonu centralnego.

W heteroligandowych kompleksach molekularnych z jonami miedzi głównym centrum metalacji jest grupa fosforanowa nukleotydu, a atomy azotu N(1) i N(7) z pierścienia purynowego lub atom N(3) z pierścienia pirymidynowego oddziałują niekowalencyjnie z całkowicie sprotonowaną poliaminą (Rys. 4a,b) [80–82, 91, 94]. Mało prawdopodobny wydaje się model oddziaływań ustalony dla $Cu(AMP)H_4(Spm)$ z atomem azotu N(1) jako centrum koordynacji [35].



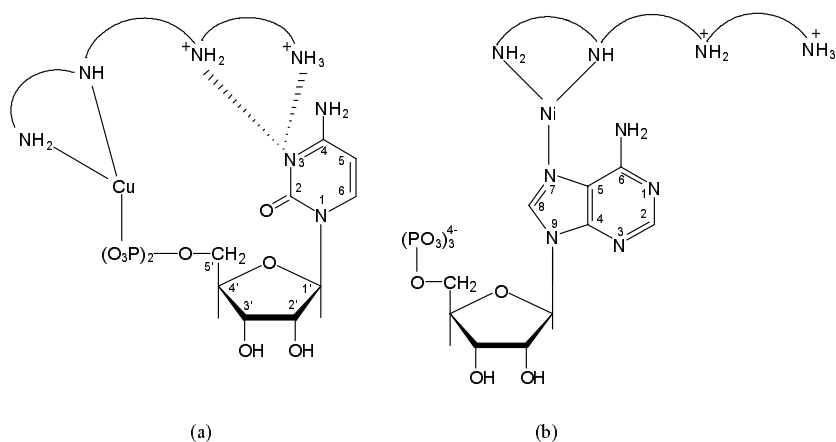
Rysunek 4. Przykłady heteroligandowych kompleksów molekularnych:

a) $Cu(AMP)H_4(Spm)$ [80]; b) $Cu(CDP)H_4(Spm)$ [82]; c) $Co(AMP)H_4(Spm)$ [92]; d) $Ni(ATP)H_4(Spm)$ [96]

W kompleksach molekularnych z jonami kobaltu(II) w koordynację włączona jest grupa fosforanowa i atom azotu N(7) z pierścienia puryny, a w oddziaływaniu niekowalencyjnym aktywny jest atom azotu N(1) nukleotydu (Rys. 4c) [92, 96]. Odmienne w kompleksach z jonami niklu(II): jony metalu wiązane są przez atomy azotu N(1) lub N(7), a grupa fosforanowa oddziałuje niekowalencyjnie ze sprotonowaną tetraminą [92, 96]. Nie ulega wątpliwości, że tworzenie związku chelatowego z jednoczesnym wiązaniem atomu centralnego przez atom N(1) i N(7) puryny jest niemożliwe ze względów sferycznych, zatem kompleksy molekularne $ML \cdots H_x L'$ z udziałem jonów niklu(II) są mieszaniną dwóch izomerów (zjawisko dychotomii koordynacyjnej) [92, 96]. W kompleksie molekularnym $Ni(AMP)H_4(Spm)$, w którym kotwiczącym połączeniem jest $Ni(AMP)$, jon niklu(II) koordynowany jest przez atom azotu N(1) albo N(7) z pierścienia purynowego nukleotydu, podczas gdy sprotonowane centra $-NH_x^+$ tetraminy oddziałują niekowalencyjnie z grupą fosforanową nukleotydu (Rys. 4d) [92]. W każdym z kompleksów molekularnych całkowicie sprotonowana tetramina pozostaje w zewnętrznej sferze koordynacyjnej jonu metalu (Rys. 4).

3.2. KOMPLEKSY MIESZANE PROTONOWANE MLH_xL' .

Przy niskich wartościach pH tworzą się, jak to opisano powyżej, heteroligandowe kompleksy molekularne $ML \cdots H_x L'$. Wraz ze wzrostem wartości pH i stopniową deprotonacją poliaminy obserwuje się tworzenie kompleksów mieszanych protonowanych MLH_xL' ($x = 1, 2, 3$). Przykłady oddziaływań w tego typu kompleksach pokazane są na Rysunku 5 [81, 82, 92, 96].



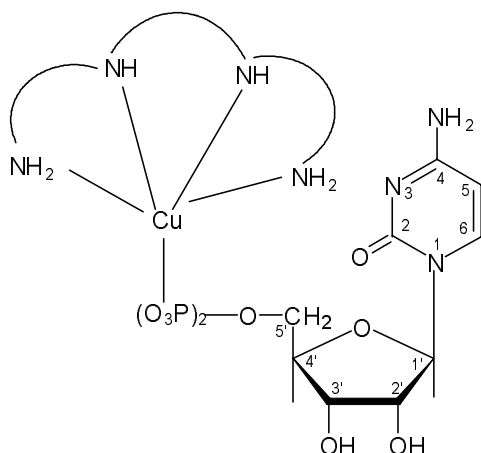
Rysunek 5. Sposób oddziaływań w kompleksach mieszanych protonowanych
 a) $Cu(CDP)H_2(Spm)$ – kompleks mieszany protonowany z dodatkową stabilizacją z udziałem słabych oddziaływań nukleotydu – tetramina [82]; b) $Ni(ATP)H_2(3,3,3\text{-tet})$ – kompleks mieszany protonowany bez dodatkowej stabilizacji [96]

W kompleksach mieszanych protonowanych, w sferę koordynacyjną jonu centralnego włączone są donorowe atomy nukleotydu oraz zdeprotonowane atomy azotu poliaminy (Rys. 5a) [81, 82]. Jeżeli uzyskana w wyniku analizy badań równowagowych wartość $\Delta \log K_e = \log K_e \text{MLH}_x\text{L}' - \log K_e \text{MH}_x\text{L}' > 0,45$, ($\log K_e \text{MLH}_x\text{L}' = \log \beta \text{MLH}_x\text{L}' - \log \beta \text{ML} - \log \beta \text{H}_x\text{L}'$), to wskazuje ona na występowanie dodatkowej stabilizacji w kompleksie heteroligandowym [97], (Rys. 5a). Powodują ją intermolekularne słabe oddziaływania nieefektywnych w koordynacji donorowych ugrupowań nukleotydu ze sprotonowanymi atomami azotu poliaminy (Rys. 5a). Tego typu oddziaływania obserwowano w kompleksach mieszanych protonowanych z jonami miedzi, zarówno w układach z nukleotydami purynowymi, jak i pirymidynowymi oraz sperminą (np. $\text{Cu}(\text{ATP})\text{H}_3(\text{Spm})$, $\text{Cu}(\text{CTP})\text{H}_2(\text{Spm})$ lub $\text{Cu}(\text{CTP})\text{H}_3(\text{Spm})$) [81, 82]. Natomiast w układach jonów miedzi z nukleotydami purynowymi a także pirymidynowymi oraz krótszym homologiem sperminy 1,11-diamino-4,8-diazaundecanem (3,3,3-tet) nie tworzą się kompleksy mieszane protonowane, a tylko połączenia typu MLL' [81, 82].

W układach z jonami niklu dodatkowej stabilizacji nie obserwowano w kompleksach $\text{Ni}(\text{AMP})\text{H}_2(3,3,3\text{-tet})$, $\text{Ni}(\text{ADP})\text{H}_2(3,3,3\text{-tet})$, $\text{Ni}(\text{ATP})\text{H}_2(3,3,3\text{-tet})$, (Rys. 5b), odmiennie niż w kompleksach ze sperminą, co wskazuje na wpływ czynnika strukturalnego na efektywność grup donorowych nukleotydów w oddziaływaniu [92, 96].

3.3. KOMPLEKSY MIESZANE MLL'

W układach z jonami miedzi(II) wraz ze wzrostem pH, maleje efektywność donorowych atomów azotu pierścienia purynowego i pirymidynowego nukleotydu w wiązaniu jonów metali. Znajduje to odzwierciedlenie w tworzeniu, przy wysokich wartościach pH, kompleksów MLL' , w których jon centralny skoordynowany jest przez atomy tlenu grupy fosforanowej nukleotydu i zdeprotonowane atomy azotu tetraminy, podczas gdy donorowe atomy azotu nukleotydu znajdują się poza wewnętrzną sferą koordynacji (Rys. 6) [81, 82, 91].



Rysunek 6. Kompleks typu MLL' Cu(CDP)(3,3,3-tet) [82]

Obserwowano także, że kompleksy typu MLL' są jedynymi połączeniami heteroligandowymi we wszystkich układach Cu(II)/nukleotydy/(3,3,3-tet) [81, 82]. W widmach NMR analizowanych kompleksów obserwuje się zmiany położenia sygnałów (w stosunku do widm wolnych ligandów) od atomu węgla C(5') sąsiadującego z grupą fosforanową i od atomów fosforu nukleotydu oraz sygnałów od wszystkich atomów węgla tetraminy. Z drugiej strony, nieistotne zmiany położenia sygnałów od atomów węgla sąsiadujących z donorowymi atomami azotu nukleotydu wskazują, że atomy te znajdują się poza wewnętrzną sferą koordynacyjną jonu miedzi. Donorowe atomy azotu nukleotydu, nieefektywne w metalacji w kompleksach MLL', są włączone w oddziaływanie z innymi bioligandami obecnymi w wieloskładnikowych układach biologicznych. W rozszerzonym o urydynę układzie Cu(II)/ATP/3,3,3-tet stwierdzono tworzenie czteroskładnikowego połączenia Cu(ATP)(3,3,3-tet)H(Urd). W kompleksie tym w koordynacji jonu miedzi udział biorą atomy tlenu grupy fosforanowej nukleotydu oraz zdeprotonowane atomy azotu tetraminy, podczas gdy donorowe atomy azotu nukleotydu N(1) i N(7) oddziałują niekowalencyjnie ze sprotonowaną urydyną.

WNIOSKI

1. W kompleksach Cu(II) i Co(II) z nukleotydami tworzącymi się w układach binarnych, jak na to wskazuje większość opublikowanych prac, w koordynacji uczestniczą atomy tlenu grupy fosforanowej i endocykliczne atomy azotu. W przypadku jonów Ni(II), głównym centrum metalacji są endocykliczne atomy azotu nukleotydu, a grupa fosforanowa jest mało efektywna w koordynacji. Niektórzy autorzy uważają, że w wiązaniu jonu metalu bierze udział tylko grupa fosforanowa nukle-

otydu. Endocykliczne atomy azotu nukleotydu pełnią w wiązaniu jonów metalu drugorzędną rolę.

2. We wszystkich badanych układach nukleotydu/poliamina bez jonów metalu, w wyniku niekowalencyjnych oddziaływań typu jon-jon lub jon-dipol, tworzą się kompleksy molekularne typu $(\text{Nukleotydu})\text{H}_x(\text{poliamina})$, w tworzenie których włączone są elektrodonorowe, endocykliczne atomy azotu nukleotydu.

3. W układach potrójnych $\text{Cu(II)/nukleotydu/tetramina}$, $\text{Ni(II)/nukleotydu/tetramina}$ i $\text{Co(II)/nukleotydu/tetramina}$ tworzą się kompleksy mieszane: molekularne $\text{ML}\cdots\text{H}_x\text{L}'$, protonowane $\text{MLH}_x\text{L}'$, oraz typu MLL' , w których obserwuje się istotny wpływ poliaminy na efektywność donorowych grup nukleotydów. W heteroligandowych kompleksach molekularnych z jonami Cu(II) w koordynacji uczestniczy grupa fosforanowa nukleotydu, z jonami Co(II) grupa fosforanowa i endocykliczne atomy azotu nukleotydu, a z jonami Ni(II) endocykliczne atomy azotu nukleotydu. Pozostałe centra elektrodonorowe nukleotydów uczestniczą w słabych, niekowalencyjnych oddziaływaniach z całkowicie sprotonowaną poliaminą. W kompleksach protonowanych $\text{MLH}_x\text{L}'$ występują wewnątrzcząsteczkowe, międzyligandowe niekowalencyjne oddziaływania dodatkowo stabilizujące kompleks.

4. W układach $\text{Cu(II)/nukleotydu/poliamina}$, we wszystkich połączeniach typu MLL' , efektywną w koordynacji jest grupa fosforanowa nukleotydu, podczas gdy donorowe atomy azotu pierścienia purynowego lub pirymidynowego pozostają poza wewnętrzną sferą koordynacyjną jonów miedzi.

5. Aktywność grup donorowych nukleotydów w reakcjach z jonami metali, w obecności tetraminu, jest ciekawym przykładem zależności od pH. Wraz ze wzrostem zasadowości roztworu, obserwuje się coraz mniejszą efektywność w wiązaniu jonów metalu przez atomy azotu donorowych atomów azotu nukleotydów.

PODZIĘKOWANIE

Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych jako projekt badawczy Nr 3 T09A 086 27.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] J.J.R. Fraústo da Silva, R.J.P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon Press; Oxford; 1991, pp. 1–561.
- [2] G.L. Einhorn, [w:] G.L. Einhorn (ed.), *Inorganic Biochemistry*, Vol. 2, Elsevier, Amsterdam, London, New York, 1973, p. 1191.
- [3] S.R. Rajski, R.W. Williams, *Chem. Rev.*, 1998, **98**, 2723.
- [4] A. Sigel, H. Sigel, R.K.O. (eds.), *Metal Ions in Biological Systems*: Vol. 43, 44; Taylor and Francis; Boca Raton; 2005.
- [5] H. Sigel, [w:] *Metal-DNA Chemistry*, T.D. Tielling (ed.), ACS Symposium Series 402; American Chemical Society; Washington DC; 1989, 159.

- [6] P.D. Boyer, *Biochemistry*, 1987, **26**, 8503.
- [7] E. Cabib, J. Dragonova, T. Dragon, *Annu. Rev. Biochem.*, 1988, **67**, 307.
- [8] H. Sigel, E.M. Bianchi, N.A. Corfú, Y. Kinjo, R. Tribolet, R.B. Martin, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7**, 3729.
- [9] J.W. Gysbers, S. Guarnieri, M.A. Mariggio, T. Pietrangelo, G. Fano, M.P. Rathbone, *Neuroscience*, 2000, **96**, 817.
- [10] P. Karlson, [w:] *Kurzes Lehrbuch der Biochemie*, 11th Edition, G. Thieme, Stuttgart and New York, 1980, p. 306.
- [11] B.E.C. Bank, *Chem. Brit.*, 1996, **32**, May, 28.
- [12] J. Jänne, H. Pösö, A. Raina, *Biochim. Biophys. Acta*, 1978, **473**, 241.
- [13] J.W. Arndt, W. Gong, X. Zhong, A.K. Showalter, J. Liu, C.A. Dunlap, Z. Lin, C. Paxson, M.D. Tsai, M.K. Chan, *Biochemistry*, 2001, **40**, 5360.
- [14] T.A. Steitz, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 7395.
- [15] F.Y.-H. Wu, C.-W. Wu, *Met. Yono Biol. Syst.*, 1983, **15**, 157.
- [16] T. Thomas, T.J. Thomas, *Cell. Mol. Life Sci.*, 2001, **58**, 244.
- [17] L. Van Dam, N. Korolev, L. Nordenskiöld, *Nucleic Acids Res.*, 2002, **30**, 419.
- [18] Ruiz-Chica, M.A. Medina, F. Sanchez-Jimenez, F.J. Ramirez, *Biophys. J.*, 2001, **80**, 443.
- [19] H. Tabor, *Biochemistry*, 1962, **1**, 496.
- [20] V.A. Bloomfield, *Biopolymers*, 2000, **259**, 168.
- [21] L. Goshle, J.A. Shellman, *Nature*, 1976, **259**, 333.
- [22] C.W. Tabor, H. Tabor, *Ann. Rev. Biochem.*, 1984, **53**, 749.
- [23] L. Lono, A. Gos, *Polyhedron*, 2000, **19**, 1145.
- [24] N. Korolev, A.P. Lynbartsew, L. Nodenskiöld, A. Laaksonen, *J. Mol. Biol.*, 2001, **308**, 907.
- [25] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acids Structure*, Springer Verlag, New York, Berlin; 1984, pp. 1–556.
- [26] R.B. Martin, Y.H. Mariam, *Met. Ions Biol. Syst.*, 1979, **8**, 57.
- [27] D.B. Davies, P. Rajani, H. Sadikot, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1985, 279.
- [28] J.A. Cowan, *Comments Inorg. Chem.*, 1992, **13**, 293.
- [29] H. Lönnberg, [w:] *Biocoordination Chemistry*, K. Burger (ed.), London, 1990, p. 284.
- [30] H. Sigel, *Chem. Soc. Rev.* 1993, **22**, 255.
- [31] R.B. Martin, *Acc. Chem. Res.*, 1985, **18**, 32.
- [32] K.H. Scheller, F. Hofstetter, P.R. Mitchell, B. Puijs, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 247.
- [33] H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* 1975, **97**, 3209.
- [34] R.B. Martin, *Met. Ions Biol. Syst.*, 1986, **20**, 21.
- [35] M.L. Antonelli, S. Balzamo, V. Crunchio, E. Cernia, R. Purrello, *J. Inorg. Biochem.*, 1988, **32**, 153.
- [36] F.L. Khall, T.L. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 5113.
- [37] P. Kaczmarek, M. Jeżowska-Bojczuk, *Inorg. Chim. Acta*, 2005, **358**, 2073.
- [38] A. Gašowska, L. Łomozik, *Polish J. Chem.*, 1999, **73**, 465.
- [39] A. Gašowska, R. Bregier-Jarzębowska, L. Łomozik, *Polish J. Chem.*, 2002, **76**, 773.
- [40] L. Łomozik, A. Gašowska, R. Bregier-Jarzębowska, *Polish J. Chem.*, 2004, **78**, 2023.
- [41] J.L. Leroy, M. Gueron, *J. Am. Chem. Soc.* 1986, **108**, 5753.
- [42] H.A. Azab, A. Hassan, A.A. El-Nady, R.S.A. Azkal, *Monatsh. Chem.*, 1993, **124**, 267.
- [43] H. Sternlicht, R.G. Shulman, E.W. Anderson, *J. Chem. Phys.*, 1965, **43**, 3133.
- [44] R. Tribolet, H. Sigel, *Eur. J. Biochem.*, 1987, **163**, 353.
- [45] N.A. Corfu, R. Tribolet, H. Sigel, *Eur. J. Biochem.*, 1990, **191**, 721.
- [46] N.A. Corfu, H. Sigel, *Eur. J. Biochem.*, 1991, **199**, 659.
- [47] H. Sigel, R. Griesser, *Chem. Soc. Rev.*, 2005, **34**, 875.
- [48] E.M. Bianchi, S. AliA. Sajadi, B. Song, H. Sigel, *Chem. Eur. J.*, 2003, **9**, 881.

- [49] P. Cormona, P.V. Houg, E. Gredilla, J. Raman Spectrosc., 1988, **19**, 315.
- [50] E.M. Bianchi, S.Ali A. Sajadi, B. Song, H. Sigel, Inorg. Chim. Acta, 2000, **487**, 300.
- [51] B. Song, J. Zhao, R. Griesser, C. Meiser, H. Sigel, B. Lippert, Chem. Eur. J., 1999, **5**, 2374.
- [52] R.K.O. Sigel, B. Song, H. Sigel, J. Am. Chem. Soc., 1997, **119**, 744.
- [53] M. Cohn, T.R. Hughes, J. Biol. Chem., 1962, **237**, 176.
- [54] H. Sigel, S.S. Massoud, N.A. Corfu, J. Am. Chem. Soc., 1994, **116**, 2958.
- [55] H. Sigel, Eur. J. Biochem., 1987, **165**, 65.
- [56] H. Sigel, R.B. Martin, Chem. Rev., 1982, **82**, 385.
- [57] N. Saha, H. Sigel, J. Am. Chem. Soc., 1982, **104**, 4100.
- [58] H. Sigel, S.S. Massoud, R. Tribolet, J. Am. Chem. Soc., 1988, **110**, 6857.
- [59] C.M. Frey, J.E. Stuehr, Met. Ions Biol. Syst., 1974, **1**, 51.
- [60] C.M. Frey, J.E. Stuehr, J. Am. Chem. Soc., 1978, **100**, 134.
- [61] C.M. Frey, J.E. Stuehr, J. Am. Chem. Soc., 1978, **100**, 139.
- [62] J.C. Thomas, C.M. Frey, J.E. Stuehr, J. Am. Chem. Soc., 1980, **19**, 505.
- [63] R.S. Taylor, H. Diebler, Bioinorg. Chem., 1976, **6**, 247.
- [64] A. Peguy, H. Diebler, J. Phys. Chem., 1997, **81**, 1355.
- [65] L.Y. Kuo, M.G. Kanatzidis, T.J. Marks, J. Am. Chem. Soc., 1987, **109**, 7207.
- [66] H. Sigel, R. Tribolet, R. Malini-Balakrishnan, R.B. Martin, Inorg. Chem., 1987, **26**, 2149.
- [67] H. Sigel, D.B. McCornick, Acc. Chem. Res., 1970, **3**, 201.
- [68] H. Sigel, U. Müller, Helv. Chim. Acta, 1966, **49**, 671.
- [69] H. Sigel, C. Flierl, R. Griesser, J. Am. Chem. Soc., 1969, **91**, 1061.
- [70] R. Griesser, B. Prijs, H. Sigel, J. Am. Chem. Soc., 1969, **91**, 7758.
- [71] H. Sigel, K.H. Scheller, Eur. J. Biochem., 1984, **138**, 291.
- [72] S. Ali A. Sajadi, B. Song, F. Gregan, H. Sigel, Inorg. Chem., 1999, **38**, 439.
- [73] S. Ali A. Sajadi, B. Song, H. Sigel, Inorg. Chim. Acta, 1998, **283**, 193.
- [74] S.S. Massoud, H. Sigel, Inorg. Chem., 1988, **27**, 1447.
- [75] Y. Kinjo, L. Li, N.A. Corfu, H. Sigel, Inorg. Chem., 1992, **31**, 5588.
- [76] M.L. Antonelli, V. Carunchio, E. Cernia, R. Purello, J. Inorg. Biochem., 1989, **37**, 201.
- [77] J.A. da Silva, J. Felcman, A.L.R. Merce, A.S. Mangrich, R.C.S. Lopes, C.C. Lopes, Inorg. Chim. Acta, 2003, **356**, 155.
- [78] E. Frieden, J. Chem. Educ., 1975, **52**, 754.
- [79] B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J.D. Watson, *Molecular Biology of the Cell*, Garland, New York, 3rd edn., 1984, 89.
- [80] L. Lomozik, A. Gasowska, J. Inorg. Biochem., 1998, **72**, 37.
- [81] A. Gasowska, J. Inorg. Biochem., 2003, **96**, 346.
- [82] A. Gasowska, J. Inorg. Biochem., 2005, **99**, 1698.
- [83] L. Lomozik, R. Jastrzab, J. Inorg. Biochem., 2003, **93**, 132.
- [84] L. Lomozik, R. Jastrzab, J. Inorg. Biochem., 2003, **97**, 179.
- [85] C. De Stefano, O. Gluffre, S. Sammartano, A. Gianguzza, D. Plazzese, Chem. Spec. Bioavailab., 2001, **13**, 113.
- [86] C. De Stefano, C. Foti, A. Gianguzza, O. Gluffre, S. Sammartano, J. Chem. Soc. Faraday Trans., 1996, **92**, 1511.
- [87] C. De Stefano, O. Gluffre, S. Sammartano, J. Chem. Soc. Faraday Trans., 1998, **94**, 1091.
- [88] L. Lomozik, A. Gasowska, L. Bolewski, J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1997, **2**, 1161.
- [89] A. Corazza, M.L. Di Paolo, M. Skarpa, L. Zennaro, A. Rigo, Appl. Magn. Reson., 1994, **7**, 89.
- [90] D. Meksuriyen, T. Fukuchi-shimogori, H. Tomitori, K. Kashiwagi, T. Toida, T. Imanari, K. Igarashi, J. Biol. Chem., 1998, **278**, 30939.
- [91] A. Gasowska, L. Lomozik, R. Jastrzab, Jastrzab. Inorg. Biochem., 2000, **78**, 139.

- [92] A. Gasowska, L. Lomozik, *Polyhedron*, 2002, **21**, 745.
- [93] U. Weser, G.J. Strobel, H. Rupp, *Eur. J. Biochem.*, 1974, **50**, 91.
- [94] A. Gašowska, L. Lomozik, R. Bregier-Jarzębowska, *Polish J. Chem.*, 1999, **73**, 909.
- [95] A. Gasowska, L. Lomozik, *J. Coord. Chem.*, 2001, **52**, 375.
- [96] A. Gasowska, *Z. Angew. Chem.*, 2006, **632**, 2281.
- [97] B. Song, S. Ali A. Sajadi, F. Gregan, N. Pronayova, H. Sigel, *Inorg. Chim. Acta*, 1998, **273**, 101.

Praca wpłynęła do Redakcji 17 stycznia 2007

**ELEKTROCHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI
STOPÓW METALI SZLACHETNYCH
BADANE METODĄ
CHRONOWOLTAMPEROMETRII CYKLICZNEJ**

ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF NOBLE
METAL ALLOYS STUDIED BY CYCLIC
VOLTAMMETRY

Mariusz Łukaszewski^a, Andrzej Czerwiński^{a,b,*}

^a *Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego,
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa*

^b *Instytut Chemii Przemysłowej im. prof. I. Mościckiego w Warszawie
ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa*

Abstract

Wstęp

1. Elektrochemia metali szlachetnych
2. Charakterystyka chronowoltamperometryczna elektrod stopowych
3. Wyznaczanie powierzchni rzeczywistej
4. Obróbka elektrochemiczna stopów

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

* Autor do korespondencji: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa, tel. 0 prefix 22 822-02-11, fax: 0 prefix 22 822-59-96, e-mail: aczerw@chem.uw.edu.pl

Prof. dr hab. Andrzej Czerwiński w roku 1969 ukończył Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Jest kierownikiem Pracowni Elektrochemicznych Źródeł Energii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego oraz kierownikiem Zakładu Elektrochemii w Instytucie Chemii Przemysłowej im. prof. Ignacego Mościckiego. Specjalność: chemia fizyczna – elektrochemia i chemia jądrowa.

Dr Mariusz Łukaszewski w roku 2001 ukończył Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. W 2006 r. obronił z wyróżnieniem pracę doktorską na tym wydziale. Specjalność: elektrochemiczne źródła energii.

ABSTRACT

In this paper are summarized the results concerning studies on fundamental electrochemical properties of binary and ternary noble metal alloys in acidic solution. The systems were characterized electrochemically using cyclic voltammetry technique (CV). A CV curve can be treated as a basic mean of *in situ* surface analysis of electrodes of this type. The voltammogram recorded under given experimental conditions is characteristic of the individual noble metal or alloy and it is an electrochemical ‘fingerprint’ of the investigated sample. Qualitative and quantitative conclusions can be drawn about the surface state of noble metal alloys on the basis of the course of CV curves by the use of the distinctive features associated with each component. Such an analysis is possible due to the fact that the voltammograms for pure metals differ markedly from each other in respect of the region of surface oxide formation and its reduction as well as the appearance of the region where hydrogen electrosorption takes place. In particular, the potential of the oxygen desorption peak is a linear function of the alloy surface composition. The influence of the procedure of prolonged potential cycling on electrochemical behavior of the alloys is presented. During the electrochemical treatment the alloy surface becomes enriched with components that are more resistant to electrochemical dissolution, occurring at sufficiently high potentials. The course of the voltammogram undergoes dramatic changes concerning the signals originating from hydrogen and oxygen electrosorption. As a result of the procedure of potential cycling both alloy surface and bulk can become heterogeneous. Selective removal of alloy components during the electrochemical treatment allows for *in situ* preparation of alloy electrodes possessing a variety of electrocatalytic properties.

Keywords: noble metals and their alloys, hydrogen and oxygen electrosorption, electrochemical treatment, cyclic voltammetry

Słowa kluczowe: metale szlachetne i ich stopy, elektrosorpcja wodoru i tlenu, obróbka elektrochemiczna, chronowoltamperometria cykliczna

WSTĘP

Metale szlachetne i ich stopy już od wielu lat stanowią przedmiot zainteresowania fizykochemików, w tym elektrochemików. Jeden z głównych aspektów badawczych dotyczy własności elektrokatalitycznych tych układów [1–8], w szczególności w kontekście ich zastosowania w ogniwach paliwowych [9–37]. Stopy w wielu reakcjach wykazują lepsze właściwości elektrokatalityczne niż czyste metale (efekt synergistyczny). W tym kontekście szczególnie interesujące są układy składające się z metali o wyraźnie różnych właściwościach elektrochemicznych. Większość dotychczasowych badań dotyczyła stopów dwuskładnikowych [9, 38–71], ale w ostatnim czasie w literaturze coraz więcej pojawia się doniesień na temat stopów wieloskładnikowych [14–16, 21, 22, 30, 36, 72–80]. W przypadku Pd i jego stopów, równie ważnym powodem intensywnych badań są ich zdolności do absorpcji wodoru [81–94]. Układy te – będąc historycznie pierwszymi, dla których stwierdzono możliwość absorpcji wodoru – reprezentują całą klasę układów metal-wodór, które są szeroko stosowane w wielu dziedzinach nauki i techniki [95–98].

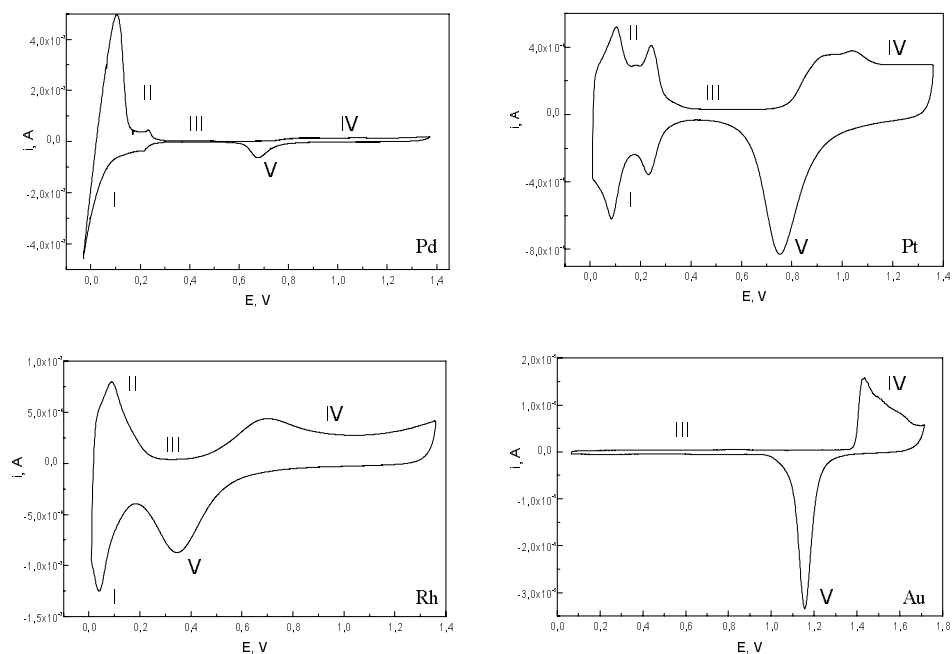
W niniejszej pracy podsumowano wyniki badań podstawowych właściwości elektrochemicznych dwu- i trójskładnikowych stopów metali szlachetnych w roztworach kwaśnych. Dokonano elektrochemicznej charakterystyki układów metodą chronowoltamperometryczną. Przedstawiono wpływ procedury długotrwałej cyklicznej polaryzacji na właściwości elektrochemiczne stopów.

1. ELEKTROCHEMIA METALI SZLACHETNYCH

Własności katalityczne metale szlachetne zawdzięczają zdolności do adsorpcji różnych substancji na ich powierzchni. Podobnie wygląda sytuacja w przypadku elektrod z tych metali zanurzonych w roztworze, w którym znajdują się określone reagenty. Jednak nawet w roztworze wodnym zawierającym tylko elektrolit podstawowy elektrody z metali szlachetnych charakteryzują się zdolnościami adsorpcji wodoru oraz tlenu na drodze reakcji, w których biorą udział – w zależności od pH – cząsteczki wody, jony H^+ lub OH^- [8, 38–40, 99–103]. Są to reakcje elektrochemisorpcji, a więc procesy obejmujące przeniesienie ładunku. Energia adsorpcji zmienia się tu wraz z potencjałem, stąd sterując potencjałem elektrody można osiągać określony stopień pokrycia metalu wodorem lub tlenem, albo doprowadzić do ich całkowitej desorpcji. Usuwanie adsorbentu na drodze kontrolowanych zmian potencjału elektrody stanowi analogię do kontrolowanych zmian ciśnienia lub temperatury w badaniach adsorpcji z fazy gazowej [38, 39]. Procesy adsorpcji poprzedzają procesy wydzielania gazów: wodoru i tlenu, stanowią więc podpotencjałowe osadzanie tych indywiduów [99].

W badaniach elektrochemicznych właściwości metali szlachetnych i ich stopów powszechnie stosowana jest metoda chronowoltamperometrii cyklicznej. Rejestruje się w niej natężenie prądu płynącego przez elektrodę pracującą w funkcji

jej potencjału, zmieniającego się liniowo w czasie z zadaną szybkością. Wykazano, że zależność i - E zarejestrowana w obszarze trwałości elektrolitu podstawowego jest – w ustalonych warunkach eksperymentalnych (skład i pH elektrolitu, zakres potencjałów, szybkość polaryzacji) – charakterystyczna dla danego metalu szlachetnego; jej przebieg stanowi swoisty „elektrochemiczny odcisk palca” badanego materiału elektrodowego [38, 40, 99, 100]. W przypadku elektrod monokrystalicznych kształt chronowoltamperogramów zależy także od orientacji krystalograficznej. Znaczenie efektów strukturalnych w elektrokatalizie omówili Sobkowski i Franaszczuk [8]. Rozważania przedstawione w dalszej części niniejszej pracy dotyczą elektrod polikrystalicznych. Wszystkie pomiary prowadzono w układzie trójelektrodowym z elektrodą siarczanową ($\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{SO}_4|0,5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$) jako elektrodą odniesienia i siatką platynową jako elektrodą pomocniczą. Wartości potencjałów podane w tekście i na rysunkach są wyrażone względem standardowej elektrody wodorowej.



Rysunek 1. Chronowoltamperogramy cykliczne elektrod z metali szlachetnych zarejestrowane w $0,5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$. Szybkość polaryzacji $0,1 \text{ V/s}$

Rys. 1 przedstawia chronowoltamperogramy polikrystalicznych elektrod: Pd, Pt, Rh i Au zarejestrowane w roztworze $0,5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$. Na zamieszczonych krzywych i - E można wyróżnić następujące sygnały:

(I) Redukcja jonów H^+ , prowadząca do adsorpcji (reakcja 1), a także – w przypadku Pd – do absorpcji wodoru (2):



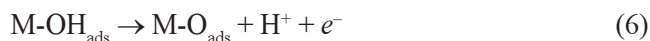
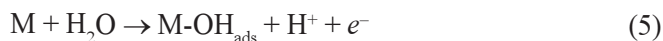
Dla Pd mniejszy sygnał, położony przy wyższym potencjale, przypisuje się wodorowi zaabsorbowanemu w postaci fazy α i części wodoru zaadsorbowanego, natomiast większy sygnał, leżący przy niższym potencjale, związany jest głównie z adsorpcją wodoru w postaci fazy β [104–107]. Dla Pt obecność dwóch sygnałów prądowych wiąże się z istnieniem dwóch form wodoru: silnie i słabo zaadsorbowanego. Z kolei Au praktycznie nie adsorbuje wodoru – maksymalne pokrycie wynosi zaledwie ok. 4% monowarstwy [38].

(II) Utlenianie wodoru zaadsorbowanego na powierzchni (3) oraz – dla Pd – zaabsorbowanego we wnętrzu metalu (4):

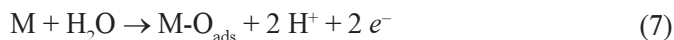


(III) Obszar, w którym elektroda wykazuje doskonałą polaryzowalność (brak prądów faradajowskich), a jedyny prąd związany jest z procesem ładowania podwójnej warstwy elektrycznej. Zakres ten jest najszerszy dla Au, najwęższy dla Rh; ogólnie jednak zakres potencjałów odpowiadający doskonałej polaryzowalności elektrod z metali szlachetnych jest znacznie mniejszy niż w przypadku rtęci.

(IV) Utlenianie powierzchni elektrody – tworzenie tlenku powierzchniowego (adsorpcja tlenu przed wydzielaniem tlenu). Najczęściej przyjmuje się dwuetapowy schemat utleniania powierzchni, obejmujący zaadsorbowane indywidua OH i O [38, 103, 108–110]:



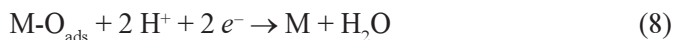
jakkolwiek nowsze wyniki uzyskane metodą mikrowagi kwarcowej [111–114] sugerują utlenianie jednoetapowe:



Utlenianie powierzchni najłatwiej zachodzi dla elektrody Rh, najtrudniej dla Au, które jest metalem najbardziej szlachetnym. Charakterystyczną cechą procesu tworzenia tlenku powierzchniowego jest wzrost stopnia jego nieodwracalności ze wzrostem potencjału, co przejawia się w postaci zwiększenia separacji sygnałów utleniania i redukcji na krzywych i - E rejestrowanych dla coraz wyższych granicznych potencjałów polaryzacji (w przeciwieństwie do pików adsorpcji/desorpcji wodoru, która jest procesem odwracalnym) [38].

Przy dostatecznie wysokich potencjałach, oprócz zjawisk adsorpcji i wydzielania tlenu, zachodzi także elektrochemiczne rozpuszczanie metali szlachetnych [38, 40, 73, 100, 115–122]. Wielkość efektu rozpuszczania zależy od rodzaju metalu, potencjału elektrody, szybkości polaryzacji, temperatury, stężenia i składu roztworu. Procesowi temu sprzyja obecność jonów kompleksujących, podwyższona temperatura, środowisko kwaśne oraz mała szybkość polaryzacji. Dane literaturowe [73, 100, 121] wskazują, że Pd i Rh są znacznie bardziej podatne na rozpuszczanie niż Pt i Au, przy czym Rh ulega rozpuszczeniu przy najniższym potencjale, natomiast od pewnej wartości potencjału najszybciej rozpuszcza się Pd.

(V) Pik redukcji tlenków powierzchniowych (desorpcji tlenu):



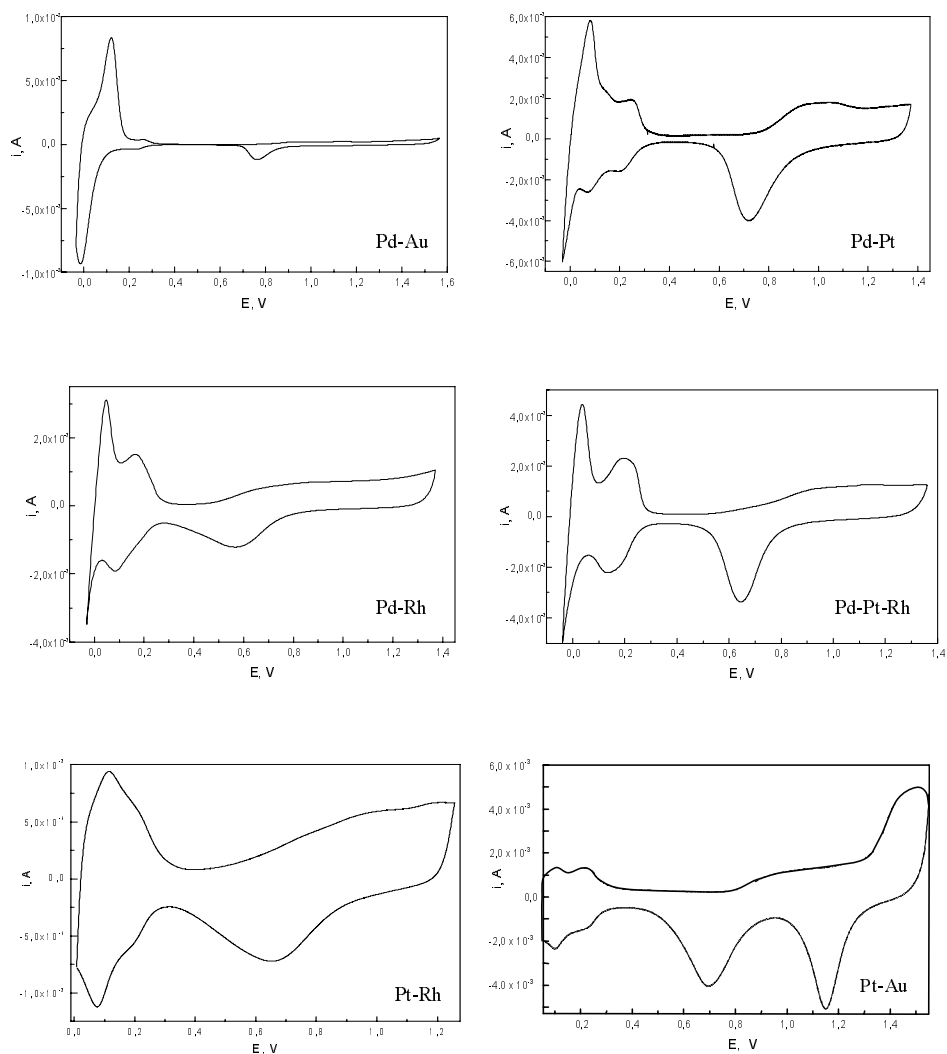
którego potencjał zależy w ogólności od górnego potencjału granicznego polaryzacji oraz szybkości polaryzacji, a także od struktury tlenku oraz pH roztworu [38]. W ustalonych warunkach eksperymentu chronowoltamperometrycznego (elektrolit, szybkość polaryzacji, górny potencjał graniczny polaryzacji) potencjał pików redukcji tlenków powierzchniowych jest charakterystyczny dla danego metalu szlachetnego i stanowi wygodny parametr przy porównywaniu chemisorpcyjnych właściwości elektrod stopowych [38, 40].

Zakres potencjałów odpowiadający procesom (I) i (II) w literaturze określa się mianem obszaru wodorowego, (III) – obszaru podwójnej warstwy elektrycznej, (IV) i (V) – obszaru tlenowego (lub tlenkowego).

Jak wykazano powyżej, poszczególne metale szlachetne w każdym obszarze potencjałów wykazują swoiste zachowanie. Stąd należy oczekiwać, że stopy różnych metali będą charakteryzować się interesującymi właściwościami elektrochemicznymi, zależnymi zarówno od ich składu powierzchniowego, jak i objętościowego.

2. CHARAKTERYSTYKA CHRONOWOLTAMPEROMETRYCZNA ELEKTROD STOPOWYCH

Elektrody stopowe otrzymuje się różnymi sposobami, np. na drodze objętościowego stapiania dwóch metali, napyłania próżniowego, podpotencjałowego osadzania oraz elektrochemicznego współosadzania. Stopy metali szlachetnych były intensywnie badane metodą chronowoltamperometrii cyklicznej [9, 14–16, 21, 22, 30, 36, 38–80]. Krzywe *i*-*E* różnych stopów, otrzymanych metodą elektrolityczną z kąpieli zawierających mieszaninę odpowiednich chlorków (PdCl_2 , RhCl_2 , H_2PtCl_6 lub HAuCl_4 z dodatkiem HCl), przedstawia Rys. 2 [43–45, 72, 73].



Rysunek 2. Chronowoltamperogramy cykliczne elektrod ze stopów metali szlachetnych: Pd-Au (74% Pd w głębi, 73% Pd na powierzchni), Pd-Pt (70% Pd w głębi, 34% Pd na powierzchni), Pd-Rh (60% Pd w głębi, 69% Pd na powierzchni), Pd-Pt-Rh (81% Pd, 6% Pt, 13% Rh w głębi), Pt-Rh (68% Pt na powierzchni) i Pt-Au (48% Pt na powierzchni). Szybkość polaryzacji 0,01 V/s (Pd-Au), 0,05 V/s (Pt-Rh, Pt-Au) lub 0,1 V/s; 1 M H₂SO₄ (Pd-Au) lub 0,5 M H₂SO₄

Zauważono, że w przypadku układów jednorodnych (homogenicznych) pewne własności elektrochemiczne stopów są wypadkową (uśrednieniem) własności składników (np. adsorpcja wodoru i tlenu na stopie Pt-Rh [38–41, 43, 61–64]). Krzywe i-E takich elektrod stopowych mają przebieg pośredni w stosunku do krzywych typowych dla czystych metali, przy czym położenie i kształt odpowiednich sygnałów prądowych są zmodyfikowane wzajemną obecnością poszczególnych składników

stopu. I tak, np. dla stopu Pd-Pt, występują dwa piki pochodzące od wodoru silnie i słabo zaadsorbowanego charakterystyczne dla elektrody Pt oraz sygnał absorpcji wodoru, typowy dla elektrody Pd. Ten ostatni sygnał widoczny jest także na chronowoltamperogramach pozostałych stopów Pd (Pd-Au, Pd-Rh, Pd-Pt-Rh). Również w obszarze potencjałów utleniania powierzchni w przebiegu krzywych i - E dla stopów odnaleźć można pewne cechy chronowoltamperogramów ich składników, np. stopy zawierające Rh zaczynają się utleniać przy stosunkowo niskim potencjale.

Z kolei w układach wykazujących ograniczoną mieszalność w stanie stałym, wskutek słabszych wzajemnych oddziaływań, składniki zachowują swoje indywidualne cechy, toteż w obszarze luki mieszalności otrzymuje się chromowoltamperogramy będące sumą krzywych i - E dla czystych metali (np. Pt-Au [45, 48–53, 55]). W wielu układach różne własności chemiczne składników stopu pozwalają na selektywną chemisorpcję danej substancji na atomach powierzchniowych jednego rodzaju, stąd możliwa jest ich detekcja przy pomocy odpowiedniego adsorbentu [38] – jest tak na przykład w przypadku H dla atomów Ni w stopie Ni-Cu [123] oraz dla Pt w stopie Pt-Au [124], a także CO dla atomów Pd w stopie Pd-Ag [125] i CO₂ dla Pt w stopie Pd-Pt [42].

Wg Woodsa [38], liczba pików redukcji tlenków powierzchniowych (desorpcji tlenu), obecnych na chronowoltamperogramie, mówi o liczbie odrębnych faz powierzchniowych. Pojedynczy pik redukcji tlenków powierzchniowych świadczy zatem o homogeniczności fazowej powierzchni elektrod Pd-Au, Pd-Pt, Pd-Rh, Pt-Rh i Pd-Pt-Rh. Obecność tylko jednego pików desorpcji tlenu w położeniu pośrednim można wyjaśnić, przyjmując że wzajemne oddziaływania składników stopu są wystarczająco silne, aby własności chemisorpcyjne atomów różnych metali w stosunku do tlenu uległy uśrednieniu [38–40]. Natomiast dwa piki desorpcji tlenu na krzywej i - E stopu Pt-Au odzwierciedlają fakt, że w tym układzie występują dwie fazy powierzchniowe: faza bogata w Pt i bogata w Au, zachowujące właściwości elektrochemiczne czystych metali [38].

Zgodnie z wynikami badań prowadzonych przez Randa i Woodsa [40] z układami Pt-Rh, Pd-Au i Pd-Rh oraz Capona i Parsonsa [65] z układem Pd-Pt, w przypadku stopów homogenicznych potencjał pików redukcji tlenków (E_p) – mający wartość pośrednią w stosunku do potencjałów redukcji tlenków na czystych metalach (E_p^A , E_p^B) – jest miarą składu powierzchni i stanowi liniową funkcję ułamków atomowych składników (x_A i x_B):

$$E_p = x_A E_p^A + x_B E_p^B \quad (9)$$

Ze względu na zależność potencjału pików od szeregu czynników, rejestracja krzywych chronowoltamperometrycznych dla stopu powinna być dokonywana w tych samych warunkach eksperymentalnych jak dla elektrod z czystych składników. Analiza przebiegu chronowoltamperogramów elektrod stopowych w obszarze tlenowym pozwala zatem jakościowo i ilościowo wnioskować o stanie powierzchni. Wielką zaletą metody analizy powierzchniowej opartej na adsorpcji tlenu jest fakt,

że jest to technika *in situ*, jakkolwiek opiera się na relacji empirycznej, ponadto może zawodzić przy detekcji małych zmian składu stopu [38].

Badania zachowania elektrod otrzymywanych przez elektroosadzanie powłok metali szlachetnych na podłożu z innego metalu [38, 116] wykazały, że w przypadku cienkiej, niepełnej warstwy osadu na wygląd chronowoltamperogramu wpływają zarówno metal osadzony, jak i metal podłoża. Cechy elektrosorpcyjne osadzonego metalu mogą być przy tym modyfikowane obecnością metalu podłoża, co jest spowodowane oddziaływaniami między atomami metalu powłoki i podłoża, prowadzącymi do utworzenia stopu powierzchniowego [38, 116, 126, 127]. Natomiast dla szczelnych osadów wielowarstwowych nie obserwuje się wpływu podłoża na przebieg krzywych i-E. Fakt ten wykorzystano w metodyce tzw. elektrod o ograniczonej objętości (LVE), otrzymywanych przez elektrochemiczne osadzanie na przewodzącym podłożu cienkich (o grubości rzędu mikrometra) powłok metalicznych/stopowych. Zastosowanie LVE w przypadku Pd [104–107, 128–130] i jego stopów [42–44, 46, 58, 70, 72, 131–144] umożliwia jednoczesne badanie objętościowego procesu absorpcji wodoru wraz z procesami powierzchniowymi.

Eksperymenty Randa i Woodsa [40, 116] pozwoliły ustalić, że efektywna grubość metalu, którą obejmuje proces adsorpcji, składa się nie więcej niż z kilku warstw atomowych. Fakt, że własności elektrosorpcyjne stopu związane są z zachowaniem powierzchniowych atomów metalu z kilku pierwszych warstw sprawia, że techniki używane z powodzeniem w analizie składu objętościowego stopów są nieprzydatne w badaniach powierzchni. Na przykład metody dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego i mikroanalizy rentgenowskiej służące do badań grubości rzędu kilku tysięcy warstw atomowych, dostarczają praktycznie informacji o głębi stopu, a istotne zmiany w składzie powierzchni są przy tych metodach całkowicie niedostrzegalne.

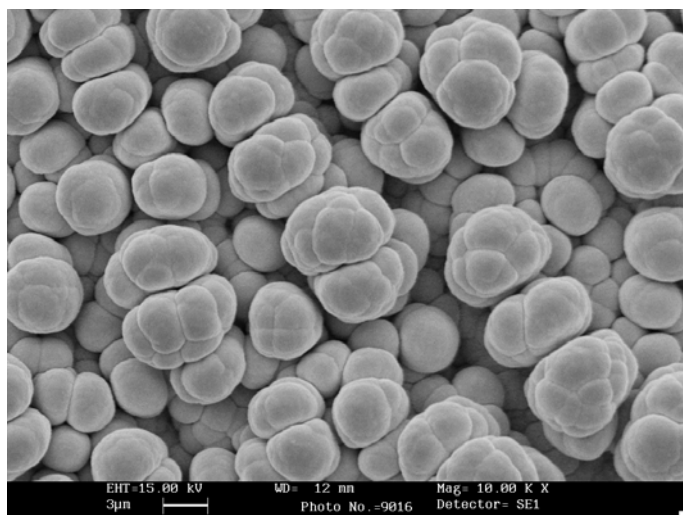
Metoda analizy, wykorzystująca chronowoltamperometryczne sygnały prądowe związane z adsorpcją/desorpcją wodoru oraz tworzeniem i redukcją tlenków powierzchniowych, pozwala na charakterystykę *in situ* praktycznie samej powierzchni stopu. Jest to istotny fakt, gdyż w ogólności powierzchnia elektrody stopowej może znacząco różnić się od fazy objętościowej strukturą i składem. Taki stan rzeczy może być wynikiem sposobu otrzymania stopu: np. w przypadku elektrochemicznego współosadzania, struktura stopu może nie odzwierciedlać struktury przewidywanej dla warunków równowagi termodynamicznej [58]. Co więcej, nawet w warunkach równowagowych, wskutek dążenia układu do osiągnięcia minimum energii powierzchniowej, często występuje nadmiar powierzchniowy jednego ze składników [145–149]. Zmiany w składzie powierzchni mogą też być wynikiem wstępnej obróbki elektrody: na przykład trawienia chemicznego lub wygrzewania w płomieniu [52, 147, 150]. Także procesy adsorpcji mogą powodować zmiany składu powierzchniowego używanego w doświadczeniu stopu – następuje wówczas wzbogacenie powierzchni w metal o większym powinowactwie do adsorbentu [58, 151, 152]. Wreszcie, podczas eksperymentu elektrochemicznego polaryzacja elektrody stopowej do odpowiednio wysokiego potencjału może powodować usuwanie skład-

ników z powierzchni w proporcjach wynikających ze stopnia ich elektrochemicznego rozpuszczania, które są na ogół inne niż aktualny skład stopu [38, 40, 73] – w rezultacie powierzchnia stopu wzbogaca się w składnik bardziej odporny na rozpuszczanie.

Należy przy tym podkreślić, że skład powierzchni stopu w warunkach eksperymentu elektrochemicznego może być inny niż w atmosferze gazu obojętnego lub w próżni. Np. w układzie Pd-Pt w roztworach kwaśnych następuje wzbogacanie stopu w Pt wskutek rozpuszczania Pd [42, 66, 70], natomiast w próżni ten sam układ osiąga minimum energii powierzchniowej, gdy jest wzbogacony w Pd [149]. Wynika stąd ograniczenie przydatności metod analizy powierzchni takich jak AES (spektroskopia elektronów Augera), XPS (spektroskopia elektronów wybijanych promieniowaniem rentgenowskim), ISS (spektroskopia rozpraszania jonów) lub SIMS (spektroskopia mas jonów wtórnych), tj. technik *ex situ*, wymagających stosowania wysokiej próżni do badań elektrod pracujących w kontakcie z elektrolitem i pod kontrolą potencjału. Ostatnio opublikowane wyniki [144] wskazują, że na podstawie elektrochemicznych właściwości związanych z absorpcją wodoru, takich jak potencjał piku utleniania wodoru zaabsorbowanego oraz potencjał przejścia fazowego α - β , możliwe jest określenie *in situ* metodą elektrochemiczną także składu objętościowego stopów Pd.

3. WYZNACZANIE POWIERZCHNI RZECZYWISTEJ

W badaniach procesów elektrokatalitycznych konieczna jest znajomość powierzchni rzeczywistej elektrody (określającej ilość powierzchniowych centrów aktywnych), która dla elektrod stałych może być wielokrotnie większa od powierzchni geometrycznej. Stosunek powierzchni rzeczywistej do powierzchni geometrycznej elektrody nazywany jest współczynnikiem rozwinięcia powierzchni. Znaczna szorstkość powierzchni otrzymanych elektrochemicznie elektrod jest widoczna na zdjęciach wykonanych za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (Rys. 3).



Rysunek 3. Zdjęcie powierzchni świeżo otrzymanego stopu Pd-Au (70% Pd w głębi, 73% Pd na powierzchni; współczynnik rozwinięcia powierzchni ok. 400), wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego

Metody wyznaczania powierzchni rzeczywistej szczegółowo przedyskutowali Trasatti i Petrii [153]. Dla metali wykazujących zdolność do adsorpcji wodoru (Pt, Rh) powierzchnia rzeczywista może być określona z ładunku utleniania wodoru zaadsorbowanego ($Q_{\text{utl}}^{\text{H}}$), otrzymanego poprzez scałkowanie sygnału II na Rys. 1. Wartość rzeczywistej powierzchni elektrody oblicza się z zależności:

$$S_{\text{rz}} = Q_{\text{utl}}^{\text{H}} / (\theta_{\text{H}} Q_{\text{mono}}^{\text{H}}), \quad (10)$$

gdzie θ_{H} oznacza stopień pokrycia elektrody zaadsorbowanym wodorem, zaś $Q_{\text{mono}}^{\text{H}}$ jest wartością ładunku utleniania monowarstwy wodoru zaadsorbowanego na powierzchni jednostkowej. Dla polaryzacji elektrody do potencjału tuż powyżej początku wydzielania wodoru podawane w literaturze [38] wartości wynoszą: 0,77 i 210 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ w przypadku Pt oraz 0,59 i 221 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ w przypadku Rh.

Dla elektrody Pd prądy związane z adsorpcją wodoru są częściowo nałożone z prądami absorpcji, co utrudnia wyznaczenie powierzchni rzeczywistej powyższą metodą. Również nie może być ona zastosowana dla elektrody Au, gdyż adsorpcja wodoru jest tu znikoma. Wykorzystuje się zatem metodę opartą na adsorpcji tlenu. Powierzchnię rzeczywistą elektrody oblicza się z zależności:

$$S_{\text{rz}} = Q_{\text{red}}^{\text{O}} / (\theta_{\text{O}} Q_{\text{mono}}^{\text{O}}), \quad (11)$$

gdzie $Q_{\text{red}}^{\text{O}}$ oznacza ładunek redukcji tlenu powierzchniowego (otrzymany poprzez scałkowanie piku V na Rys. 1), θ_{O} oznacza stopień pokrycia elektrody zaadsorbowanym tlenem (najczęściej wykorzystuje się ładunek redukcji monowarstwy tlenu), zaś $Q_{\text{mono}}^{\text{O}}$ jest wartością ładunku redukcji monowarstwy tlenu zaadsorbowanego na

powierzchni jednostkowej, wynoszącą $424 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ dla Pd oraz $400 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ dla Au [38].

Powyzsze metody wyznaczania powierzchni rzeczywistej stosowano rowniez dla elektrod stopowych. W przypadku układu Pt-Rh [41] wykorzystano proces utleniania zaadsorbowanego wodoru, natomiast dla stopów Pd (Pd-Au [46], Pd-Pt [42], Pd-Rh [58], Pd-Pt-Rh [72]) – proces redukcji tlenku powierzchniowego. Dla heterogenicznego układu Pt-Au powierzchnię fazy bogatej w Pt wyznaczano z ładunku desorpcji wodoru lub desorpcji tlenu, zaś powierzchnię fazy bogatej w Au – z ładunku desorpcji tlenu [45]. Należy jednak zaznaczyć, iż z uwagi na fakt modyfikacji wielu właściwości elektrochemicznych stopów homogenicznych wyznaczenie ich powierzchni tak dokładne, jak w przypadku czystych metali jest trudne, gdyż stopień pokrycia adsorbatem przy określonym potencjale oraz wartości przelicznika ładunku na powierzchnię jednostkową są często nieznaną funkcją składu stopu; należałoby tu mówić bardziej o szacowaniu tej wielkości.

Alternatywna metoda określania powierzchni rzeczywistej elektrod metalicznych oparta jest na pomiarach pojemności podwójnej warstwy elektrycznej. Metoda ta była stosowana do szacowania powierzchni elektrod Cu, Ag i Au [154–156], a także różnych elektrod stopowych [45, 46, 51, 57, 157].

W obszarze potencjałów, w którym elektroda wykazuje doskonałą polaryzowalność (rejon III na Rys. 1), tj. w nieobecności prądów faradajowskich, prąd pojemnościowy jest proporcjonalny do pojemności różniczkowej (C) elektrody, przy czym współczynnikiem proporcjonalności jest szybkość polaryzacji (v):

$$i = dQ/dt = (dQ/dE) \cdot (dE/dt) = C \cdot v \quad (12)$$

Wykreślając zatem zależność prądu pojemnościowego, zarejestrowanego przy wybranym potencjale z obszaru potencjałów doskonałej polaryzowalności, od szybkości polaryzacji otrzymuje się linię prostą, której nachylenie ma wymiar pojemności różniczkowej.

Wyznaczenie powierzchni rzeczywistej wymaga znajomości wartości pojemności różniczkowej przypadającej na jednostkę powierzchni elektrody (C_{jedn}):

$$S_{\text{rz}} = C / C_{\text{jedn}} \quad (13)$$

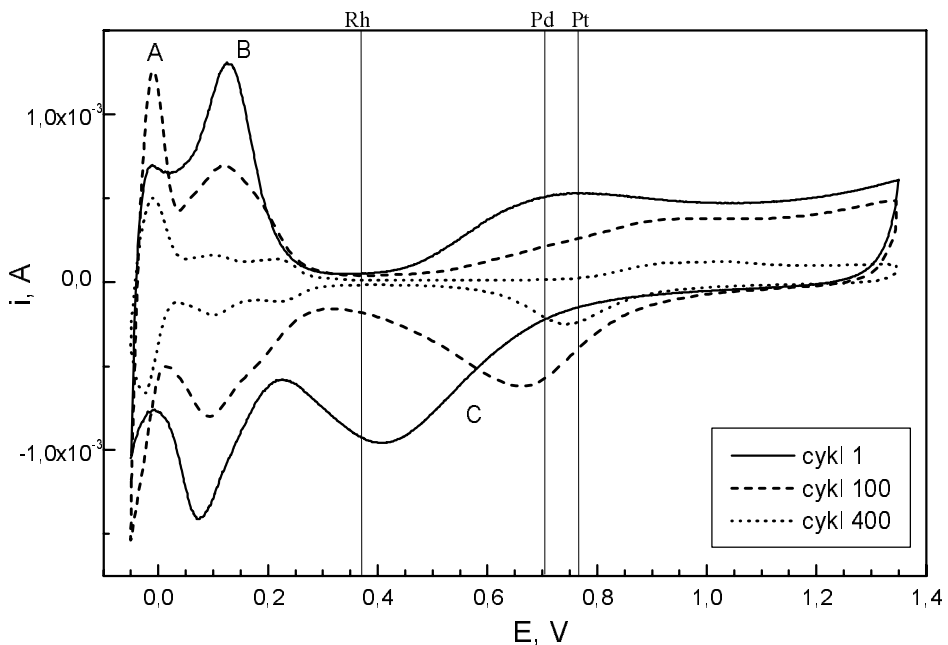
Podawane w literaturze wartości przelicznika pojemności na powierzchnię dla elektrod stałych zawierają się w dość szerokich granicach, głównie w przedziale $20\text{--}40 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ [158]. Wielkość ta silnie zależy od potencjału oraz składu i stężenia elektrolitu, toteż jest bardzo czuła na niewielkie nawet zmiany warunków eksperymentalnych. Oznacza to, że musi być ona wyznaczana w niezależnym pomiarze w ustalonych warunkach eksperymentalnych w oparciu o inną, dobrze zdefiniowaną metodę określania powierzchni. Dla elektrod z metali szlachetnych takim sposobem jest wyznaczanie powierzchni z procesów utleniania wodoru lub redukcji tlenków powierzchniowych. Dla Pd i Au w roztworach $1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ otrzymano wartość

44,5 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ [46], natomiast w roztworze 0,5 M H_2SO_4 dla Pd i Pt wartość ta wynosiła 34 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$.

Należy tu podkreślić, że z uwagi na procesy powierzchniowe zachodzące z udziałem materiału elektrody powierzchnia elektrod katalitycznych jest znacznie gorzej odtwarzalna niż w przypadku elektrody rtęciowej [8]. Niepowtarzalność powierzchni i trudności w jej zdefiniowaniu są typową cechą polikrystalicznych elektrod stałych.

4. OBRÓBKA ELEKTROCHEMICZNA STOPÓW

W badaniach elektrochemicznych właściwości elektrod stopowych często stosowano procedurę obróbki elektrochemicznej polegającą na wielokrotnej, cyklicznej polaryzacji elektrod w pełnym zakresie potencjałów wodorowo-tlenowych [38, 40, 44–47, 51, 52, 54–56, 58–60, 63, 68, 69, 72, 73, 133]. Efekty takiej obróbki zależą od początkowego stanu elektrody (skład, stopień homogeniczności) oraz warunków eksperymentu (elektrolit, zakres potencjałów, szybkość polaryzacji). Poniższa dyskusja dotyczy cyklicznej polaryzacji stopów Pd w roztworach kwaśnych.



Rysunek 4. Chronowoltamperogramy cykliczne stopu Pd-Pt-Rh (początkowy skład w głębi: 57% Pd, 8% Pt, 35% Rh) podczas wielokrotnej cyklicznej polaryzacji (0,1 V/s) w zakresie potencjałów $-0,05 \div 1,35$ V, w 0,5 M H_2SO_4 . Pionowe linie odpowiadają wartościom potencjału piku redukcji tlenków powierzchniowych na czystych metalach

Rys. 4 [72] przedstawia zależności i-E dla stopu Pd-Pt-Rh początkowo uboższego w Pt (skład w głębi: 57% Pd, 8% Pt, 35% Rh). W trakcie obróbki elektrochemicznej chronowoltamperogram ulega wyraźnym zmianom, przypominającym sytuację znaną dla stopów dwuskładnikowych Pt-Rh [38, 40, 63]. W efekcie procedury długotrwałej cyklicznej polaryzacji krzywa chronowoltamperometryczna upodabnia się do krzywej typowej dla stopu Pd-Pt o dużej powierzchniowej zawartości Pt [42, 70].

Wzrost potencjału pików redukcji tlenków powierzchniowych (sygnał C) wskazuje na postępujące wzbogacanie powierzchni stopu w składniki bardziej szlachetne, co wiąże się z procesami elektrozpuszczania metali, głównie: Rh i Pd; rozpuszczalność Pt w warunkach eksperymentu jest bowiem znikoma [38, 73, 100]. Fakt, iż pik redukcji tlenków pozostaje pojedynczy, sugeruje homogeniczność powierzchni elektrody [38] – nie następuje więc segregacja powierzchniowa stopu. Jednocześnie obserwuje się monotoniczny spadek prądów w obszarze tlenowym w miarę postępującej obróbki elektrochemicznej, co wskazuje na zmniejszanie się powierzchni rzeczywistej. Interesująca jest ewolucja sygnałów w obszarze wodorowym: pik A, związany głównie z absorpcją wodoru, początkowo (pierwszych 100 cykli) rośnie, aby następnie ulec obniżeniu, natomiast pik B, pochodzący głównie od wodoru zaadsorbowanego, maleje przez cały czas eksperymentu, ulegając przy tym rozszczepieniu na dwa sygnały, przypominające piki utleniania wodoru zaadsorbowanego na powierzchni elektrody Pt [38].

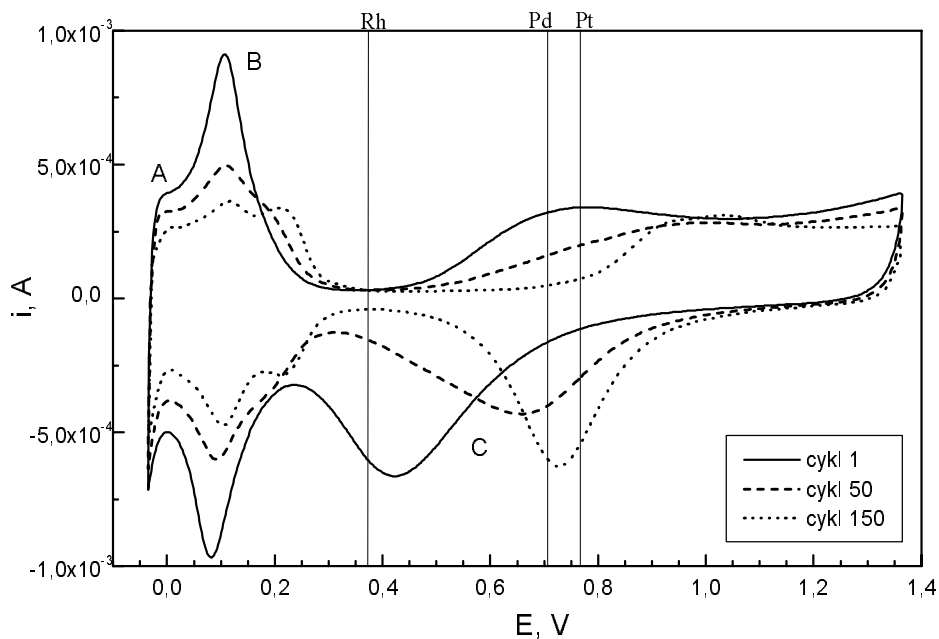
Wyniki mikroanaliz rentgenowskich (Tab. 1) próbki o podobnym składzie początkowym, jak na Rys. 4, wykazują wyraźne zmiany zawartości metali podczas sukcesywnej obróbki elektrochemicznej. Ponieważ sygnał analityczny w analizie rentgenowskiej pochodzi z obszaru o grubości rzędu mikrometra, obserwowane tą metodą zmiany składu nie są ograniczone do samej powierzchni, ale obejmują też głębie elektrody. Początkowo dominuje zubożenie w Rh, natomiast procentowa zawartość Pd przejściowo wzrasta. W trakcie dalszej obróbki, oprócz Rh, maleje także udział Pd i w rezultacie powierzchnia stopu i jego warstwy przypowierzchniowe wzbogacają się w Pt.

Tabela 1. Wyniki mikroanaliz rentgenowskich (EDAX) elektrody Pd-Pt-Rh podczas różnych etapów obróbki elektrochemicznej (cyklicznej polaryzacji w roztworze 0,5 M H₂SO₄, w zakresie potencjałów -0,05÷1,35 V, z szybkością polaryzacji 0,1 V/s)

	% at. Pd	% at. Pt	% at. Rh
skład początkowy	53	14	33
po 50 cyklach	55	15	30
po 125 cyklach	51	29	20
po 250 cyklach	38	50	12
po 350 cyklach	29	63	8

Porównanie ewolucji sygnałów w obszarze wodorowym i potencjału piku redukcji tlenków powierzchniowych oraz wyników mikroanaliz rentgenowskich wskazuje, że zmiany właściwości elektrosorpcyjnych wobec wodoru wiążą się ze zmianą składu stopu. Usuwanie z powierzchni elektrody Rh zwiększa udział powierzchniowych atomów Pd, które stanowią aktywne centra w procesie absorpcji wodoru w głębi stopu, co mogłoby ułatwić wnikanie wodoru do stopu dzięki przyspieszeniu etapu powierzchniowego (czynnik kinetyczny). Jednocześnie początkowy wzrost procentowej zawartości Pd w przypowierzchniowych warstwach stopu również może zwiększać zdolność absorpcyjną wodoru (czynnik termodynamiczny). Zachodzące w dalszej części eksperymentu usuwanie Pd i wzbogacanie stopu w Pt, wraz z postępującym wskutek rozpuszczania zmniejszaniem grubości warstwy stopu, byłoby czynnikiem powodującym spadek ilości wodoru zaabsorbowanego (sygnał A). Z kolei adsorpcja wodoru związana jest z właściwościami samej powierzchni elektrody, toteż wskutek spadku powierzchni rzeczywistej następuje zmniejszenie prądów adsorpcji wodoru, dających dominujący wkład w sygnał B.

Należy zaznaczyć, że po dużej liczbie cykli potencjał piku redukcji tlenków powierzchniowych osiągał praktycznie stałą wartość, która była jednak mniejsza niż dla czystej elektrody Pt [72]. Oznacza to, że po długotrwałej obróbce na powierzchni elektrody wciąż znajduje się pewna ilość atomów Pd lub Rh, które prawdopodobnie są dostarczane z głębi stopu na drodze dyfuzji [59].

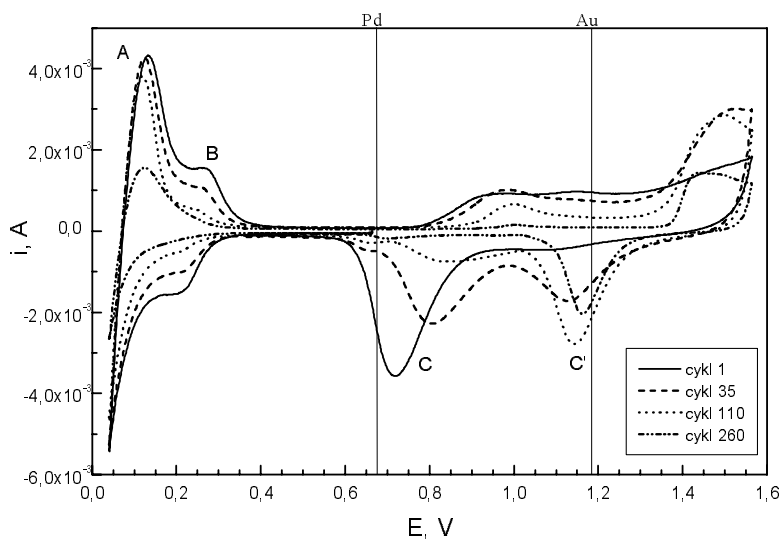


Rysunek 5. Chronowoltamperogramy cykliczne stopu Pd-Pt-Rh (początkowy skład w głębi: 28% Pd, 26% Pt, 46% Rh) podczas wielokrotnej cyklicznej polaryzacji (0,1 V/s) w zakresie $-0,05 \div 1,35$ V, w 0,5 M H_2SO_4 .

Pionowe linie odpowiadają wartościom potencjału piku redukcji tlenków powierzchniowych na czystych metalach

Stopy Pd-Pt-Rh zawierające porównywalne ilości wszystkich składników (28% Pd, 26% Pt, 46% Rh), poddawane obróbce elektrochemicznej, zachowywały się nieco inaczej (Rys. 5) – obserwowano spadek prądów w całym zakresie wodorowym, zaś sygnał A nie stawał się dominującym sygnałem. Wynika to najprawdopodobniej z faktu, iż dla omawianego składu stopu dla wszystkich etapów obróbki zawartość Pd pozostawała niewystarczająca, aby możliwa była absorpcja wodoru. Większa początkowa zawartość Pt w stopie jest też zapewne przyczyną szybszej transformacji krzywej i-E w chronowoltamperogramie typowym dla elektrody silnie wzbogaconej w Pt.

Zmiany składu stopów wykrywalne metodą mikroanalizy rentgenowskiej wskazują, że chociaż nie można wykluczyć ponownego osadzania się w cyklu katodowym metali rozpuszczonych w trakcie cyklu anodowego, przeważająca ilość metalu jest nieodwracalnie usuwana ze stopu. Co więcej, podkreślany wcześniej fakt, że pik redukcji tlenków powierzchniowych pozostaje pojedynczy w trakcie obróbki elektrochemicznej sugeruje, że jeśli ponowne osadzanie metali ma miejsce, to nie powoduje ono heterogenizacji fazowej powierzchni elektrody. Tymczasem, w przypadku znaczącego osadzania Rh, należałoby oczekiwać utworzenia się nowej fazy powierzchniowej bogatej w Rh, co powinno prowadzić do pojawienia się dodatkowego pików redukcji tlenków powierzchniowych położonego przy niższym potencjale, a przez to wyraźnie odseparowanego od głównego sygnału. Takiego zjawiska jednak nie zaobserwowano, co zdaje się potwierdzać ograniczony charakter procesu ponownego osadzania metali.



Rysunek 6. Chronowoltamperogramy cykliczne stopu Pd-Au (początkowy skład: 73% Pd w głębi, 73% Pd na powierzchni) podczas wielokrotnej cyklicznej polaryzacji (0,05 V/s) w zakresie potencjałów 0,04÷1,57 V, w 1 M H₂SO₄. Pionowe linie odpowiadają wartościom potencjału pików redukcji tlenków powierzchniowych na czystych metalach

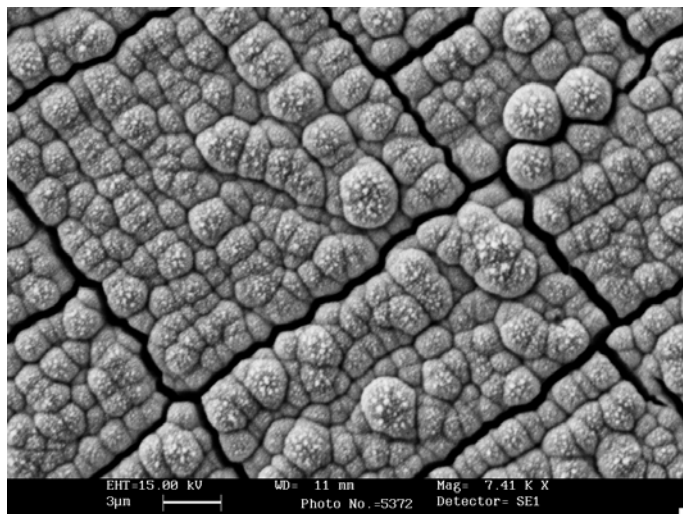
Heterogenizacja powierzchni stopu, tzn. utworzenie się dodatkowej fazy na początkowo homogenicznej powierzchni, ma miejsce podczas obróbki elektrochemicznej dość bogatych w Pd (60–90% Pd) elektrod Pd-Au [44, 46] (Rys. 6). W początkowych cyklach chronowoltamperometrycznych obserwuje się pojedynczy pik redukcji tlenków, położony pomiędzy potencjałami pików typowych dla czystych metali. Dalsza cykliczna polaryzacja powoduje jednak zmiany wyglądu krzywych i - E w związku z selektywnym usuwaniem Pd z powierzchni stopu (rozpuszczanie Au jest bardzo małe [38, 100]). Wysokość pierwotnego pik tlenkowego (C) ulega stopniowemu zmniejszeniu, a jego potencjał przesuwają się w stronę wyższych potencjałów, jednocześnie pojawia się drugi pik (C') położony przy potencjale zbliżonym do potencjału desorpcji tlenu z powierzchni czystego złota, co wskazuje na obecność odrębnej fazy powierzchniowej bogatej w Au. Końcowym efektem ciągłej cyklicznej polaryzacji elektrody Pd-Au jest chronowoltamperogram przypominający w obszarze tlenowym krzywą i - E typową dla elektrody złotej. Jednocześnie w trakcie obróbki obserwowano początkowy wzrost a następnie spadek całkowitej powierzchni rzeczywistej [46].

Należy zauważyć, że zmiany wyglądu krzywych i - E podczas cyklicznej polaryzacji elektrod Pd-Au są w obszarze wodorowym mniej dramatyczne niż w obszarze tlenowym. Początkowo obserwuje się jedynie zmniejszanie pik wodorowego B, który ostatecznie zanika, natomiast główny pik wodorowy A pozostaje prawie niezaburzony, nawet po znacznej liczbie cykli. Jak wykazały prace dotyczące elektrod Pd-LVE [105, 107], pik B, w którym duży udział ma wodór zaadsorbowany, jest bardzo czuły na wszelkie zmiany stanu powierzchni. W końcu również prądy głównego pik wodorowego zaczynają maleć, jakkolwiek ilość zaabsorbowanego wodoru wciąż jest znacząca, mimo iż kształt chronowoltamperogramu w obszarze tlenowym wskazuje na wysoką koncentrację Au na powierzchni. Widoczne w postaci szerokiego, rozmytego sygnału przy potencjałach 0,7–1,0 V prądy utleniania i redukcji wskazują jednak na to, że pewna ilość Pd wciąż pozostaje na powierzchni stopu, stanowiąc centra adsorpcji wodoru i umożliwiając jego wnikanie w głąb stopu oraz późniejszą desorpcję [44]. Nawet bardzo intensywna cykliczna polaryzacja w obszarze tlenowym nie powoduje już znaczących zmian tak zmodyfikowanej elektrody. Obecność śladowych ilości Pd na powierzchni jest prawdopodobnie skutkiem jego uzupełniania na drodze dyfuzji z głębi stopu oraz częściowego powtórnego osadzania wcześniej rozpuszczonego metalu [59, 60].

Wg Randa i Woodsa [38], mechanizm zmian stanu powierzchni stopów Pd-Au poddawanych obróbce elektrochemicznej jest następujący: początkowe selektywne rozpuszczanie palladu zachodzi głównie z obszarów o zwiększonej koncentracji Au, co prowadzi do utworzenia stref prawie czystego Au. Dalsza utrata Pd zachodzi na brzegach tych stref i każdy następny cykl powoduje postępujący wzrost obszarów czystego Au na powierzchni elektrody, kosztem tych regionów, które zachowują jeszcze skład zbliżony do początkowego.

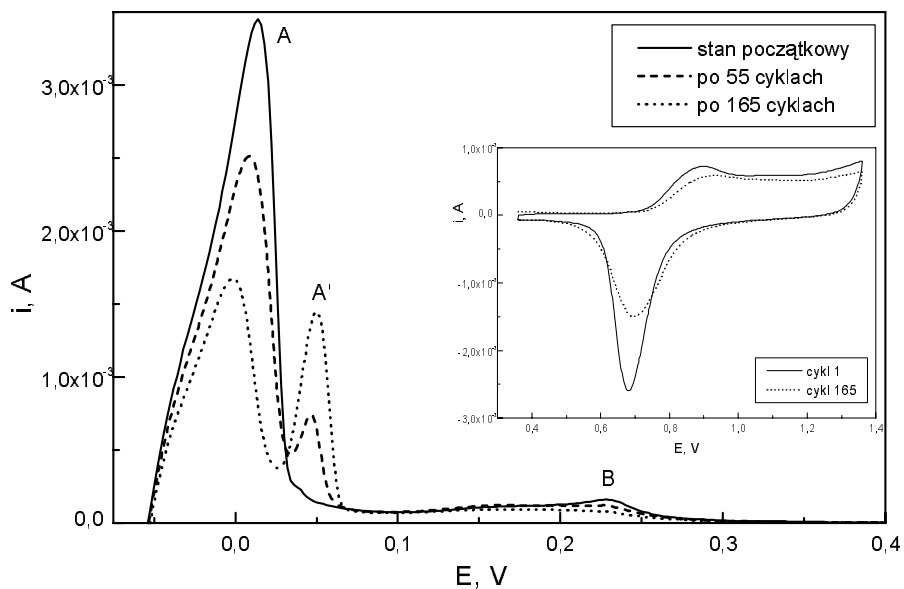
Utworzenie, wskutek długotrwałej cyklicznej polaryzacji, drugiej fazy na początkowo homogenicznej powierzchni obserwowano także w układzie Pd-Rh [58].

W heterogenicznym układzie Pt-Au, poddanym obróbce elektrochemicznej, zmianom ulegał udział poszczególnych faz w całkowitej powierzchni rzeczywistej elektrody [45].



Rysunek 7. Zdjęcie powierzchni stopu Pd-Au (początkowy skład: 71% Pd w głębi: 71% Pd na powierzchni) po obróbce elektrochemicznej (wielokrotna cykliczna polaryzacja w zakresie potencjałów 0,04÷1,57 V; 0,05 V/s; 1 M H₂SO₄) wykonane za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego

W trakcie obróbki elektrochemicznej stopów mają miejsce zmiany morfologii powierzchni elektrody (por. Rys. 3 i 7), spowodowane procesami tworzenia i redukcji tlenków powierzchniowych, elektrochemicznego rozpuszczania materiału elektrody oraz absorpcją wodoru. Ten ostatni proces jest odpowiedzialny za powstawanie pęknięć w powłoce stopowej, gdyż wnikanii wodoru towarzyszą zmiany wymiarów sieci krystalicznej [81, 89, 90], powodujące występowanie naprężeń.



Rysunek 8. Chronowoltamperogramy (0,01 V/s) utleniania wodoru zaabsorbowanego przy potencjale $-0,05$ V w stopie Pd-Pt-Rh (początkowy skład w głębi: 81% Pd, 6% Pt, 13% Rh) w różnych fazach obróbki elektrochemicznej (wielokrotnej cyklicznej polaryzacji w zakresie 0,35÷1,35 V; 0,1 V/s; 0,5 M H_2SO_4).
Osobno pokazano krzywe (0,1 V/s) w obszarze tlenowym

Ciekawy przypadek heterogenizacji stopu zaobserwowano podczas obróbki elektrochemicznej bogatego w Pd układu Pd-Pt-Rh (skład w głębi: 81% Pd, 6% Pt, 13% Rh) [137]. Istotnym elementem ewolucji krzywych chronowoltamperometrycznych jest tu pojawienie się dodatkowego sygnału prądowego (A') w obszarze wodorowym wskutek rozszczepienia piku A (Rys. 8). Potencjał nowego piku świadczy o tym, że podobnie jak pik pierwotny, jest on związany z reakcją utleniania głównie wodoru zaabsorbowanego, co potwierdzono także w eksperymentach z adsorpcją CO_2 [133]. Jednocześnie stwierdzono, że cykliczna polaryzacja w samym obszarze wodorowym nie powoduje pojawienia się dodatkowego sygnału ani nie modyfikuje znacząco już obecnego podwojonego sygnału wodorowego. Obecność tego piku sugeruje powstanie nowej fazy w objętości stopu, której zdolności do absorpcji wodoru są inne niż stopu o pierwotnym składzie. Prawdopodobnie selektywne usuwanie Pd i Rh z powierzchni stopu i jego warstw przypowierzchniowych indukuje heterogeniczność w obszarze objętym zmianami składu. Drugim czynnikiem odgrywającym rolę w tworzeniu się dodatkowej fazy może być ponowne osadzanie się w cyklu katodowym części Pd rozpuszczonego w cyklu anodowym [68]. Należy jednak podkreślić, że na krzywych i - E w obszarze tlenowym pik redukcji tlenków powierzchniowych pozostaje pojedynczy, co może oznaczać, że przynajmniej na powierzchni stop pozostaje homogeniczny fazowo. Wniosek, że obecność dwóch sygnałów wodorowych dowodzi istnienia dwóch faz w głębi stopu, potwierdzono w eksperymencie z elektrodą sporządzoną poprzez osadzenie warstwy Pd na war-

stwie stopu Pd-Pt-Rh – również w tym przypadku na chronowoltamperogramie zaobserwowano podwójny sygnał utleniania wodoru zaabsorbowanego [137].

Jak wynika z analizy powyższych eksperymentów, wielokrotna cykliczna polaryzacja elektrod stopowych do odpowiednio wysokich potencjałów z obszaru tlenowego, wiążąca się z następującymi po sobie procesami tworzenia i redukcji tlenków oraz rozpuszczania i ponownego osadzania metalu, może prowadzić do różnorodnych zmian stanu elektrody, obejmujących skład stopu, liczbę faz na powierzchni i w głębi oraz stopień rozwinięcia powierzchni. Tym samym możliwość dokonywania kontrolowanych zmian właściwości stopów na drodze obróbki elektrochemicznej pozwala uzyskiwać elektrody o określonych cechach elektrosorpcyjnych, a zatem – elektrokatalitycznych.

Należy tu dodać, że także w przypadku czystych metali długotrwała cykliczna polaryzacja elektrody może powodować zmiany stopnia rozwinięcia i struktury powierzchni, przy czym w zależności od konkretnego programu zmian potencjału zadanego elektrodzie obserwuje się albo wzrost szorstkości powierzchni, albo jej wygładzenie [159–165]. Jest przy tym rzeczą interesującą, że w przypadku elektrody Pt pewne zmiany stanu powierzchni spowodowane obróbką elektrochemiczną nie są dostrzegalne w eksperymencie chronowoltamperometrycznym, natomiast mogą być wykryte innymi technikami *in situ*, jak np. elektrochemiczna mikrowaga kwarcowa [166–170].

PODSUMOWANIE

Metoda chronowoltamperometrii cyklicznej jest cennym narzędziem charakterystyki elektrochemicznych właściwości metali szlachetnych i ich stopów. Przebieg krzywej chronowoltamperometrycznej zarejestrowanej w danych warunkach eksperymentalnych stanowi „elektrochemiczny odcisk palca” badanej elektrody.

Chronowoltamperogramy elektrod ze stopów dwu- i trójskładnikowych są jakościowo podobne do krzywych typowych dla czystych metali. Można na nich wyróżnić obszar potencjałów elektrosorpcji/desorpcji wodoru, ładowania podwójnej warstwy elektrycznej i utleniania powierzchni/redukcji tlenków powierzchniowych. Różny skład stopu na powierzchni i w głębi prowadzi do różnego przebiegu krzywych i - E , w tym odmiennego kształtu, wielkości i potencjałów poszczególnych sygnałów prądowych.

W trakcie obróbki elektrochemicznej stopów, polegającej na wielokrotnej cyklicznej polaryzacji do odpowiednio wysokiego potencjału, ma miejsce selektywne usuwanie metali bardziej podatnych na rozpuszczanie. Zmiany składu nie są ograniczone do powierzchni, ale obejmują także warstwy przypowierzchniowe stopu, wskutek czego na krzywych i - E ewolucji podlegają sygnały prądowe pochodzące zarówno od procesów powierzchniowych (adsorpcja wodoru, tworzenie i redukcja tlenków), jak i obejmujących głębię elektrody (absorpcja wodoru). Kontrolowana

obróbka pozwala na otrzymywanie elektrod o szerokim spektrum właściwości elektrochemicznych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] L.D. Burke, J.J. Borodzinski, K.J. O'Dwyer, *Electrochim. Acta*, 1990, **35**, 967.
- [2] Z. Jusys, H. Massong, H. Baltruschat, *J. Electrochem. Soc.*, 1999, **146**, 1093.
- [3] T. Frelink, W. Visscher, A.P. Cox, J.A.R. van Veen, *Electrochim. Acta*, 1995, **40**, 1537.
- [4] N. Furuya, T. Yamazaki, N. Shibata, *J. Electroanal. Chem.*, 1997, **431**, 39.
- [5] T.J. Schmidt, H.A. Gasteiger, R.J. Behm, *Electrochem. Commun.*, 1999, **1**, 1.
- [6] B.I. Podlovchenko, L. Aliua, *Elektrokhimiya*, 1972, **8**, 460.
- [7] J. O'M. Bockris, H. Wroblowa, *J. Electroanal. Chem.*, 1964, **7**, 428.
- [8] J. Sobkowski, K. Franaszczuk, *Wiad. Chem.*, 1987, **41**, 409.
- [9] H. Siwek, W. Tokarz, J. Kotowski, P. Piela, A. Czerwiński, *Przem. Chem.*, 2005, **84 (11)**, 853.
- [10] P. Piela, A. Czerwiński, *Przem. Chem.*, 2006, **85 (1)**, 13.
- [11] P. Piela, A. Czerwiński, *Przem. Chem.*, 2006, **85 (3)**, 164.
- [12] D. Cao, S.H. Bergens, *J. Power Sources*, 2004, **134**, 170.
- [13] J.-M. Léger, *Electrochim. Acta*, 2005, **50**, 3123.
- [14] C. He, H.R. Kunz, J. M. Fenton, *J. Electrochem. Soc.*, 2003, **150 (8)**, A1017.
- [15] R. Venkataraman, H.R. Kunz, J.M. Fenton, *J. Electrochem. Soc.*, 2003, **150 (3)**, A278.
- [16] A. Lima, C. Coutanceau, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Appl. Electrochem.*, 2001, **31**, 379.
- [17] A.L.N. Pinheiro, A. Oliveira-Neto, E.C. de Souza, J. Perez, V.A. Paganin, E.A. Ticianelli, E.R. Gonzalez, *J. New Mat. Elect. Syst.*, 2003, **6**, 1.
- [18] K.A. Friedrich, K.P. Geysers, A.J. Dickinson, U. Stimming, *J. Electroanal. Chem.*, 2002, **524-525**, 261.
- [19] L. Dubau, C. Coutanceau, E. Garnier, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Appl. Electrochem.*, 2003, **33**, 419.
- [20] T. Iwasita, *Electrochim. Acta*, 2002, **47**, 3663.
- [21] L. Liu, R. Visvanathan, R. Liu, E.S. Smotkin, *Electrochem. Solid-State Lett.*, 1998, **1(3)**, 123.
- [22] J.-H. Choi, K.-W. Park, I.-S. Park, W.-H. Nam, Y.-E. Sung, *Electrochim. Acta*, 2004, **50**, 787.
- [23] A. Lima, F. Hahn, and J.-M. Léger, *Russian J. Electrochem.*, 2004, **40 (3)**, 326.
- [24] S.S. Gupta, J. Datta, *J. Electroanal. Chem.*, 2006, **594**, 65.
- [25] J. Solla-Gullón, F. J. Vidal-Iglesias, V. Montiel, A. Aldaz, *Electrochim. Acta*, 2004, **49**, 5079.
- [26] T. Frelink, W. Visscher, and J.A.R. van Veen, *Langmuir*, 1996, **12**, 3702.
- [27] F. Vigier, C. Coutanceau, A. Perrard, E.M. Belgsir, C. Lamy, *J. Appl. Electrochem.*, 2004, **34**, 439.
- [28] B. Gurau, R. Viswanathan, R. Liu, T. J. Lafrenz, K.L. Ley, and E. S. Smotkin, E. Reddington, A. Sapienza, B.C. Chan, T.E. Mallouk, S. Sarangapani, *J. Phys. Chem. B*, 1998, **102**, 9997.
- [29] P. Waszczuk, G.-Q. Lu, A. Wieckowski, C. Lu, C. Rice, R.I. Masel, *Electrochim. Acta*, 2002, **47**, 3637.
- [30] W.T. Napporn, H. Laborde, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, 1996, **404**, 153.
- [31] A.S. Arico, P.L. Antonucci, E. Modica, V. Baglio, H. Kim, V. Antonucci, *Electrochim. Acta*, 2002, **47**, 3723.
- [32] W.C. Choi, J.D. Kim, S.I. Woo, *Catalysis Today*, 2002, **74**, 235.
- [33] G. Stalnionis, L. Tamašauskaite-Tamašiunaite, V. Pautieniene, Z. Jusys, *J. Solid State Electrochem.*, 2004, **8**, 900.
- [34] A. Crown, I.R. Moraes, A. Wieckowski, *J. Electroanal. Chem.*, 2001, **500**, 333.
- [35] G. Siné, D. Smida, M. Limat, G. Fóti, and C. Comninellis, *J. Electrochem. Soc.*, 2007, **154 (2)**, B170.

- [36] T. Kawaguchi, Y. Rachi, W. Sugimoto, Y. Murakami, Y. Takasu, *J. Appl. Electrochem.*, 2006, **36**, 1117.
- [37] J. Jiang, A. Kucernak, *J. Electroanal. Chem.*, 2003, **543**, 187.
- [38] R. Woods, *Chemisorption at electrodes*, [w:] A. J. Bard (Ed.), *Electroanalytical Chemistry*, vol. 9. Marcel Dekker, New York 1976.
- [39] D.A.J. Rand, R. Woods, *Surf. Sci.*, 1974, **41**, 611.
- [40] D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1972, **36**, 57.
- [41] A. Czerwiński, J. Sobkowski, *Anal. Lett.*, 1984, **17**, 2175.
- [42] M. Grdeń, A. Paruszewska, A. Czerwiński, *J. Electroanal. Chem.*, 2001, **502**, 91.
- [43] H. Siwek, M. Łukaszewski, A. Czerwiński, *Polish. J. Chem.*, 2004, **78**, 1121.
- [44] M. Łukaszewski, K. Kuśmierczyk, J. Kotowski, H. Siwek, A. Czerwiński, *J. Solid State Electrochem.*, 2003, **7**, 69.
- [45] K. Kuśmierczyk, M. Łukaszewski, Z. Rogulski, H. Siwek, J. Kotowski, A. Czerwiński, *Polish J. Chem.*, 2002, **76**, 607.
- [46] M. Łukaszewski, A. Czerwiński, *Electrochim. Acta*, 2003, **48**, 2435.
- [47] B. Beden, C. Lamy, J.-M. Leger, *Electrochim. Acta*, 1979, **24**, 1157.
- [48] M.W. Breiter, *J. Phys. Chem.*, 1965, **69**, 901.
- [49] M.W. Breiter, *Electrochim. Acta*, 1965, **10**, 543.
- [50] R. Woods, *Electrochim. Acta*, 1971, **16**, 655.
- [51] B.E. Conway, H. Angerstein-Kozłowska, G. Czartoryska, *Z. Phys. Chem. N. F.*, 1978, **112**, 195.
- [52] E. Rach, J. Heitbaum, *Electrochim. Acta*, 1987, **32**, 1173.
- [53] H. Möller, P.C. Pistorius, *J. Electroanal. Chem.*, 2004, **570**, 243.
- [54] R. Woods, *Electrochim. Acta*, 1969, **14**, 632.
- [55] R. Woods, *Electrochim. Acta*, 1969, **14**, 533.
- [56] K. Nishimura, K. Machida, M. Enyo, *J. Electroanal. Chem.*, 1988, **257**, 217.
- [57] K. Nishimura, K. Machida, M. Enyo, *J. Electroanal. Chem.*, 1988, **251**, 103.
- [58] M. Łukaszewski, A. Czerwiński, *J. Solid State Electrochem.*, 2007, **11**, 339.
- [59] K. Gossner, E. Mizera, *J. Electroanal. Chem.*, 1982, **140**, 47.
- [60] J.S. Mayell, W.A. Barber, *J. Electrochem. Soc.*, 1969, **116**, 1333.
- [61] A. Czerwiński, R. Marassi, J. Sobkowski, *Annali di Chimica*, 1984, **74**, 681.
- [62] J.A. Poirier, G.E. Stoner, *J. Electrochem. Soc.*, 1995, **142**, 1127.
- [63] B.G. Baker, D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1979, **97**, 189.
- [64] M.K. Aston, D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1984, **163**, 199.
- [65] A. Capon, R. Parsons, *J. Electroanal. Chem.*, 1975, **65**, 285.
- [66] F. Kadirgan, B. Beden, J.-M. Leger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, 1981, **125**, 89.
- [67] N. Dalbay, F. Kadirgan, *Electrochim. Acta*, 1991, **36**, 353.
- [68] S. Guerin, G.S. Attard, *Electrochem. Commun.*, 2001, **3**, 544.
- [69] J. Solla-Gullón, V. Montiel, A. Aldaz, J. Clavilier, *Electrochem. Commun.*, 2002, **4**, 716.
- [70] M. Grdeń, A. Piaszcik, Z. Koczorowski, A. Czerwiński, *J. Electroanal. Chem.*, 2002, **532**, 35.
- [71] H. Siwek, P. Piela, A. Czerwiński, *Przem. Chem.*, 2006, **85** (8-9), 1216.
- [72] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, *J. Solid State Electrochem.*, 2005, **9**, 1.
- [73] M. Łukaszewski, A. Czerwiński, *J. Electroanal. Chem.*, 2006, **589**, 38.
- [74] C. He, H.R. Kunz, J.M. Fenton, *J. Electrochem. Soc.*, 1997, **144**, 970.
- [75] K.L. Ley, R. Liu, C. Pu, Q. Fan, N. Leyarowska, C. Segre, E.S. Smotkin, *J. Electrochem. Soc.*, 1997, **144**, 1543.
- [76] P.M. Urban, A. Funke, J.T. Muller, M. Himmen, A. Docter, *Appl. Catal. A*, 2001, **221**, 459.
- [77] U.A. Paulus, A. Wokaun, G.G. Scherer, T.J. Schmidt, V. Stamenkovic, N.M. Markovic, P.N. Ross, *Electrochim. Acta*, 2002, **47**, 3787.

- [78] J. Shim, D.Y. Too, J.S. Lee, *Electrochim. Acta*, 2000, **45**, 1943.
- [79] P. Waszczuk, T.M. Barnard, C. Rice, R.I. Masel, A. Wieckowski, *Electrochem. Commun.*, 2002, **4**, 599.
- [80] K.B. Kokoh, F. Hahn, E.M. Belgsir, C. Lamy, A.R. de Andrade, P. Olivi, A.J. Motheo, G. Tremiliosi-Filho, *Electrochim. Acta*, 2004, **49**, 2077.
- [81] F.A. Lewis, *The palladium/hydrogen system*, Academic Press, New York 1967.
- [82] J. Kleperis, G. Wójcik, A. Czerwiński, J. Skowroński, M. Kopczyk, M. Bełtowska-Brzezińska, *J. Solid State Electrochem.*, 2001, **5**, 229.
- [83] F.A. Lewis, *Plat. Met. Rev.*, 1960, **4**, 132.
- [84] F.A. Lewis, *Plat. Met. Rev.*, 1961, **5**, 21.
- [85] F.A. Lewis, *Plat. Met. Rev.*, 1982, **26**, 20.
- [86] F.A. Lewis, *Plat. Met. Rev.*, 1982, **26**, 70.
- [87] F.A. Lewis, *Plat. Met. Rev.*, 1982, **26**, 121.
- [88] T.B. Flanagan, Y. Sakamoto, *Plat. Met. Rev.*, 1993, **37**, 26.
- [89] Y. Sakamoto, K. Baba, T.B. Flanagan, *Z. Phys. Chem. N.F.*, 1988, **158**, 223.
- [90] Y. Sakamoto, K. Yuwasa, K. Hirayama, *J. Less-Common Met.*, 1982, **88**, 115.
- [91] F.A. Lewis, *Z. Phys. Chem. N.F.*, 1985, **146**, 171.
- [92] Y. Sakamoto, F.L. Chen, M. Ura, T.B. Flanagan, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 1995, **99**, 807.
- [93] E. Wicke, K. Frölich, *Z. Phys. Chem. N.F.*, 1989, **163**, 35.
- [94] R. Burch, *Trans. Faraday Soc.*, 1970, **66**, 736.
- [95] B. Staliński, J. Terpiłowski, *Wodór i wodorki*, WNT, Warszawa 1987.
- [96] *Fizykochemia ciała stałego*, praca zbiorowa pod red. B. Stalińskiego, PWN, Warszawa 1967.
- [97] A. Bielański, *Podstawy chemii nieorganicznej*, PWN, Warszawa 1997.
- [98] G. Wójcik, M. Kopczyk, H. Drulis, M. Bełtowska-Brzezińska, *Wiad. Chem.*, 1995, **49**, 285.
- [99] B.E. Conway, H. Angerstein-Kozłowska, *Badania elektrochemiczne monowarstwowej adsorpcji o wielu stanach energetycznych*, [w:] *Reakcje elektrodowe*, red. Z. Galus, PWN, Warszawa-Lódź 1982.
- [100] D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1972, **35**, 209.
- [101] R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1974, **49**, 217.
- [102] D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1971, **31**, 29.
- [103] V.S. Bagotzky, M.R. Tarasevich, *J. Electroanal. Chem.*, 1979, **101**, 1.
- [104] A. Czerwiński, R. Marassi, S. Zamponi, *J. Electroanal. Chem.*, 1991, **316**, 211.
- [105] A. Czerwiński, *Polish J. Chem.*, 1995, **69**, 699.
- [106] A. Czerwiński, *J. Electroanal. Chem.*, 1994, **379**, 487.
- [107] A. Czerwiński, S. Zamponi, R. Marassi, *J. Electroanal. Chem.*, 1991, **304**, 233.
- [108] G. Jerkiewicz, *Surface oxidation of noble metal electrodes*, [w:] A. Wieckowski (Ed.), *Interfacial electrochemistry*, Marcel Dekker, New York 1999.
- [109] B.E. Conway, *Prog. Surf. Sci.*, 1995, **49**, 331.
- [110] L.D. Burke, *Oxide growth and oxygen evolution on noble metals*, [w:] S. Trasatti (Ed.), *Electrodes of conductive metallic oxides*, Elsevier, New York 1980.
- [111] G. Jerkiewicz, G. Vatankhah, J. Lessard, M. P. Soriaga, Y.-S. Park, *Electrochim. Acta*, 2004, **49**, 1451.
- [112] M. Tian, B.E. Conway, *J. Electroanal. Chem.*, 2005, **581**, 176.
- [113] M. Tian, W.G. Pell, B.E. Conway, *Electrochim. Acta*, 2003, **48**, 2675.
- [114] M. Łukaszewski, H. Siwek, A. Czerwiński, *Electrochim. Acta*, 2007, **52**, 4560.
- [115] A.E. Bolzán, A.C. Chialvo, A.J. Arvia, *J. Electroanal. Chem.*, 1984, **179**, 71.
- [116] D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.*, 1973, **44**, 83.
- [117] S.H. Cadle, *J. Electrochem. Soc.*, 1974, **121**, 645.

- [118] T. Solomun, J. Electroanal. Chem., 1991, 302, 31.
- [119] K. Juodkazis, G. Stalnionis, B. Šebeka, V. Šukienė, I. Savickaja, Russian J. Electrochem., 2002, **38**, 1157.
- [120] K. Juodkazis, J. Juodkazyte, B. Šebeka, G. Stalnionis, A. Lukinskas, Russian J. Electrochem., 2003, **39**, 954.
- [121] R. Schumacher, W. Helbig, I. Hass, M. Wünsche, H. Meyer, J. Electroanal. Chem., 1993, **354**, 59.
- [122] A.E. Bolzán, M.E. Martins, A.J. Arvia, J. Electroanal. Chem., 1984, **172**, 221.
- [123] W.M.H. Sachtler, P. van der Plank, Surf. Sci., 1969, **18**, 62.
- [124] M. W. Breiter, Trans. Faraday Soc., 1965, **61**, 749.
- [125] R. Bouwman, G.J.M. Lippits, M.W.H. Sachtler, J. Catalysis, 1972, **25**, 350.
- [126] S.H. Cadle, Anal. Chem., 1974, **46**, 587.
- [127] K. Gossner, E. Mizera, J. Electroanal. Chem., 1981, **125**, 359.
- [128] A. Czerwiński, I. Kiersztyn, M. Grdeń, J. Czapla, J. Electroanal. Chem., 1999, **471**, 190.
- [129] A. Czerwiński, I. Kiersztyn, M. Grdeń, J. Electroanal. Chem., 2000, **492**, 128.
- [130] A. Czerwiński, I. Kiersztyn, M. Grdeń, J. Solid State Electrochem., 2003, **7**, 321.
- [131] M. Grdeń, A. Czerwiński, J. Golimowski, E. Bulska, B. Krasnodębska-Ostrega, R. Marassi, S. Zamponi, J. Electroanal. Chem., 1999, **460**, 30.
- [132] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, J. Phys. Chem. Solids, 2004, **65**, 523.
- [133] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, Electrochim. Acta, 2004, **49**, 3161.
- [134] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, Anal. Lett., 2004, **37**, 967.
- [135] A. Czerwiński, M. Grdeń, M. Łukaszewski, J. Solid State Electrochem., 2004, **8**, 411.
- [136] A. Czerwiński, M. Łukaszewski, M. Grdeń, H. Siwek, Przem. Chem., 2004, **83 (10)**, 508.
- [137] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, J. Electroanal. Chem., 2004, **573**, 87.
- [138] A. Żurowski, M. Łukaszewski, A. Czerwiński, Electrochim. Acta, 2006, **51**, 3112.
- [139] M. Łukaszewski, A. Czerwiński, J. Electroanal. Chem., 2006, **589**, 87.
- [140] M. Łukaszewski, A. Czerwiński, Electrochim. Acta, 2006, **51**, 4728.
- [141] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, J. New Mat. Elect. Syst., 2006, **9**, 409.
- [142] M. Łukaszewski, M. Grdeń, A. Czerwiński, Przem. Chem., 2007, **86 (2)**, 137.
- [143] M. Łukaszewski, A. Czerwiński, Polish J. Chem., 2007, **81**, 847.
- [144] M. Łukaszewski, A. Żurowski, M. Grdeń, A. Czerwiński, Electrochem. Commun., 2007, **9**, 671.
- [145] I.G. Batirev, J.A. Leiro, J. Electron Spectrosc. Rel. Phen., 1995, **71**, 79.
- [146] J.A. Leiro, M.H. Heinonen, I.G. Batirev, Appl. Surf. Sci., 1995, **90**, 515.
- [147] E. Platzgummer, M. Sporn, R. Koller, S. Forsthuber, M. Schmid, W. Hofer, P. Varga, Surf. Sci., 1999, **419**, 236.
- [148] E. Platzgummer, M. Sporn, R. Koller, M. Schmid, W. Hofer, P. Varga, Surf. Sci., 1999, **423**, 134.
- [149] H. Deng, W. Hu, X. Shu, L. Zhao, B. Zhang, Surf. Sci., 2002, **517**, 177.
- [150] A. Damjanovic, V. Brusić, J. Electroanal. Chem., 1967, **15**, 29.
- [151] K. Gossner, E. Mizera, J. Electroanal. Chem., 1979, **98**, 37.
- [152] K. Gossner, E. Mizera, J. Electroanal. Chem., 1982, **140**, 35.
- [153] S. Trasatti, O. A. Petrii, Pure Appl. Chem., 1991, **63**, 711.
- [154] P. Waszczuk, P. Zelenay, J. Sobkowski, Electrochim. Acta, 1995, **40**, 1717.
- [155] S. Smoliński, P. Zelenay, J. Sobkowski, J. Electroanal. Chem., 1998, **442**, 41.
- [156] S. Smoliński, J. Sobkowski, J. Electroanal. Chem., 1999, **463**, 1.
- [157] M. Enyo, J. Electroanal. Chem., 1986, **201**, 47.
- [158] Z. Galus, *Teoretyczne podstawy elektroanalizy chemicznej*, PWN, Warszawa 1977.
- [159] C. L. Perdriel, W. E. Triaca, A. J. Arvia, J. Electroanal. Chem., 1986, **205**, 279.
- [160] R. M. Cervino, W. E. Triaca, A. J. Arvia, J. Electrochem. Soc., 1985, **132**, 266.
- [161] A. Visintin, J. C. Canullo, W. E. Triaca, A. J. Arvia, J. Electroanal. Chem., 1989, **267**, 191.

- [162] R.M. Cervino, W.E. Triaca, A.J. Arvia, *J. Electroanal. Chem.*, 1985, **182**, 51.
- [163] A.J. Arvia, J.C. Canullo, E. Custidiano, C.L. Perdriel, W.E. Triaca, *Electrochim. Acta*, 1986, **31**, 1359.
- [164] A. Bolzán, M.E. Martins, A.J. Arvia, *J. Electroanal. Chem.*, 1986, **207**, 279.
- [165] C.L. Perdriel, E. Custidiano, A.J. Arvia, *J. Electroanal. Chem.*, 1988, **246**, 165.
- [166] M. Hachkar, T. Napporn, J.-M. Léger, B. Beden, C. Lamy, *Electrochim. Acta*, 1996, **41**, 2721.
- [167] W. Stöckel, R. Schumacher, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 1987, **91**, 345.
- [168] F. Gloaguen, J.-M. Léger, C. Lamy, *J. Electroanal. Chem.*, 1999, **467**, 186.
- [169] C.P. Wilde, S.V. De Cliff, K.C. Hui, D.J.L. Brett, *Electrochim. Acta*, 2000, **45**, 3649.
- [170] R. Raudonis, D. Plaušinitis, V. Daujotis, *J. Electroanal. Chem.*, 1993, **358**, 351.

Praca wpłynęła do Redakcji 1 lutego 2007

**CZY METALE SZLACHETNE SĄ SZLACHETNE,
CZYLI O BIODOSTĘPNOŚCI
PLATYNY I PALLADU**

ARE NOBLE METALS REALLY NOBLE,
THUS ON BIOAVAILABILITY OF PLATINUM
AND PALLADIUM

**Julita Malejko, Barbara Leśniewska,
Beata Godlewska-Żyłkiewicz**

*Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku,
ul. Hurtowa 1, 15-399 Białystok
e-mail: bgodlew@uwb.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Migracja platynowców ze źródeł przemysłowych do środowiska
2. Mobilność platynowców w środowisku
3. Pobieranie i akumulacja platyny i palladu przez rośliny
 - 3.1. Specjacja w roślinach
4. Pobieranie i akumulacja platynowców przez organizmy wodne
5. Bioakumulacja platynowców w organizmach zwierząt lądowych i ludzi

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr Julita Malejko w 2002 roku ukończyła studia na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Obecnie jest asystentem w Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii UwB. Zajmuje się oznaczaniem śladowych ilości platynowców w próbkach środowiskowych metodą przepływową z detekcją chemiluminescencyjną.

Dr Barbara Leśniewska w roku 1995 ukończyła studia na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym Filii Uniwersytetu Warszawskiego w Białymstoku. Pracę doktorską, wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Adama Hulanickiego, dotyczącą metodologicznych problemów oznaczania platyny i palladu w roślinach i pyłe drogowym, obroniła z wyróżnieniem w roku 2004. Przebywała na stażach naukowych w ISAS (Dortmund, Niemcy) i Istituto Superiore di Sanita (Rzym, Włochy). Obecnie jest adiunktem w Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii UwB. Jej problematyka badawcza dotyczy metod analitycznych oznaczania metali ciężkich w materiałach środowiskowych.

Dr hab. Beata Godlewska-Żyłkiewicz jest adiunktem w Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku. Stopnie naukowe doktora (1995) i doktora habilitowanego (2006) uzyskała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Przebywała na stażach naukowych w Anglii, Grecji, Włoszech i Hiszpanii. Obecna tematyka zainteresowań to metody wydzielenia, wzbogacania i oznaczania metali śladowych w materiałach środowiskowych. W ostatnim okresie, w pracach badawczych wykorzystuje zwłaszcza ekstrakcję do fazy stałej z wykorzystaniem różnych sorbentów: jonitów, fulerenów, mikroorganizmów i polimerów wdrożonych.

ABSTRACT

The increasing concentrations of platinum and palladium in the environment have been observed in the last quarter of the last century. The review summarizes current knowledge concerning the emission of platinum and palladium into biosphere, environmental mobility of these metals, their speciation and bioavailability for living organisms.

The main sources of emission of these metals are chemical, petroleum and electronic industries, car catalytic converters, hospitals and jewellery [8, 9, 31]. Platinum, palladium and rhodium are released from automobile catalysts during vehicle operation in the form of nanometer size particles, mainly in metallic form [19]. These fine particles [21, 23] are mostly deposited close to the communication routes (in a road dust and soil) [31, 33, 34], but the last evidence showed that due to atmospheric dispersion they could be also transferred for longer distances, even to glaciers and snows of central Greenland [29, 35, 51]. The storm water transports particles containing Pt and Pd into road drainage basins, sludge and aquatic environment (urban lakes and rivers and their sediments) [43, 44, 49]. The increased concentrations of precious metals were found in different environmental samples such as atmospheric aerosols and particulate matter, road and tunnel dust, soil, lake and river sediments, snow and vegetation growing in the roadside environment. The total deposition of these elements in the northern hemisphere was assessed as 20–50 ton/year of Pd and 9–20 ton/year of Pt [35].

Platinum and palladium are chemically inert, but under atmospheric conditions (rainwater of low pH, high content of chlorides) and operation of natural complexing agents can be partially oxidized and transformed in soil and sediments into soluble species [47–53, 66]. In such form they became available for plants growing on contaminated soil or can be taken up by aquatic animals such as isopods, mussels, fish, and parasites [69–75, 87–90, 93, 97]. The experimental data shows that palladium is the most mobile and bioavailable element among other platinum group metals ($\text{Pd} > \text{Pt} \geq \text{Rh}$). The bioaccumulation factors of palladium for plants and aqueous animals are similar to that calculated for copper and a magnitude higher than occurring for lead [73, 89] [Tables 1 and 2]. The plant and animal cells in the presence of high concentration of palladium induce production of sulfur-rich detoxification compounds, such as phytochelatinines for plants [72, 81] and metallothioneins for animals [48, 98]. The internal organs of birds living in natural habitat also contain elevated concentrations of noble metals [100, 101]. The higher concentration of palladium (and rhodium) than platinum were found in urine of unexposed individuals [105, 106, Table 3], what suggests a different environmental mobility and metabolism of Pd and Rh. The Pd level in human urine, but not Pt, was correlated with traffic intensity [106].

Recent investigations confirmed that platinum and palladium of anthropogenic origin are accumulated in environment and they have high biological availability for plants, animals and humans.

Keywords: platinum, palladium, emission, environment, bioavailability, bioaccumulation, plants, animals, humans

Słowa kluczowe: platyna, pallad, emisja, środowisko naturalne, biodostępność, bioakumulacja, rośliny, zwierzęta, człowiek

WPROWADZENIE

Platyna, pallad, rod i inne metale szlachetne należą do najrzadziej występujących pierwiastków w skorupie ziemskiej (10^{-7} – $10^{-6}\%$). W litosferze średnie stężenie platyny zawiera się w granicach 1–5 ng/g, natomiast palladu wynosi 10 ng/g [1]. Pierwiastki te najczęściej występują w postaci rodzimej oraz jako zanieczyszczenia siarczkowych i arsenowych rud niklu i miedzi. Znanych jest około 100 minerałów zawierających platynowce: sperylit PtAs_2 (odkryty po raz pierwszy w 1899 roku przez Sperry'ego), kuperyt $(\text{Pt}, \text{Pd})\text{S}$, braggit $(\text{Pt}, \text{Pd}, \text{Ni})\text{S}$ oraz rudy innych platynowców, którym towarzyszy platyna: lauryt RuS_2 albo $(\text{Ru}, \text{Os})\text{S}_2$, potaryt PdHg oraz stibiopalladynit Pd_3Sb [1, 2]. W postaci rodzimej platyna występuje jako stop z żelazem (ferroplatyna), miedzią lub irydem (platynoiryd), pallad zaś w postaci stopów z rtęcią, antymonem i złotem. Złoża platyny występują głównie w Republice Południowej Afryki oraz Rosji, Kanadzie i Stanach Zjednoczonych. Złoża platyny odnaleziono również na dnie mórz i oceanów, zwłaszcza w nieskonsolidowanych osadach szelfowych i złożach rozsypiskowych [3]. Globalne zasoby platynowców ocenia się na około 65 000 t, w tym: 31 000 t platyny, 11 000 t palladu.

Platyna i pallad należą do metali szlachetnych, ale nie zawsze pierwiastki te uważano za cenne. Początkowo traktowano je jako bezwartościowy odpad przeszkadzający w wydobywaniu złota. Często w złotonośnych złożach platyna była „przyklejona” do złota, co stwarzało trudności przy jego odzyskiwaniu. Nazwa *platina*, jako nazwa metalu, pojawiła się po raz pierwszy na początku XVIII w. Pochodzi ona od hiszpańskiej nazwy srebra (*plata*) i pogardliwie znaczy sreberko, czyli liche srebro, gdyż metal ten ma słabszy połysk od srebra. Hiszpańscy oszuści w owym czasie fałszowali złote monety wykonując je z ołowiu z dodatkiem platyny i pokrywając warstwą złota. Rząd hiszpański, kiedy dowiedział się o tym procederze, nakazał zamknięcie niektórych kopalń, a część wydobytych zasobów wyrzucono do morza [4].

Badania nad właściwościami platyny rozpoczęto pod koniec XVIII w., a jej wartość doceniono dopiero w XIX w., kiedy odkryto odporność tego metalu na korozję i działanie stężonych kwasów, nawet w podwyższonej temperaturze. Badacze zapragnęli wyposażyć swoje laboratoria w sprzęt (tygły, rurki, siatki) wykonany z platyny. Wkrótce poznano właściwości katalityczne platyny i czerni platynowej. Jej katalityczny wpływ na reakcję spalania wodoru w powietrzu stał się podstawą wynalazienia tzw. zapalniczki Döbereinera. Na przełomie XIX i XX w. platynę, ze względu na jej bierność chemiczną, wykorzystywano w procesach fotograficznych. Powstała nawet nowa technika fotograficzna zwana platynotypią (1880 r.), umożliwiająca tonowanie barw obrazu oraz zapewniająca większą trwałość zdjęć. W czasie I wojny światowej platyna została metalem „strategicznym”. Wykorzystywano ją jako katalizator w procesie syntezy kwasu azotowego używanego do produkcji materiałów wybuchowych. Wraz ze zwiększającym się popytem, ceny platyny systematycznie wzrastały.

Pallad został odkryty przez Williama Hyde'a Wollastona w 1803 r. Uczony nazwał nowy pierwiastek na cześć odkrycia nowej planetoidy – Pallas. Metal ten zaczęto wykorzystywać na szerszą skalę dopiero po odkryciu jego złóż w Republice Południowej Afryki (1924 r.) i Kanadzie (1930 r.).

Metale szlachetne, czyli platyna, pallad, rod, iryd, ruten, osm i złoto, w porównaniu z innymi metalami przejściowymi, charakteryzują się znacznie większą odpornością chemiczną na działanie stężonych kwasów oraz tlenu. Platyna i pallad rozpuszczają się jedynie w wodzie królewskiej, pallad dodatkowo w gorącym HNO_3 , oraz w roztworach stopionych zasad. Wykazują też, szczególnie w rozdrobnionej postaci, znakomite właściwości katalityczne, wykorzystywane w procesach przemysłowych. Stacjonarne katalizatory zawierające platynę są stosowane, m.in. w procesach utleniania amoniaku (Pt-Rh), w reakcjach przegrupowań i odwodorniania alifatycznych węglowodorów otrzymywanych z destylacji ropy naftowej, przy produkcji kwasu siarkowego(VI) (azbest platynowy), do uwodorniania związków organicznych (Pt metaliczna), do otrzymywania kwasu cyjanowodorowego (Pt-Rh), a także do oczyszczania spalin przemysłowych. Pallad jest używany jako katalizator procesowy w przemyśle chemicznym (np. przy produkcji octanu winylu). Ponadto platyna wykorzystywana jest w jubilerstwie, elektronice (twarde dyski komputerów), do wyrobu sprzętu laboratoryjnego i w medycynie, zaś pallad w postaci stopów stosowany jest w elektronice do produkcji materiałów przewodzących, wielowarstwowych ceramicznych kondensatorów, wykorzystywanych w komputerach i telewizorach, oraz w stomatologii. Ostatnio najwięcej platynowców zużywa przemysł motoryzacyjny do produkcji katalizatorów samochodowych (ponad 50% całkowitego światowego zużycia platyny i palladu oraz ponad 80% zużycia w Europie) [3].

Wraz ze wzrastającym zużyciem platynowców w gospodarce światowej, zaobserwowano wzrost zawartości tych pierwiastków w środowisku przyrodniczym. Zainteresowanie problemem emisji platynowców do środowiska rozpoczęło się pod koniec lat 80-tych ubiegłego wieku [5] i trwa do chwili obecnej. Pojawiła się wówczas potrzeba oznaczania ich zawartości w próbkach środowiskowych, w których występują w stężeniach rzędu ng/g, co z kolei spowodowało podjęcie intensywnych prac badawczych w celu opracowania procedur analitycznych o dobrej selektywności i niskich granicach oznaczalności. Najczęściej stosowanymi technikami oznaczania platynowców są: spektrometria mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS), adsorpcyjna voltamperometria inwersyjna (AdSV) oraz atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją elektrotermiczną (ETAAS) [6,7]. Początkowo uważano, że bierne chemicznie platynowce nie ulegają w środowisku żadnym przemianom. Jednak podwyższony poziom platyny i palladu w roślinach i tkankach zwierząt zwrócił uwagę badaczy na zagadnienia związane z biodostępnością tych metali ze środowiska, a w konsekwencji, na zagrożenia spowodowane zwiększoną emisją platynowców. O aktualności i znaczeniu poruszanych problemów może świadczyć fakt wydania w ostatnich latach przez wydawnictwo Springer Verlag dwóch monografii [8, 9].

W prezentowanej pracy omówiono obecny stan wiedzy dotyczącej źródeł emisji platynowców, procesów ich migracji i transformacji w środowisku oraz biodostępności tych metali dla organizmów żywych.

1. MIGRACJA PLATYNOWCÓW ZE ŹRÓDEŁ PRZEMYSŁOWYCH DO ŚRODOWISKA

Wraz z rozwojem przemysłu, motoryzacji i medycyny pojawił się problem emisji platynowców do środowiska. W wyniku zużywania się katalizatorów przemysłowych następuje zanieczyszczenie metalami szlachetnymi wytwarzanych produktów [10] oraz ich emisja do atmosfery. Niewiele jest danych dotyczących strat platyny i palladu podczas procesu ich produkcji i oczyszczania, ale w glebie pobranej z otoczenia dużych zakładów przemysłowych przetwarzających rudy Cu-Ni na półwyspie Kola w Rosji oznaczona zawartość platyny wynosiła od 4,3 do 466 ng/g oraz palladu od 39 do 1760 ng/g. Podwyższoną zawartość obu metali w glebie (średnio 50 ng/g) obserwowano w odległości nawet 2,5 km od zakładów [11]. Platynowce wykorzystywane w przemyśle elektronicznym, szklanym, jubilerskim lub gabinetach dentystycznych dostają się do ścieków i osadów komunalnych. Przykładowo: zawartość platyny i palladu oznaczona w osadach ścieków miejskich w Pforzheim (Niemcy), które jest centrum jubilerskim, wynosiła odpowiednio 1,1 µg/g i 4,7 µg/g [12]. Po wprowadzeniu na rynek niemiecki stopów dentystycznych zawierających pallad (po 1981 r.) zaobserwowano wzrost stężenia tego pierwiastka w popiołach z oczyszczalni ścieków w Stuttgarcie [13]. Na podstawie analizy ścieków zakładów przemysłowych Nadrenii Północnej-Westfalii oszacowano, że do wód powierzchniowych tego najbardziej zurbanizowanego i uprzemysłowionego regionu Niemiec dostaje się rocznie ok. 1,1 kg palladu. Prawie 75% tej ilości pochodzi z przemysłu chemicznego, a 15% z przemysłu włókien sztucznych. Miejskie oczyszczalnie ścieków wprowadzają do wód ok. 5,7 kg palladu rocznie, ale również w takich oczyszczalniach istotny udział mają ścieki z zakładów przemysłowych (szczególnie chemicznych) [14].

Znaczącym źródłem emisji platyny do środowiska są szpitale, w których stosuje się leki antynowotworowe zawierające platynę: *cis*-platynę (*cis*-diaminadichloroplatyna(II)), karboplatynę (*cis*-diamina(1,1-cyklobutanodikarboksylano)platyna(II)) oraz oksaliplatynę ([1*R*,2*R*)-1,2-cykloheksanodiamina-*N,N'*]-[oksalato(2-*O*,*O'*)]platyna(II)). Na podstawie zużycia leków oraz stężenia platyny w ściekach szpitalnych oszacowano, że rocznie ze szpitali niemieckich do środowiska wraz ze ściekami i odpadami dostaje się ok. 15 kg platyny [15]. Ostatnie badania wykazały, że zaledwie 27±12% całkowitej ilości leków podanych w szpitalu onkologicznym zostaje wprowadzonych do ścieków szpitalnych (stężenie platyny wahało się od 4,7 do 145 µg/L). Oznacza to, że pozostała część podanej dawki zostaje włączona do ścieków komunalnych dopiero w domu chorego [16]. Zbadano również, że np.

cis-platyna wydalana jest z organizmu w postaci bardzo aktywnej i cytotoksycznej monoakwacisplatyny, a zatem w tej formie występuje w ściekach [17]. W oczyszczalniach większość platyny pochodzącej z cytostatyków (70–96%) ulega jednak adsorpcji na osadzie czynnym, dzięki czemu nie przedostaje się do wód [16].

Kolejnym źródłem emisji platynowców są konwertory katalityczne, zwane popularnie katalizatorami spalin, które zostały wprowadzone do użycia w związku z coraz ostrzejszymi normami dotyczącymi emisji tlenku węgla, tlenków azotu i węglowodorów przez pojazdy. Regulacje prawne mające na celu ochronę środowiska, dotyczące obowiązku wyposażania samochodów w katalizatory, wprowadzone zostały najpierw w USA (1975 r.) i w Japonii (1976 r.), a następnie w krajach Unii Europejskiej (Dyrektywa 94/12/EEC) i w Polsce (1997 r.) [18]. Najczęściej stosowane są katalizatory potrójnego działania, zbudowane z ceramicznego podłoża pokrytego warstwą nośnika, zawierającego tlenek glinu z domieszką metali ziem alkalicznych lub rzadkich oraz tlenków innych metali np. CeO_2 , La_2O_3 , ZrO_2 , na który naniesione są rozdrobnione metale z grupy platynowców: platyna, pallad i rod (0,2–0,4% Pt; 0,2–0,5% Pd; 0,03–0,05% Rh) [19]. W wyniku działania wysokiej temperatury spalin (400°C) drobiny z powierzchni katalizatora są wyrwane i unoszone do otoczenia. Z katalizatorów monolitycznych emitowane są cząstki nośnika zawierające osadzone metale szlachetne (w postaci metalicznej lub w formie tlenków) o maksymalnej wielkości 30 μm . W literaturze znaleźć można informacje, że najwyższym stężeniem platyny charakteryzują się cząsteczki aerozoli atmosferycznych o rozmiarach < 0,39 μm [20], od 1 do 2,15 μm [21] lub od 3,3 do 9 μm [22, 23]. Najwięcej palladu jest we frakcji o rozmiarach 1,1–4,7 μm [21, 23]. Emisja platynowców zależy od wielu czynników, m.in. rodzaju i stopnia zużycia katalizatora, typu silnika, jego sprawności i prędkości samochodu. Stwierdzono, że nowe katalizatory emitują największe ilości platynowców. W katalizatorze zużyтым zawartość platynowców jest o około 12% mniejsza niż w katalizatorze nowym [24]. Największą emisję platyny stwierdzono przy prędkości jazdy 130–140 km/h oraz podczas wielokrotnego zwiększania i redukowania prędkości, a więc podczas jazdy miejskiej. Szacuje się, że emisja z katalizatorów samochodów wyposażonych w silniki benzynowe wynosi 9–124 ng/km Pt [25] i 6–108 ng/km Pd [26], zaś w silniki diesla nawet do 400 ng/km Pt [27]. Obliczenia przeprowadzone na podstawie wielkości emisji platynowców z katalizatorów samochodowych oraz liczby samochodów w Austrii, Szwecji i Hiszpanii wykazały, że do środowiska każdego z tych krajów dostaje się około 10 kg platyny rocznie, zaś w Holandii ponad 20 kg [15, 28]. Wielkość rocznej emisji platyny w Niemczech, obliczona przez Kümmerera [15] (ok. 190 kg/rok Pt), wydaje się zatem nazbyt wysoka. Szacunkowe wyliczenia światowej emisji platyny z katalizatorów samochodowych (500 mln aut wyposażonych w katalityczne konwertory spalin) dały wartość 0,5–1,4 tony/rok [29]. Szerzej zagadnienia dotyczące emisji platynowców z katalizatorów samochodowych omówiono w pracach przeglądowych [30–32].

Stężenie platynowców w aerozolach i pyłach atmosferycznych na obszarach miejskich jest na poziomie pg/m^3 ($0,1\text{--}55 \text{ pg/m}^3$) [31]. Emitowane do atmosfery platynowce ulegają depozycji w najbliższym otoczeniu dróg i szlaków komunikacyjnych [33, 34]. Szybkość depozycji platyny oszacowano na $0,4\text{--}6,2 \mu\text{g/m}^2\text{-rok}$, a palladu na $0,2\text{--}8,8 \mu\text{g/m}^2\text{-rok}$ [33, 35]. W krajach europejskich stężenia platynowców w pyłach drogowych wynoszą od 4 do 300 ng/g , zaś w glebach od 1 do 200 ng/g [8, 9, 30, 31], w zależności od miejsca pobrania próbek i natężenia ruchu. Zawartość tych metali w próbkach środowiskowych pobranych z obszaru północno-wschodniej Polski badano w latach 2000–2003. W tym okresie stężenie platyny w próbkach pyłu drogowego pobranych z centrum Białegostoku wzrosło z $34,4$ do $265,6 \text{ ng/g}$, a palladu z $32,8$ do $215,5 \text{ ng/g}$, natomiast w próbkach pyłu tunelowego zawartość platyny wzrosła z $22,3$ do $90,4 \text{ ng/g}$, a palladu z $16,4$ do $67,7 \text{ ng/g}$ [36–38]. Stężenie platyny w glebie wynosiło 35 ng/g , a palladu 8 ng/g [39]. Znacznie niższe zawartości platynowców oznaczono w trawach ($0,2\text{--}8 \text{ ng/g}$) [36, 39]. Niedawno stwierdzono wzrost zawartości tych metali w środowisku w Ameryce Południowej i Środkowej (Meksyk [40], Brazylia [41]), a nawet w słabo rozwiniętych krajach afrykańskich (Ghana) [42].

Zanieczyszczenie platynowcami dalszych elementów środowiska następuje na skutek przemieszczania się aerozoli i pyłów z wiatrem. Istotną rolę w transporcie tych metali odgrywają również opady i sploty burzowe. Powodują one przeniesienie zanieczyszczeń z otoczenia dróg do gleby oraz osadów ściekowych, które z kolei powodują podwyższenie zawartości metali w wodach i osadach dennych. O takiej drodze migracji platynowców świadczą wysokie stężenia platyny, od 15 do 1600 ng/L (średnio 117 ng/L), oznaczone w wodzie deszczowej spływającej z ulic [43] oraz w osadach ściekowych z autostrad, wynoszące przykładowo w Anglii $34,2 \text{ ng/g Pt}$, $12,8 \text{ ng/g Pd}$ oraz $5,5 \text{ ng/g Rh}$ [44]. Oszacowano, że emisja palladu do zbiorników wodnych wraz ze splotami powierzchniowymi z dróg wynosi 4 ng/km , co stanowi $15\text{--}25\%$ całkowitej emisji palladu z katalizatorów samochodowych [14]. Stężenie platynowców w wodach powierzchniowych jest z reguły niewielkie i waha się od $0,05$ do $10,2 \text{ ng/L}$ [31, 45–47]. Znacznie wyższe są zawartości platynowców w osadach dennych, które gromadzą zanieczyszczenia wód w czasie i w przestrzeni. Przykładowo, stężenia platyny, palladu oraz rodu w osadach dennych pobranych w 1999 r. z rzeki Mölndal, przepływającej przez Göteborg (Szwecja), wynosiły odpowiednio $53,9$, $38,7$ oraz $9,4 \text{ ng/g}$ [48]. Zawartość platyny w tych osadach była około 5 razy większa niż w osadach pobranych dwa lata wcześniej. Stężenie platyny i palladu w osadach jeziora Upper Mystic, położonego w okolicy Bostonu, wzrosło od roku 1940 do chwili obecnej 20-krotnie, zaś od roku 1975 (wprowadzenie katalizatorów w USA) 10-krotnie z 2 do ok. 20 ng/g [49]. Szybkości depozycji platynowców w osadach wyznaczone w latach 1992–2002 wynosiły $9\pm 5 \mu\text{g/m}^2\text{-rok Pt}$, $10\pm 4 \mu\text{g/m}^2\text{-rok Pd}$ oraz $1,3\pm 0,4 \mu\text{g/m}^2\text{-rok Rh}$, i były odpowiednio 16, 8 oraz 6 razy większe niż przed wprowadzeniem katalizatorów samochodowych.

Najnowsze badania pokazują, że drobne cząsteczki zawierające metale szlachetne opadają nie tylko w pobliżu dróg, ale mogą być transportowane znacznie dalej, np. wyższą zawartość platynowców stwierdzono na torfowiskach położonych w odległości 250–500 m od szlaków komunikacyjnych [50], a nawet docierać na jeszcze bardziej odległe tereny. Śnieg jest efektywnym zmiataczem zanieczyszczeń atmosferycznych, zatem badania jego składu dostarczają informacji o stanie atmosfery w przeszłości. Zwiększającą się zawartość platynowców w biosferze w ciągu wieków potwierdzono analizując próbki rdzenia lodowego pobierane z różnych głębokości z obszarów Alp [51, 52], Antarktydy i Grenlandii [29, 53]. W śniegach Grenlandii i Alp, a więc na obszarach oddalonych od antropogenicznych źródeł zanieczyszczeń, stężenie platynowców wzrosło po roku 1975 ponad 30-krotnie (od 0,01 do 0,33 pg/g), a depozycja platyny na Grenlandii w latach 1992–2002 była około 600 razy wyższa od naturalnej [35]. W najnowszych badaniach, uwzględniających szybkość depozycji platynowców na obszarach uprzemysłowionych, na obszarach oddalonych od źródeł zanieczyszczeń oraz cyrkulację mas powietrza na półkuli północnej oszacowano, że depozycja platyny i palladu na półkuli północnej łącznie ze wszystkich źródeł wynosi odpowiednio 9–20 ton/rok i 20–50 ton/rok, przy czym depozycja w pobliżu szlaków komunikacyjnych stanowi tylko ok. 5% całkowitej depozycji platynowców [35].

Różnice między szacowaną emisją a depozycją związane być mogą z niedoszacowaniem rzeczywistej wielkości emisji platynowców lub pominięciem w obliczeniach pewnych jej źródeł. Potencjalnie źródłami zanieczyszczenia lodów mogą być huty w północno-wschodniej Rosji oraz katalizatory samochodowe. Badania przeprowadzone w masywie alpejskim Monte Rosa wykazały znaczny wzrost stężenia platyny w próbkach osadzonych w latach 80-tych, a więc po upowszechnieniu katalizatorów samochodowych w Europie [51]. Jednakże, na podstawie analizy próbek śniegu stwierdzono również, że podwyższone stężenie palladu i rodu występowało w ciągu całego XX wieku, co wskazuje na inne możliwe źródła zanieczyszczenia tymi metalami. Trudno jest ustalić proste korelacje między emisją przemysłową, samochodową a depozycją metali, przede wszystkim ze względu na niedostatecznie znany wpływ warunków meteorologicznych, głównie trajektorii mas powietrza, na procesy transportu. Ostatnio podjęto takie badania wykorzystując programy do modelowania dróg powietrza [54].

2. MOBILNOŚĆ PLATYNOWCÓW W ŚRODOWISKU

Platynowce emitowane są z katalizatorów samochodowych głównie w postaci metalicznej lub prostych tlenków [19]. Przez długi czas uważano, że w takiej właśnie formie, ze względu na swoją inertność, pozostają w środowisku. Jednak analiza spalin samochodowych i aerozoli atmosferycznych wykazała, że w warunkach środowiskowych metale te częściowo ulegają rozpuszczeniu. Rozpuszczalność platynowców związana jest prawdopodobnie z tworzeniem podczas pracy katalizatorów

(wysoka temperatura, wilgotność, zawartość chloru do 3,5%) ich połączeń chlorkowych [32]. Innym czynnikiem sprzyjającym zwiększonej rozpuszczalności tych metali jest występowanie w bardzo rozdrobnionej, nanokrystalicznej postaci [22, 32]. Pierwsze badania wykazały, że ok. 10% Pt zawartej w spalinach ulega rozpuszczeniu w wodzie [55]. Znacznie niższą zawartość rozpuszczalnej frakcji platyny (ok. 1%) uzyskano w 0,1 mol/L roztworze HCl [25], natomiast w 0,2 mol/L roztworze HNO₃ rozpuszczeniu uległo 2% Pt i 14% Pd emitowanych z nowego katalizatora. Zauważono, że ilość rozpuszczalnej frakcji platynowców zależała od typu i stopnia zużycia katalizatora [32]. Około 10% Pt osadzonej na cząsteczkach katalizatora o rozmiarach < 5 μm rozpuszczało się również w roztworze NaCl (0,9%) [56]. Znacznie większa ilość rozpuszczalnej frakcji zawierającej platynę znajduje się w aerozolach atmosferycznych. Stwierdzono, że w rozcieńczonych roztworach HCl (0,07–0,1 mol/L) rozpuszcza się od 10% [22] do 30–43% Pt [57]. Z pyłu tunelowego w takich warunkach uległo rozpuszczeniu jedynie 2,5–7% Pt [57]. Badania rozpuszczalności platynowców z pyłu drogowego w roztworach symulujących deszcz (pH = 3) wykazały niewielką rozpuszczalność frakcji zawierającej platynę (ok. 1%), natomiast znaczącą rozpuszczalność frakcji zawierającej pallad (> 30%). Tak duża rozpuszczalność palladu może wynikać z oddziaływania chlorków i substancji humusowych pyłu drogowego na metaliczny pallad [58]. Znacznie niższe wartości rozpuszczalności palladu (0,6–4,7%) otrzymano prowadząc ekstrakcję pyłu drogowego naturalną wodą deszczową, co zdaniem autora, lepiej odzwierciedla zachowanie palladu w rzeczywistych warunkach środowiskowych [59].

Jak widać, niewielka część emitowanych platynowców staje się biodostępna w wyniku prostego procesu rozpuszczania. Jednak aerozole atmosferyczne i pyły drogowe, migrując wraz z opadami atmosferycznymi do gleby, mogą ulegać w niej dalszym przekształceniom. Obecność różnorodnych związków organicznych w glebie może prowadzić do utleniania platyny i palladu oraz tworzenia połączeń, które zwiększają ich dostępność nawet do 50% [60]. Wykazano, że mobilność platyny i palladu mogą zwiększać naturalnie występujące ligandy organiczne, np. L-metionina, octany, kwasy fulwowe, kwasy humusowe [61, 62] oraz siderofory [63]. Siderofory są związkami wytwarzanymi przez bakterie, grzyby i rośliny w celu zwiększenia biodostępności żelaza. Badania wykazały [63], że rozpuszczalność platyny i palladu z rozdrobnionych metali i ich tlenków w obecności syntetycznego sideroforu – desferoksaminy-B (DFO-B) była odpowiednio 1,5- i 2,5-krotnie wyższa dla platyny oraz 2,5- i 42-krotnie wyższa dla palladu, w porównaniu do rozpuszczalności z próbek niezawierających DFO-B. Wyliczone wartości stałych trwałości Pt- i Pd-DFO-B (10^{17} – 10^{18} dla Pt; 10^{20} – 10^{24} dla Pd) sugerują możliwość konkurencji tych metali z innymi dwuwartościowymi kationami w tworzeniu takich połączeń. Wpływ sideroforów na rozpuszczalność platyny i palladu minimalizuje jednak znaczna aktywność obecnych w glebie jonów Fe(III) i Al(III). Nie ma przekonujących dowodów, że w glebie możliwa jest biometylacja platyny i palladu, ale wiadomo, że bakterie *Desulfovibrio desulfuricans* enzymatycznie redukujące żelazo i mangan w obec-

ności donorów elektronów (H_2 , pirogronianów, mrówczanów) wykazują zdolność redukcji Pd(II) do Pd(0), co powoduje jego unieruchomienie [64]. Wyniki badań świadczą o znacznej mobilności platynowców w glebie, co ma znaczący wpływ na ich biodostępność.

Kolejnym elementem środowiska, do którego migrują platynowce, są zbiorniki wodne. Metale te mogą tworzyć połączenia kompleksowe z naturalną materią organiczną wód, na przykład pallad wykazuje powinowactwo do kwasów fulwowych. W nieobecności substancji kompleksujących dominującą formą tego metalu w szerokim zakresie pH jest wodorotlenek palladu $Pd(OH)_2$, natomiast w obecności jonów Cl^- dominują kompleksy chlorkowe i hydroksochlorkowe ($[PdCl_4]^{2-}$, $[PdCl_3(OH)]^{2-}$). Kompleksy chlorkowe tworzą również rod ($[RhCl_{6-x}(H_2O)_x]^{x-3}$, gdzie $0 \leq x \leq 6$) oraz platyna ($[PtCl_5(OH)]^{2-}$) [65]. Badania przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych wykazały, że w zbiornikach wodnych platynowce ulegają podziałowi między fazę wodną (frakcja przechodząca przez filtr $0,45 \mu m$) a fazę stałą (frakcja skoagulowana i frakcja zaadsorbowana na osadach zatrzymywane na filtrze $0,45 \mu m$). Zawartość palladu i rodu w fazie stałej wzrasta wraz ze wzrostem zasolenia wody oraz stężenia jonów Cl^- , natomiast w przypadku platyny maleje. Ponadto w przypadku wszystkich platynowców zaobserwowano, że współczynniki podziału między fazę stałą a fazę wodną wzrastają ze wzrostem stężenia jonów Ca^{2+} [65]. Inne badania wykazały, że adsorpcja Pt(IV) i Rh(III) na cząstkach osadów dennych jest procesem odwracalnym, zachodzącym zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu. W przypadku Pd(II) proces jest bardziej złożony, mianowicie po szybkim początkowym etapie adsorpcji, następuje wolny etap desorpcji. Po wprowadzeniu osadu do próbki wody rzecznej zawierającej dodatek $5 \mu g/L$ Rh(III), Pt(IV) i Pd(II) i ustaleniu się stanu równowagi stwierdzono, że w wodzie nad osadu znajdowało się 1,1 – 14% Rh, 54 – 72% Pt i około 80% Pd, w porównaniu z początkową zawartością metali. Wykazano również, że stopień adsorpcji platynowców na cząstkach osadów zależy od ich formy chemicznej. Badane metale w postaci kompleksów z naturalną materią organiczną adsorbowały się w mniejszym stopniu niż kompleksy nieorganiczne. Ekstrakcja platynowców z osadów dennych za pomocą 1 mol/L roztworu octanu amonu wykazała, że zawartość tych metali w ekstraktach malała w szeregu $Pd > Pt > Rh$. W środowisku wodnym najbardziej mobilnym platynowcem okazał się pallad [66].

3. POBIERANIE I AKUMULACJA PLATYNY I PALLADU PRZEZ ROŚLINY

Gleba jest głównym źródłem zaopatrzenia roślin w wiele pierwiastków pokarmowych, niezbędnych do prawidłowego wzrostu i rozwoju. Jednocześnie stanowi pierwszą barierę regulującą przechodzenie pierwiastków śladowych do łańcucha pokarmowego. Rośliny, dysponując substancjami kompleksującymi wydzielanymi przez korzenie, mogą pobierać unieruchomione w podłożu pierwiastki pokarmowe,

a także metale ciężkie i platynowce. Mechanizmy pobierania jonów metali z gleby i wzrostu roślin prowadzą do kumulowania metali w roślinach i osiągania kilkakrotnie większych stężeń niż w glebie, co w rezultacie prowadzi do zanieczyszczenia żywności. Badania mające na celu określenie zdolności pobierania i akumulowania platynowców w roślinach prowadzono w uprawach hydroponicznych oraz tradycyjnych, w glebie.

Podczas hydroponicznej uprawy trawy z rodziny wiechlinowatych (*Setaria verticillata*), której nasiona pochodziły z obszaru występowania rud platynowców (Busveld, RPA), zauważono, że niskie stężenia platyny (0,5 mg/L $K_2[PtCl_4]$) stymulowały wzrost korzeni, natomiast przy stężeniach przekraczających 2,5 mg/L obserwowano objawy toksyczności: karłowacenie i żółknięcie korzeni, chlorozę i obumieranie liści, spadek biomasy [67]. Objawy zaburzenia gospodarki wodnej i pobierania składników odżywczych w sadzonkach topoli (*Populus maximowiczii* i *P. nigra*) obserwowano przy niższym stężeniu Pt(IV) wynoszącym 34,8 $\mu\text{g/L}$ [68]. Wprowadzenie do roztworu pożywki substancji humusowych znacznie obniżyło fitotoksyczne działanie tego metalu, chociaż w obu przypadkach stwierdzono podobną zawartość platyny w korzeniach.

W przypadku uprawy gorczycy (*Sinapis alba*) [69–71], kukurydzy (*Zea mays*) [69] i trawy, życicy trwałej (*Lolium perenne*) [70] na pożywkach zawierających od 0,05 do 0,50 mg/L Pt(II) oraz trawy, życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum*) [72] na pożywkach zawierających od 3,6 do 38 mg/L Pt(II) i od 4 do 20 mg/L Pd(II), nie obserwowano występowania objawów toksycznych. Stwierdzono jednak, że badane rośliny pobierają znaczne ilości platyny i palladu, akumulując je głównie w korzeniach. Ilość metali transportowana do części nadziemnych zależała od gatunku rośliny i wzrastała ze wzrostem stężenia tych metali w pożywce oraz czasem uprawy [71, 72]. W liściach i łodygach gorczycy oraz w łodygach kukurydzy oznaczona zawartość platyny stanowiła odpowiednio: 6–32% [69, 70] i 5,1–7,4% [69] jej zawartości w korzeniach. W przypadku traw, życicy trwałej i wielokwiatowej, mniejsze ilości platyny i palladu transportowane były z korzeni do liści, odpowiednio 3,6–16% Pt [70] oraz 0,25–1,1% Pt i 0,03–0,05% Pd [72]. Może to sugerować, że w trawach platynowce adsorbowane są głównie na zewnętrznej powierzchni korzeni, zaś tylko niewielka część jest rzeczywiście metabolizowana i transportowana do liści. Znaczne ilości platyny oznaczone w liściach i łodygach gorczycy oraz duża masa części nadziemnych w stosunku do korzeni może pozwolić na wykorzystanie tej rośliny do bioremediacji gleb zanieczyszczonych platyną.

Wiadomo, że w glebie metale wiązane są z niejednakową siłą, a ich związki charakteryzują się różną rozpuszczalnością, co skutkuje różnicami w stopniu ich pobierania przez rośliny. Zdolność przemieszczania się metali z gleby (pożywki) do roślin opisuje współczynnik bioakumulacji (ang. *bioaccumulation factor*, BF), zdefiniowany jako stosunek stężenia metalu w roślinie do jego stężenia w glebie (lub pożywce) [73]. Na podstawie wartości BF dokonano klasyfikacji większości metali ciężkich pod względem ich przyswajalności biologicznej na: trudno dostępne (Pb,

Cr, Hg; BF = 0,01–0,1), średnio dostępne (Cu, Ni; BF = 0,1–1,0) i łatwo dostępne (Zn, Cd; BF = 1–10).

Współczynniki bioakumulacji platynowców wyznaczone dla gorczycy (*S. alba*) [69, 71], kukurydzy (*Z. mays*) [69], trawy (*L. multiflorum*) [72] oraz ogórka (*Cucumis sativus*) [74], uprawianych hydroponicznie, przyjmowały wysokie wartości (Tab. 1) wskazujące na dużą zdolność pobierania rozpuszczalnych połączeń tych metali przez badane rośliny. Natomiast współczynniki bioakumulacji Pt(II) dla trawy (*Lolium perenne*), uprawianej w glebie po wprowadzeniu rozpuszczalnej soli platyny (1–100 mg [Pt(NH₃)₄](NO₃)₂), świadczą o niskiej dostępności tego metalu, a zatem o decydującym wpływie gleby na biodostępność platynowców i ich przyswajanie przez rośliny [74].

Tabela 1. Współczynniki bioakumulacji platyny i palladu wyznaczone dla roślin uprawianych hydroponicznie i tradycyjnie w glebie

Warunki uprawy	Organizm roślinny	Współczynnik bioakumulacji (BF)		Lit.
		Pt	Pd	
Uprawa hydroponiczna				
3,6 mg/L Pt(II) + 4,4 mg/L Pd(II), 5 dni 8 dni	Trawa, żywiec wielokwiatowa (<i>Lolium multiflorum</i>): liście korzenie liście korzenie	1,47	0,50	72
		575	1486	
		4,61	0,75	
		531	1745	
38,7 mg/L Pt(II) + 21,6 mg/L Pd(II), 5 dni 8 dni	liście korzenie liście korzenie	1,18	0,35	
		169	593	
		1,82	0,39	
		161	753	
500 µg/L Pt(II)	Kukurydza (<i>Zea mays</i>): pędy korzenie	26		69
		443		
500 µg/L Pt(II)	Gorczyca biała (<i>Sinapis alba</i>): liście łodygi korzenie	75,6		69
		95,4		
		842		
50 µg/L Pt(II)	Gorczyca biała (<i>Sinapis alba</i>): liście łodygi korzenie	29,2±0,4		71
		46,4±0,5		
		921,0±5,7		
500 µg/L Pt(II)	liście łodygi korzenie	55,6±4,6		
		61,6±4,5		
		564,7±5,0		
0,504 µg/L Pt(II)	Ogórek (<i>Cucumis sativus</i>): pędy korzenie	0,97		74
		2020		
5,04 µg/L Pt(II)	pędy korzenie	23		
		1728		
50,4 µg/L Pt(II)	pędy korzenie	42		
		2098		

Tabela 1. Ciąg dalszy

Uprawa tradycyjna				
Gleba z dodatkiem 0,504 mg/kg Pt(II) 5,04 mg/kg Pt(II) 50,4 mg/kg Pt(II)	Trawa, życica trwała (<i>Lolium perenne</i>): liście	0,0079 0,0168 0,0320		74
Gleba z pyłem tunelowym: 60 µg/kg Pt	Cebula (<i>Allium cepa</i>): bulwa Rzodkiewka (<i>Raphanus sativus</i>): bulwa Ziemniaki (<i>Solanum tuberosum</i>): lupina bulwa Kukurydza (<i>Zea mays</i>): liście kolby Bób (<i>Vicia faba</i>): łodygi, liście strąki ziarna	0,0067 0,0123 0,0092 0,0048 0,0156 0,0007 0,0108 0,0088 0,0010		75
Gleba z pobocza autostrady: 141 µg/kg Pt i 6,5 µg/kg Pd	Szpinak (<i>Spinacia oleracea</i>) Rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) Facelia (<i>Phacelia tanacetifolia</i>)	0,021 0,012 0,046	0,090 0,120 0,120	73
Gleba z pobocza autostrady: 175 µg/kg Pt i 5,7 µg/kg Pd	Szpinak (<i>Spinacia oleracea</i>) Rzeżucha (<i>Lepidium sativum</i>) Facelia (<i>Phacelia tanacetifolia</i>) Pokrzywa (<i>Urtica dioica</i>)	0,018 0,014 0,045 0,049	0,088 0,088 0,140 0,350	73

BF – stosunek stężenia Pt lub Pd w roślinie do stężenia metalu w pożywce lub glebie.

Platyna wprowadzona do gleby w postaci pyłu tunelowego w niewielkim stopniu (0,02–0,6%) została pobrana przez rośliny użytkowe w czasie jednego cyklu wegetacyjnego [75]. Świadczą o tym współczynniki bioakumulacji wyliczone w oparciu o zawartość platyny w roślinach oraz pyłe tunelowy (Tab. 1).

Współczynniki bioakumulacji platynowców wyznaczone dla roślin użytkowych (szpinaku (*Spinacia oleracea*), rzeżuchy (*Lepidium sativum*), facelii (*Phacelia tanacetifolia*), pokrzywy (*Urtica dioica*)), uprawianych w glebie pobranej z pobocza autostrady, lepiej odzwierciedlają zdolność przyswajania tych metali w warunkach środowiskowych [73]. Wyznaczone BF dla platyny, palladu (Tab. 1) i rodu sytuowały je między metalami trudno a średnio dostępnymi dla roślin. Współczynniki bioakumulacji platyny i rodu były równoważne współczynnikom bioakumulacji miedzi, będącej podstawowym składnikiem pokarmowym, i o rząd wielkości wyższe od współczynników wyznaczonych dla ołowiu. Znacznie większą dostępność platyny niż ołowiu dla sadzonek topoli wykazano również w eksperymencie prowadzonym w uprawie hydroponicznej [68]. Współczynnik bioakumulacji palladu w facelii był równie wysoki jak cynku i przewyższał wartości otrzymane dla platyny i rodu. Wyznaczone współczynniki bioakumulacji układały się w takiej samej kolejności: Pd > Pt ≥ Rh dla wszystkich badanych roślin. Taka kolejność przyswajalności zgadza się z wynikami uzyskanymi przez Brooksa [76], który stwierdził znacznie wyższe stężenie palladu niż platyny w roślinach rosnących na pokładach rud.

Podsumowując przedstawione badania można stwierdzić, że toksyczne działanie platynowców na rośliny w dużej mierze zależy od gatunku rośliny oraz stężenia i rodzaju związków platyny i palladu występujących w pożywce lub glebie. Obliczone współczynniki bioakumulacji wskazują, że rośliny jednoliścienne (trawy, zboża) przyswajają platynowce słabiej niż rośliny dwuliścienne (warzywa). Największe ilości platyny i palladu oznaczano najczęściej w korzeniach, mniejsze w łodygach i liściach, a najmniejsze w częściach generatywnych. Oznacza to, że niezależnie od bariery między glebą a korzeniem, przemieszczanie się metali w roślinach następuje w kolejności: korzenie > pędy > liście > owoce i nasiona.

Wysokie stężenia platyny i palladu oznaczone w roślinach pobranych z pobocza dróg [34] pochodzą głównie z pyłu drogowego, osadzonego na ich powierzchni. Świadczą o tym również wyniki eksperymentu, w którym w roślinach babki zwyczajnej (*Plantago lanceolata*) i mniszka lekarskiego (*Taraxacum officinale*) pobranych z pobocza autostrady, umytych wodą destylowaną, stwierdzono 2-krotnie mniejszą zawartość platynowców niż w roślinach nieumytych [77]. Również zawartość platyny, palladu i rodu w mchach, organizmach pobierających składniki pokarmowe oraz zanieczyszczenia z powietrza i opadów atmosferycznych, była wyższa niż w innych roślinach rosnących na tym samym obszarze [78].

3.1. SPECJACJA W ROŚLINACH

Występowanie platyny i palladu w częściach nadziemnych roślin świadczy o tym, że metale te są częściowo metabolizowane. Obecnie nie wiadomo dokładnie, w postaci jakich związków rośliny transportują oraz wiążą platynowce w swoich tkankach. Nie ulega jednak wątpliwości, że badania takie dostarczyć powinny brakujących informacji na temat biodostępności i transformacji tych metali w roślinach.

W badaniach specjacji metali konieczne jest stosowanie warunków nieingerujących w skład próbki i zachowanie istniejących połączeń składników oraz równowag fizykochemicznych. Dlatego, podczas rozdzielania indywidualów chemicznych, pożądane jest stosowanie łagodnych mediów ekstrahujących (buforów: Tris-HCl pH 8, octan amonu/Tris pH 8 lub wody dejonizowanej) oraz metod wykorzystujących różnice we właściwościach fizycznych badanych połączeń (chromatografia żelowa, chromatografia wykluczania – SEC) [79–81] lub słabe oddziaływania chemiczne (np. słabe jonity) [80].

Badania połączeń platyny powstających w trawie (*L. multiflorum*) uprawianej tradycyjnie z dodatkiem soli $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4](\text{NO}_3)_2$ wykazały, że w 90% platyna związana była w połączenia o małych masach cząsteczkowych (< 1 kDa), natomiast pozostała ilość występowała w połączeniach o masach od 19 do 1000 kDa. W trawie kontrolnej wykryto tylko jedną frakcję platyny o masie cząsteczkowej 180–195 kDa [79]. Analiza frakcji o małych masach cząsteczkowych pozwoliła na przypuszczenie, że platyna może być wiązana z ligandami będącymi częściowo utlenionymi oli-

gocukrami, które mogą pochodzić z hydrolizy pektyn, np. kwasu poligalakturonowego [80]. Dalsze badania z zastosowaniem bezpośredniego połączenia etapu rozdzielania (SEC) detekcją techniką ICP-MS pozwoliły na oznaczenie pierwiastków współwystępujących z platyną, i na tej podstawie – na podjęcie próby określenia charakteru otrzymanych połączeń [81]. Stwierdzono wówczas, że znaczna część pobranej platyny (ok. 90%) występuje w postaci nieorganicznej, a więc niezmetabolizowanej. Prawdopodobnie jest ona magazynowana i przechowywana w tkance sitowej lub drzewnej lub strącona w wakuolach. Pozostała część występuje w postaci różnorodnych połączeń organicznych eluowanych z kolumny w kilku frakcjach. W pierwszej frakcji, oprócz platyny, stwierdzono obecność pierwiastków wskaźnikowych, takich jak siarka i ołów, co sugeruje, że mechanizm wiązania platyny jest podobny do mechanizmu wiązania ołowiu, a więc zachodzi jej detoksykacja przez wiązanie z fitochelatynami. Fitochelatyny to polipeptydy zawierające glutation lub glutamylcysteinowe dipeptydy, które dzięki grupom sulfhydrylowym mają zdolność chelatowania metali ciężkich w sytuacjach narażenia roślin na ich wysokie stężenia. W kolejnej frakcji występowały jednocześnie platyna i wapń, co świadczy o możliwości wiązania platyny z węglowodanami. Większa zawartość wapnia w trawie kontrolnej niż w trawie narażonej na działanie platyny sugeruje wypieranie wapnia przez platynę z kompleksów z grupami karboksylowymi kwasu poligalakturonowego. Podobne wyniki uzyskano podczas hydroponicznej uprawy trawy (*L. multiflorum*) z dodatkiem różnych stężeń platyny i palladu [72], przy czym stwierdzono większą reaktywność palladu niż platyny w stosunku do wypierania jonów wapnia z połączeń z węglowodanami. Liczba i rodzaj połączeń platyny i palladu wykrytych w korzeniach i liściach trawy pozostawały niezmiennie od 1 do 8 dnia eksperymentu. W miarę upływu czasu wzrastała natomiast intensywność rejestrowanych sygnałów, co świadczy o wzroście stężenia metabolizowanych form. Ponadto w ekstraktach korzennych i liściennych większość połączeń występowała przy takich samych czasach retencji, co sugeruje, że połączenia te powstają w korzeniach, a następnie są transportowane do części nadziemnych.

Cykoria (*Cichorium endivia* var. *crispum*) uprawiana z dodatkiem 100 µg Pd/roślinę w ciągu 2 dni pobrała znaczące ilości palladu (8,7 ng/g Pd). Około 40% pobranego metalu znajdowało się w cytozolu, a więc w formie rozpuszczalnej, natomiast pozostała część nie uległa ekstrakcji stosowanym buforem. Pallad występował we frakcji o dużych (ok. 160 kDa) i małych (< 10 kDa) masach cząsteczkowych prawie w jednakowych ilościach (23% i 17%) [82]. W przypadku roślin gorczycy (*S. alba*), uprawianych hydroponicznie, około 50% platyny w częściach nadziemnych i poniżej 30% w korzeniach występowało w postaci rozpuszczalnej. Większe ilości platyny ekstrahowane z surfaktantami (55–65%), enzymami proteolitycznymi (75%) oraz enzymami rozkładającymi polocukry (65%) sugerują możliwość występowania platyny w postaci nierozpuszczalnych w wodzie kompleksów z białkami oraz polocukrami [83]. Natomiast ekstrakcja sekwencyjna tkanek hiacynta wodnego, uprawianego z dodatkiem *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], wykazała, że prawie połowa

platyny (48%) obecnej w liściach i kwiatach stanowiła frakcję nierozpuszczalną w wodzie, związaną głównie z α -celulozą i ligniną, natomiast 16% było ekstrahowane z pronazą, enzymem rozkładającym białka do aminokwasów, co może świadczyć o jej połączeniach z aminokwasami lub proteinami. W przypadku korzeni tylko 30% Pt występowało w postaci nierozpuszczalnej frakcji, związanej z ligniną i celulozą, około 10% Pt było ekstrahowane z pronazą, natomiast pozostałość stanowiły rozpuszczalne w wodzie połączenia o niskich masach cząsteczkowych [84].

Jak widać, doniesienia literaturowe na temat połączeń platyny i palladu występujących w roślinach są bardzo nieliczne i niejednoznaczne. Ze względu na trudności w oznaczaniu bardzo niskich stężeń analitów, w jakich występują one w naturalnie rosnących organizmach, badania prowadzono uprawiając rośliny z dodatkiem rozpuszczalnych soli platynowców o odpowiednio wysokich stężeniach. Z powodu braku odpowiednich substancji wzorcowych, nigdy nie przeprowadzono pełnej identyfikacji analitów występujących w wydzielonych frakcjach. W celu określenia ewentualnej toksyczności połączeń platynowców powstających w roślinach konieczne są zatem dalsze badania.

4. POBIERANIE I AKUMULACJA PLATYNOWCÓW PRZEZ ORGANIZMY WODNE

Jak opisano wcześniej, platynowce osadzone w pobliżu dróg, spływając wraz z deszczem, transportowane są do zbiorników wodnych. Wykazano, że Pt(II) i Pt(IV) są pobierane z wód przez peryfiton, czyli zespoły drobnych organizmów, takich jak glony i grzyby zamieszkujące różne podłoża zanurzone w wodzie [85]. Stopień dostępności platyny zależał od zawartości w wodzie naturalnej materii organicznej i jonów chlorkowych. Peryfiton szybciej pobierał platynę z wody o mniejszej zawartości tych substancji. Szybkość akumulacji badanego metalu nie zależała natomiast od jego stopnia utlenienia. Z kolei szybkość pobierania Pt(II) i Pt(IV) z wody przez sałatę morską (*Ulva lactuca*) była od 3 do 17 razy mniejsza niż szybkość pobierania Pd(II). Po 3 godzinach trwania eksperymentu glony usunęły z wody blisko 90% Pd(II), natomiast Pt(II) i Pt(IV) zostały usunięte w bardzo małym stopniu [86].

Wykazano również, że platynowce zaadsorbowane na cząstkach osadów dennych mogą być pobierane przez zwierzęta bytujące przy dnie, takie jak pospolite skorupiaki i małże. Akumulacja platynowców przez wodne bezkręgowce może spowodować wzrost stężenia tych metali w organizmach znajdujących się na wyższych poziomach łańcucha pokarmowego (ryb, rybożernych ptaków i ssaków). Ważne jest więc zbadanie procesów przyswajania i akumulacji platynowców przez organizmy zwierzęce oraz poznanie ich toksyczności.

W celu oszacowania biodostępności platynowców dla zwierząt wodnych poddawano analizie organizmy pobierane z ich naturalnego biotopu. Ośliczka wodna (*Asellus aquaticus*) występuje w dużych ilościach w większości europejskich syste-

mów słodkowodnych (stojących lub wolno płynących wodach), gdzie pełzając po dnie odżywia się szczątkami roślin. Wysoką liczebność tego skorupiaka można znaleźć w wodach zanieczyszczonych związkami organicznymi lub w wodach dość czystych na obszarach charakteryzujących się wysokim poziomem naturalnie występującej materii organicznej. Podwyższone zawartości platynowców ($155,4 \pm 73,4$ ng/g Pd, $38,0 \pm 34,6$ ng/g Pt i $17,9 \pm 12,2$ ng/g Rh) stwierdzono w ośliczkach pobranych z rzeki Mölndal w Göteborgu (Szwecja) [48]. Wykazano, że skorupiaki pobierały platynowce drogą pokarmową wraz z cząstkami osadów rzecznych. Obecność platynowców zaobserwowano również w małżach, racicznicy zmiennej (*Dreissena polymorpha*), z jeziora Mondsee (Austria) położonego w pobliżu autostrady ($1,0$ ng/g Pd, $0,1-0,5$ ng/g Pt) [87], jak również w rybach z rodziny karpiowatych, brzanie pospolitej (*Barbus barbus*), wyłowionych z rzeki Dunaj w okolicy Budapesztu (Węgry) ($0,3-7,0$ ng/g Pd, $0,1-0,4$ ng/g Pt, $0,1-2,0$ ng/g Rh) [88].

Oprócz badań terenowych przeprowadzono szereg eksperymentów polegających na ekspozycji organizmów hodowanych w laboratorium na działanie rozpuszczalnych soli platynowców, zmielonych katalizatorów, pyłu drogowego i tunelowego oraz osadów dennych. Ocenę stopnia akumulacji danej substancji przez organizmy wodne, analogicznie do organizmów lądowych, prowadzi się wyznaczając współczynnik bioakumulacji. Jest on wyrażany jako stosunek stężenia substancji w organizmie do jej stężenia w wodzie. Współczynniki bioakumulacji uzyskane po 24-godzinnej ekspozycji ośliczek na roztwory standardowe palladu, platyny i rodu wynosiły odpowiednio 150, 85 i 7 [48]. Dowiedziono również, że organizmy te są zdolne do pobierania platynowców z próbek środowiskowych (pył tunelowy i drogowy, osady denne) oraz ze zmielonych katalizatorów samochodowych. Stwierdzono, że stopień akumulacji platynowców rośnie ze wzrostem czasu narażenia organizmu na kontakt z metalami oraz ze wzrostem zawartości tych metali w próbce. Ponadto okazało się, że platyna obecna w osadach dennych jest łatwiej biodostępna niż platyna znajdująca się w pyłe tunelowy. Można więc przypuszczać, że platynowce ulegają w środowisku procesom transformacji powodującym zmiany w ich specjacji, a tym samym biodostępności. Platynowce magazynowane były w skorupkach prawdopodobnie w wyniku ich wiązania z białkami, takimi jak metalotioneiny i hemocyjaniny, lub odkładania w ziarnistościach komórek wątrobotrzustki, czyli zgodnie ze znanymi mechanizmami detoksykacji metali. Większy stopień akumulacji palladu i platyny, w porównaniu z rodem, może wynikać z większego powinowactwa tych metali do białek.

Małże (*D. polymorpha*), wykazujące względnie dużą tolerancję w stosunku do zanieczyszczeń oraz zdolność akumulacji metali ciężkich, okazały się dobrym wskaźnikiem biologicznym (biowskaźnikiem) procesu akumulacji platynowców. Test polegający na umieszczeniu badanych organizmów, na okres 26 tygodni, w wodzie zawierającej pył drogowy wykazał, że współczynniki bioakumulacji metali zależą od obecności w wodzie rozpuszczonej materii organicznej [87]. Małże hodowane w wodzie o dużej zawartości kwasów humusowych i fulwowych akumulowały pal-

lad i rod z pyłu drogowego w większym stopniu ($BF_{Pd} = 1,8$; $BF_{Rh} = 0,2$) niż małże hodowane w wodzie wodociągowej ($BF_{Pd} = 0,8$; $BF_{Rh} = 0,04$). W przeciwieństwie do palladu i rodu, stopień akumulacji platyny nie zależał od obecności w wodzie materii organicznej ($BF_{Pt} = 0,06$). Spośród platynowców najłatwiej przyswajalny okazał się pallad, mimo że jego zawartość w kurzu drogowym była około 8 razy niższa niż platyny oraz porównywalna z zawartością rodu. Ponadto jego współczynnik bioakumulacji był od 3 do 10 razy większy niż ołowiu, antymonu i żelaza, i tylko ok. 4 razy mniejszy niż miedzi. O dwa rzędy wielkości większe współczynniki bioakumulacji platynowców uzyskano eksponując racicznice na materiał katalizatora, mimo że czas narażenia był o 8 tygodni krótszy [89]. Szybkość pobierania badanych metali przez małże zmieniała się w zależności od rodzaju wody, w której umieszczono organizmy, i wynosiła 11 ng/g/dzień palladu, 10 ng/g/dzień platyny i 5 ng/g/dzień rodu w wodzie wodociągowej oraz 91 ng/g/dzień palladu, 64 ng/g/dzień platyny i 27 ng/g/dzień rodu w wodzie humusowej. Wyniki testów przeprowadzonych na małżach wskazują, że obecność w wodzie naturalnej materii organicznej zwiększa biodostępność platynowców zawartych w pyłe drogowym i materiale katalizatora wskutek zwiększenia ich rozpuszczalności w wodzie. Najłatwiej przyswajalną formą platynowców dla małży (*D. polymorpha*) okazały się rozpuszczalne sole tych metali. Małże narażone na działanie roztworów związków Pt(IV), Pd(II) i Rh(III) o stężeniu 500 µg/L pobierały platynowce z większą szybkością niż organizmy eksponowane na materiał katalizatora. Szybkość pobierania platyny wynosiła 2,05 µg/g/dzień i była 4 i 8,5 razy większa niż szybkość pobierania palladu i rodu [90].

Sprzeczne są doniesienia na temat dostępności platyny na różnych stopniach utlenienia. Skorupiaki (*A. aquaticus*) narażone przez 4 dni na działanie rozpuszczalnych soli platyny w większym stopniu akumulowały Pt(IV) niż Pt(II) [91], natomiast w małżach hodowanych w wodach zawierających jony Pt(II), po 6 tygodniach trwania eksperymentu, zaobserwowano 10-krotnie wyższą zawartość platyny, w porównaniu do organizmów poddanych działaniu jonów Pt(IV) [92].

Zdolność przyswajania platynowców przez ryby badano m.in. na przykładzie węgorza europejskiego (*Anguilla anguilla*) [93]. Organizmy te narażone na działanie roztworów soli Pt(IV) i Rh(III) wykazywały podwyższone zawartości platynowców w wątrobie, nerkach, jelicie, żółci i skrzelach. Po 6 tygodniach ekspozycji średnia zawartość badanych metali w zależności od rodzaju tkanki zmieniała się od 68 do 840 ng/g w przypadku platyny oraz od 35 do 155 ng/g w przypadku rodu. Największe stężenie platyny oznaczono w jelicie ($BF = 9$), rodu w wątrobie ($BF = 1,2$), natomiast nie stwierdzono obecności platynowców w próbkach mięśni i krwi. Wykazano również, że węgorze europejskie są zdolne do bioakumulacji palladu stanowiącego zanieczyszczenie pyłu drogowego [94]. Pallad oznaczono w tkankach wątroby ($0,18 \pm 0,05$ ng/g), natomiast nie wykryto go w nerkach eksponowanych organizmów. Sures i Siddall [95] stwierdzili, że metale obecne w wodach wnika do organizmu ryb przede wszystkim przez skrzela i przenoszone są do różnych części ciała przez krew. W wątrobie zbierają się w kanalikach żółciowych i wraz z żółcią przedostają się do jelita, skąd albo zostają usunięte z kalem, albo w postaci

kompleksów z kwasami żółciowymi dyfundują do krwi przez ścianę jelita i powracają do wątroby w wyniku krążenia jelitowo-wątrobowego. Obecność platynowców w skrzelach, wątrobie, jelicie i żółci badanych ryb wskazuje na to, iż podlegają one takiemu samemu mechanizmowi pobierania i akumulacji jak inne metale.

W kolejnych badaniach, dotyczących wpływu różnych substancji kompleksujących na wartość współczynnika podziału n-oktanol/woda, określającego zdolność substancji do przechodzenia przez bariery lipofilowe, potwierdzono, że platynowce mają zdolność tworzenia połączeń kompleksowych ze związkami wchodzącymi w skład żółci pobranej od węgorzy. Stwierdzono, że rozpuszczalność palladu, platyny i rodu w fazie oktanolowej, symulującej błonę lipidową, wzrasta w obecności EDTA, substancji humusowych, a zwłaszcza żółci, natomiast zmniejsza się w obecności L-metioniny i tiomocznika. W obecności żółci 0,4% Rh, 16% Pd oraz 26% Pt uległo ekstrakcji z fazy wodnej do fazy oktanolowej [96].

Zmielony materiał katalizatora wykorzystano jako źródło platyny i rodu dla węgorza europejskiego, zainfekowanego w sposób naturalny pasożytami jelitowymi (*Paratenuisentis ambiguus*) [97]. Po sześciotygodniowej ekspozycji platynowce nie uległy akumulacji w tkankach gospodarza, natomiast znaczne zawartości badanych metali stwierdzono w pasożytach ($3,11 \pm 2,42$ ng/g Pt, $20,9 \pm 15,4$ ng/g Rh). Stężenia platyny i rodu w kolcogłowach (*P. ambiguus*) były odpowiednio 50 i 1600 razy wyższe od stężenia tych metali w wodzie, do której dodano materiał katalizatora. Również Sures i wsp. [88] wykazali, że kolcogłów (*Pomphorhynchus laevis*) pasożytujący w jelitach brzany pospolitej narażonej na materiał katalizatora akumuluje platynowce w większym stopniu niż jego gospodarz. Po 4 tygodniach ekspozycji stężenia platyny, palladu i rodu w pasożytach były odpowiednio 350, 700 i 1120 razy większe, w porównaniu z grupą kontrolną. Wydaje się, że ze względu na rozpowszechnienie pasożytów u wielu gatunków ryb oraz zdolność przyswajania przez nie badanych metali (BF = 4000 dla Pt i Rh oraz BF = 4800 dla Pd) mogą być one wykorzystywane jako organizmy wskaźnikowe, pozwalające na określenie stopnia biodostępności platynowców w ekosystemach wodnych.

Bezpośrednie porównanie współczynników bioakumulacji platyny, palladu i rodu, uzyskanych dla różnych organizmów wodnych, nie jest możliwe ze względu na różnice w warunkach eksperymentalnych oraz sposobach wyznaczania stężenia platynowców w medium otaczającym badane zwierzęta (Tab. 2).

Tabela 2. Współczynniki bioakumulacji platyny i palladu wyznaczone dla organizmów zwierzęcych

Warunki ekspozycji	Organizm zwierzęcy	Współczynnik bioakumulacji (BF)		Lit.
		Pt	Pd	
Roztwory standardowe Pt, Pd (5–500 µg/L) 24 godziny	Ośliczka wodna (<i>Asellus aquaticus</i>)	85	150	48
Roztwory standardowe Pt(IV), Pd(II) (500 µg/L) 10 tygodni		370–1390	70–880	90
Kurz drogowy (29±1 ng/g Pd, 244±44 ng/g Pt) 26 tygodni	Racicznica zmienna (<i>Dreissena polymorpha</i>)	0,06 ^a	0,8–1,8 ^a	87
Materiał katalizatora (0,04–2,66 mg/g Pd, 0,04–2,41 mg/g Pt) 6, 9, 18 tygodni		3,2–18,0 ^b	2,7–23,9 ^b	89
Roztwór standardowy Pt(IV) (170 µg/L) 6 tygodni	Węgorz europejski (<i>Anguilla anguilla</i>)	0,08–4,3 (skrzela) 5,5–6,7 (żółć) 1,3–2,6 (wątroba) 5,2–6,2 (nerki) 0,9–8,7 (jelito)		93
Materiał katalizatora (1,21±0,03 mg/g Pt) 6 tygodni	Pasożyt jelitowy ryba (<i>Paratenuisensis ambiguus</i>)	50 ^c		97
Materiał katalizatora (2,36 mg/g Pd, 2,36 mg/g Pt) 28 dni	Pasożyt jelitowy ryba (<i>Pomphorhynchus laevis</i>)	4000 ^d	4800 ^d	88

BF – stosunek stężenia Pt lub Pd w organizmie zwierzęcym do stężenia metalu w wodzie.

^a Stężenie metalu w wodzie wyznaczone ze wzoru $C_{\text{woda}} = C_{\text{kurz}} \times 1 \text{ kg}/10\text{L}$.

^b Stężenie metalu w wodzie wyznaczone ze wzoru $C_{\text{woda}} = C_{\text{katalizator}} \times 1 \text{ g}/10\text{L}$.

^c Stężenie metalu w wodzie oznaczono metodą ICP-MS.

^d Stężenie metalu w wodzie wyznaczone uwzględniając jego rozpuszczalność (0,03%).

Mozna jednak stwierdzić, że w większości przypadków pallad jest znacznie lepiej przyswajalny od platyny i rodu. Wiedza na temat bioprzyswajalności platynowców nie dostarcza jednak informacji o ich wpływie na organizmy żywe. Wskaźnikami zmian zachodzących w organizmach narażonych na działanie zanieczyszczeń środowiskowych są biomarkery. Jednym z biomarkerów wykorzystywanych w biomonitoringu środowiskowym są białka szoku termicznego (ang. *heat shock protein*, hsp), których wzmożona synteza jest odpowiedzią organizmu na stres wywołany ekspozycją na metale ciężkie (np. Cd i Pb), ksenobiotyki, stres oksydacyjny lub cieplny. Zadaniem tych białek jest naprawa uszkodzeń komórkowych spowodowanych przez czynnik stresogenny. Singer i wsp. [90] zaobserwowali podwyższoną zawartość białek szoku termicznego o masie cząsteczkowej 70 kDa (hsp70) w małżach (*D. polymorpha*) narażonych na działanie roztworów związków Pt(IV), Pd(II), Rh(III), Pb(II) i Cd(II) o stężeniu 500 µg/L. Szybkość pobierania platyny przez racicznice wynosiła 2,05 µg/g/dzień i była 3,7, 4,0 i 8,5 razy większa niż szybkość pobierania ołowiu, palladu i rodu oraz 4,0 razy mniejsza niż szybkość pobierania

kadmu. Poziomy progowe metali w tkankach małży wywołujące indukcję syntezy hsp70 zostały osiągnięte po 3–4 tygodniach ekspozycji i wynosiły: 3 $\mu\text{g/g}$ Rh, 6–12 $\mu\text{g/g}$ Pd, 10–11 $\mu\text{g/g}$ Pb, 43–58 $\mu\text{g/g}$ Pt oraz 91–173 $\mu\text{g/g}$ Cd. Najsilniejszym czynnikiem stresogennym dla małży (*D. polymorpha*) spośród badanych metali okazał się pallad, gdyż spowodował najszybszy i największy (25-krotny) wzrost zawartości hsp70 w tkankach eksponowanych organizmów, w porównaniu z grupą kontrolną. W przypadku pozostałych platynowców zaobserwowano 19-krotnie wyższy poziom hsp70, natomiast najsłabszą indukcję syntezy białek stwierdzono w tkankach małży narażonych na ołów i kadm (12- i 6-krotny wzrost). Ponieważ białka szoku termicznego są biomarkerem mało specyficznym (indukcję syntezy tych białek wywołują różnorodne związki chemiczne oraz podwyższona temperatura) można je wykorzystać jako wskaźnik narażenia organizmów na platynowce jedynie pod warunkiem, że ekspozycja na te metale prowadzona będzie w laboratorium w ściśle określonych warunkach, w celu wykluczenia wpływu innych czynników. Inne badania przeprowadzone przez tych samych autorów [98] wykazały, że ekspozycja małży (*D. polymorpha*) na roztwory palladu i platyny wywołuje u tych organizmów indukcję syntezy metalotionein, czyli białek wiążących metale. Wzmoczona synteza tych białek jest mechanizmem ochronnym komórek ograniczającym biodostępność szkodliwych metali. Spośród platynowców największy wzrost (37-krotny) zawartości metalotionein wywołał pallad. Powyższe badania dowodzą, że platynowce, a szczególnie pallad traktowane są przez komórki organizmu jako metale toksyczne, uruchomiane są więc procesy detoksykacyjne.

W celu określenia toksyczności ostrej związków platyny skorupiaki (*A. aquaticus*) [91] oraz pierścienice (*Lumbriculus variegatus*) [99] poddano 96-godzinnej ekspozycji na roztwory standardowe tego metalu. W przypadku skorupiaków, stężenie letalne – LC_{50} , czyli stężenie substancji w wodzie, które powoduje śmierć 50% populacji, wyniosło 0,1 mg/L. Dla pierścienic LC_{50} zmieniało się od 0,397 mg/L, dla organizmów hodowanych w wodzie destylowanej, do 30 mg/L, dla organizmów hodowanych w wodzie o dużej twardości.

5. BIOAKUMULACJA PLATYNOWCÓW W ORGANIZMACH ZWIERZĄT LĄDOWYCH I LUDZI

W literaturze znajdują się również doniesienia na temat biodostępności platynowców dla drapieżnych ptaków znajdujących się na szczycie łańcucha pokarmowego. Ptaki mogą pobierać platynowce wskutek konsumpcji organizmów z niższych poziomów troficznych, zawierających skumulowaną ilość metalu, a także w wyniku inhalacji aerozoli atmosferycznych. Stężenia platynowców we krwi, piórach, jajach, wątrobie, nerkach i odchodach dziko żyjących sokołów wędrownych (*Falco peregrinus*), pochodzących z północnej i południowej Szwecji, wynosiły od 0,1 do 3,4 ng/g w przypadku platyny, od 0,3 do 1,3 ng/g w przypadku palladu oraz od 0,3 do 0,7 ng/g w przypadku rodu [100]. Niskie zawartości platynowców w wątrobie

(0,2 ng/g Pt, 0,7 ng/g Pd, 0,5 ng/g Rh) i nerkach (0,2 ng/g Pt, 0,3 ng/g Pd, 0,3 ng/g Rh) wskazują, iż metale te nie uległy magazynowaniu wskutek wiązania z białkami, takimi jak metalotioneiny. Nie zaobserwowano znaczących różnic w zawartościach platynowców we krwi, jajach i odchodach sokołów pochodzących z północnej Szwecji, znajdujących się na szczycie wodnego łańcucha pokarmowego, i sokołów z południowej Szwecji, znajdujących się na szczycie lądowego łańcucha pokarmowego. Stężenia platynowców w jajach sokołów wędrownych oznaczone w latach 1992–2000 nie różniły się znacząco od stężeń oznaczonych w latach 1974–1977, czyli przed wprowadzeniem w Szwecji katalizatorów samochodowych. Platynowce oznaczono również w piórach sokołów norweskich (*Falco rusticolus*), zamieszkujących obszary górskie w północnej Szwecji, oddalone od terenów zurbanizowanych, w piórach krogulców (*Accipiter nisus*) występujących na terenach miejskich i wiejskich (Göteborg, Szwecja), a także w piórach pardw mszarnych (*Lagopus lagopus*) i wróbli (*Passer domesticus*), będących głównym źródłem pokarmu dla sokołów norweskich i krogulców [101]. Okazało się, że pióra badanych ptaków zawierały głównie zewnętrznie osadzone cząstki platynowców, pochodzące z pyłów atmosferycznych i drogowych. Wyjątek stanowił pallad, który odkładał się również wewnątrz piór. Mimo że badane ptaki pochodziły z różnych środowisk, nie stwierdzono znaczących różnic w stężeniach platynowców w ich piórach. Wynika to prawdopodobnie z szerokiego rozpowszechnienia pojazdów samochodowych oraz przemieszczania się ptaków na dalekie odległości w poszukiwaniu pożywienia.

W badaniach dotyczących biodostępności platyny dla szczurów jako źródło metalu wykorzystano substancję modelową przypominającą cząstki emitowane z katalizatorów samochodowych (cząstki tlenku glinu o średnicy $\leq 5 \mu\text{m}$, zawierające osadzone cząstki platyny) [102]. Substancję modelową podawano szczurom dotchawicznie w postaci zawiesiny w roztworze soli fizjologicznej oraz przez inhalację w formie aerozolu. Obecność platyny stwierdzono we krwi, moczu, odchodach oraz we wszystkich ważnych organach. Badania wykazały, że po 1 dniu od podania dotchawicznego biodostępność platyny, wyznaczona jako procentowa zawartość metalu w moczu i wszystkich organach, z wyjątkiem płuc, wyniosła $\sim 4\%$, po 7 dniach wzrosła do 11–12%, a po 28 i 90 dniach osiągała wartości między $\sim 9\%$ i $\sim 16\%$. Biodostępność platyny dostarczanej w wyniku inhalacji okazała się większa niż po podaniu dotchawicznym i po 90 dniach wynosiła, w zależności od podanej dawki, od 23 do 31%.

Do chwili obecnej mało wiadomo na temat połączeń platynowców powstających w tkankach ekspozowanych organizmów. W tkankach i płynach ustrojowych szczurów ponad 90% biodostępnej platyny występuje w postaci połączeń z białkami (80–800 kDa), a pozostała część to frakcja niskocząsteczkowa. Wiadomo też, że we krwi około 68–80% platyny wiąże się z hemoglobina, natomiast w osoczu 70–80% platyny stanowią połączenia z proteinami. Badania przeprowadzone *in vitro* oraz *in vivo* wykazały, że metalotioneiny wykazują znaczne powinowactwo do Pt(II), Pt(IV), Pd(II) i Rh(III). W przypadku Pt(II) było ono 10^7 i 30 razy większe niż cynku i kadmu [92].

Niewiele badań poświęcono oznaczaniu zawartości platyny i palladu pochodzenia antropogenicznego w organizmie człowieka. Większość opublikowanych prac dotyczy badania wpływu na ludzi prostych soli nieorganicznych, środków farmakologicznych zawierających platynowce lub narażenia zawodowego. Dane dotyczące stężenia platynowców w tkankach zdrowych ludzi pojawiają się zwykle w pracach analitycznych i służą wykazaniu użyteczności opracowanych metod oznaczania do analizy materiałów biologicznych [np. 103]. Uważa się, że emisja platynowców z katalizatorów samochodowych na obecnym poziomie nie zagraża życiu i zdrowiu człowieka [104], warto jednak przytoczyć kilka przykładów badań ilustrujących wzrastające narażenie ludzi na działanie tych metali. Stężenie palladu i platyny w moczu dzieci w wieku 6–10 lat ($n = 30$), mieszkających w aglomeracji miejskiej, zawierało się odpowiednio w przedziałach 5,2–14,8 ng/L i $< 0,6$ –1,4 ng/L [105]. Następne badania wykonane na grupie 310 dzieci zamieszkujących centrum Rzymu i obszary podmiejskie również wykazały, że zawartość palladu w moczu jest wyższa niż platyny i wynosi odpowiednio $9,6 \pm 5,1$ ng/L i $1,1 \pm 1,1$ ng/L [106] (Tab. 3).

Tabela 3. Zawartość platyny i palladu w moczu ludzi

Grupa	Pt [ng/L]	Pd [ng/L]	Lit.
Dzieci 6–10 lat, zamieszkujące obszary miejskie i podmiejskie, $n = 30$	$< 0,6$ –11,9 1,02 ^a	$< 5,0$ –21,0 9,5 ^a	105
Dzieci 6–10 lat, zamieszkujące obszary miejskie i podmiejskie, $n = 310$	$< 0,03$ –9,5 0,9 ^a $1,1 \pm 1,1$ ^b $0,9 \pm 1,1$ ng/g kreatyniny ^b	0,1–28,9 8,8 ^a $9,6 \pm 5,1$ ^b $7,5 \pm 5,4$ ng/g kreatyniny ^b	106
Osoby w wieku 23–88 lat: małe natężenie ruchu, $n = 100$ duże natężenie ruchu, $n = 157$	0,24–3,11 0,52 ^a 0,49–8,13 1,70 ^a	1,99–17,2 6,02 ^a 0,71–17,0 7,79 ^a	109
Policjanci: urzędnicy, $n = 49$ służba drogowa, $n = 94$	0,2–15,29 $4,56 \pm 2,84$ ^b 0,28–13,67 $4,45 \pm 2,42$ ^b		108
Personel aptek szpitalnych, pracownicy naukowcy, mechanicy, kierowcy autobusów i taksówek, $n = 178$	< 20 ng/g kreatyniny 4,3 ng/g kreatyniny ^a $6,5 \pm 6,4$ ng/g kreatyniny ^b		107
Grupa kontrolna, $n = 17$ Pracownicy drogowi, $n = 15$	0,3–2,2 0,1–4,4	13,1–48,3 9,5–133,7	111
Grupa kontrolna, $n = 44$ Narażeni zawodowo ^c , $n = 10$		< 10 –28 < 10 –2500	110
Grupa kontrolna, $n = 5$ Narażeni zawodowo pracownicy zakładów recyklingu katalizatorów, $n = 7$		$< 2,5$ 200–1000	112
Grupa kontrolna, $n = 6$ Narażeni zawodowo ^c , $n = 12$		< 36 < 80 –3400	113

n – liczba badanych osób, a – mediana, b – wartość średnia \pm odchylenie standardowe, c – brak danych dotyczących źródła narażenia

Stwierdzono też, że zawartość palladu i rodu zależy od miejsca zamieszkania dzieci i jest wyższa w aglomeracji miejskiej, natomiast zależności takiej nie obserwowano w przypadku platyny [106]. Znacznie wyższe stężenia platyny oznaczono w moczu osób dorosłych – mieszkańców Monachium [107] oraz policjantów z Rzymu [108]. Brak było istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupą kontrolną policjantów (pracowników komisariatów) a policjantami służb drogowych, czyli grupą potencjalnie bardziej narażoną na działanie spalin samochodowych [108]. Natomiast zaobserwowano różnice w zawartości platyny w moczu dorosłych zamieszkujących centrum Rzymu i obszary podmiejskie [109]. Stężenie palladu w moczu, inaczej niż u dzieci, nie różniło się w grupie osób zamieszkujących obszary podmiejskie oraz w grupie osób mieszkających na obszarach zurbanizowanych [109], ale było nieco większe u mężczyzn niż u kobiet [109]. Wyniki badań (Tab. 3) pokazują, że w materiałach biologicznych występuje wyższe stężenie palladu niż platyny, co sugeruje jego wyższą mobilność. Zaobserwowano również wzrastające stężenie platyny w moczu wraz z wiekiem badanych osób, co wskazuje, że konsekwencją ekspozycji organizmu na różne źródła emisji jest akumulacja tego metalu [108]. Znacznie wyższe stężenia metali szlachetnych występują u ludzi narażonych zawodowo [110, 111, 112, 113]. Zagadnienia związane z oddziaływaniem platynowców na organizm ludzki szerzej opisano w pracach przeglądowych [30, 31, 92, 104, 114].

PODSUMOWANIE

W ostatnim dwudziestoleciu znacznie zwiększyła się zawartość platynowców w różnych elementach środowiska przyrodniczego, zarówno na obszarach zurbanizowanych, jak i na obszarach oddalonych od antropogenicznych źródeł zanieczyszczenia. Pomimo, że artykuł poświęcony jest głównie dwóm pierwiastkom: platynie i palladowi, pamiętać należy o rodzie, który wraz z cząstkami katalizatorów samochodowych również emitowany jest do środowiska. Przez długi czas uważano, że platynowce, jako metale szlachetne, nie ulegają w przyrodzie żadnym przemianom, nie są więc dostępne dla organizmów ludzkich. Najnowsze badania dowodzą jednak, że pierwiastki te ulegają przekształceniom pod wpływem różnych czynników środowiska (deszcz, zasolenie, obecność materii organicznej) i mogą być pobierane przez organizmy żywe: rośliny i zwierzęta. Wyznaczone współczynniki bioakumulacji platyny, palladu i rodu lokują je pomiędzy pierwiastkami trudno a średnio dostępnymi. Metale te są pobierane i akumulowane w organizmach na podobnym poziomie jak miedź, i znacznie łatwiej niż ołów. Najbardziej mobilnym oraz biodostępnym pierwiastkiem z grupy platynowców jest pallad. Zarówno w przypadku organizmów roślinnych, jak i zwierzęcych zaobserwowano, że podwyższona zawartość palladu powoduje uruchomienie na poziomie komórkowym mechanizmów detoksykacyjnych przez zwiększenie produkcji fitochelatyn (rośliny) lub metalotionein (zwierzęta wodne). Wyższe stężenia palladu niż platyny w moczu i we krwi ludzkiej świadczyć mogą o tym, że metal ten pobierany jest łatwiej również przez

organizm człowieka. Stężenia rodu w moczu ludzi (1,95–54,0 ng/L) są porównywalne ze stężeniem palladu, ale wyższe niż platyny [103]. Generalnie wzrosło ryzyko narażenia populacji zamieszkujących obszary zurbanizowane na stałe działanie niskich dawek tych metali.

Biorąc pod uwagę właściwości katalityczne, działanie toksyczne i alergizujące oraz dobrą biodostępność platynowców (szczególnie palladu), połączone z gwałtownie wzrastającą ich zawartością w otoczeniu człowieka, konieczne wydaje się systematyczne kontrolowanie ich emisji oraz stężenia w materiałach środowiskowych. Zasadne wydaje się również prowadzenie dalszych badań zmierzających do uzyskania pełnej informacji na temat, jakie są drogi i ewentualne skutki oddziaływania platynowców pochodzenia antropogennego na człowieka. W świetle powyższej dyskusji doniesień literaturowych Czytelnikowi pozostawiamy odpowiedź na sformułowane w tytule pytanie – czy metale szlachetne są rzeczywiście szlachetne?

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.C. Van Loon, R.R. Barefoot, *Determination of the precious metals*, John Wiley&Sons, 1991.
- [2] C.R.M. Rao, G.S. Redi, *Trends Anal. Chem.*, 2000, **19**, 565.
- [3] Johnson Matthey webpage: <http://www.matthey.com/divisions/precious>
- [4] M.G. Sawicki, J. Golimowski, *Analityka*, 2000, **1**, 23.
- [5] R.R. Barefoot, *Environ. Sci. Technol.*, 1997, **31**, 309.
- [6] L. Bencs, K. Ravindra, R. van Grieken, *Spectrochim. Acta*, 2003, **58B**, 1723.
- [7] B. Godlewska-Żyłkiewicz, *Microchim. Acta*, 2004, **147**, 189.
- [8] F. Zereini, F. Alt (red.), *Anthropogenic platinum group element emissions. Their impact on man and environment*, Springer-Verlag 2000.
- [9] F. Zereini, F. Alt (red.), *Palladium emissions in the environment. Analytical methods, environmental assessment and health effects*, Springer-Verlag 2005.
- [10] S.V.M. Maharaj, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **380**, 84.
- [11] R. Boyd, H. Niskavaara, E. Kontas, V. Chekushin, V. Pavlov, M. Often, C.J. Reimann, *J. Geochem. Explor.*, 1997, **58**, 283.
- [12] E. Helmers, M. Schwarzer, M. Schuster, *ESPR- Environ. Sci. Pollut. Res.*, 1998, **5**, 44.
- [13] K. Boch, M. Schuster, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Palladium emissions in the environment. Analytical methods, environmental assessment and health effects*, Springer-Verlag 2005, s. 191.
- [14] D. Schwesig, A. Rübél, K. Furtmann, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Palladium emissions in the environment. Analytical methods, environmental assessment and health effects*, Springer-Verlag 2005, s. 307.
- [15] K. Kümmerer, E. Helmers, P. Hubner, G. Mascart, M. Milandri, F. Reinthaler, M. Zwakenberg, *Sci. Total Environ.*, 1999, **225**, 155.
- [16] K. Lenz, S. Hann, G. Koellensperger, Z. Stefanka, G. Stingeder, N. Weissenbacher, S.N. Mahnik, M. Fuerhacker, *Sci. Total Environ.*, 2005, **345**, 141.
- [17] S. Hann, G. Koellensperger, Z. Stefanka, G. Stingeder, M. Fuerhacker, R.M. Mader, W. Buchberger, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2003, **18**, 1391.
- [18] Prawo o ruchu drogowym z dn. 20.VI.1997 art. 66 ust 5 (Dz.U. Nr 98 poz 602). Rozporządzenie ministra transportu i gospodarki morskiej w sprawie warunków technicznych pojazdów oraz zakresu ich niezbędnego wyposażenia z dn 1.IV.1999, Dz.U.Nr 44 poz. 432.

- [19] M.A. Palacios, M. Moldovan, M.M. Gomez, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Anthropogenic platinum group element emissions. Their impact on man and environment*, Springer-Verlag 2000, s. 3.
- [20] M.B. Gomez, M.M. Gomez, J.L. Sanchez, R. Fernandez, M.A. Palacios, *Sci. Total Environ.*, 2001, **269**, 131.
- [21] K. Kanitsar, G. Köllensperger, S. Hann, A. Limbeck, H. Puxbaum, G. Stinger, J. Anal. At. Spectrom., 2003, **18**, 239.
- [22] F. Zereini, C. Wiseman, F. Alt, J. Messerschmidt, J. Müller, H. Urban, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**, 1996.
- [23] F. Zereini, F. Alt, J. Messerschmidt, A. von Bohlen, K. Liebl, W. Püttmann, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 1686.
- [24] M. Moldovan, S. Rauch, G.M. Morrison, M. Gomez, M.A. Palacios, *Surf. Interface Anal.*, 2003, **35**, 354.
- [25] S. Artelt, H. Kock, H. König, K. Levsen, G. Rosner, *Atmos. Environ.*, 1999, **33**, 3559.
- [26] M. Moldovan, M. Gomez, M.A. Palacios, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 1163.
- [27] S. Rauch, G.M. Morrison, M. Moldovan, *Sci. Total Environ.*, 2002, **286**, 243.
- [28] M. Moldovan, M.M. Gomez-Gomez, M.A. Palacios-Corvillo, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Palladium emissions in the environment. Analytical methods, environmental assessment and health effects*, Springer-Verlag 2005, s. 25.
- [29] C. Barbante, A. Veyseyre, Ch. Ferrari, K. van de Velde, Ch. Morel, G. Capodaglio, P. Cescon, G. Scarponi, C. Boutron, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**, 835.
- [30] B. Leśniewska, K. Pyrżyńska, B. Godlewska-Żyłkiewicz, *Wiad. Chem.*, 2001, **55**, 331.
- [31] K. Ravindra, L. Bencs, R. Van Grieken, *Sci. Total Environ.*, 2004, **318**, 1.
- [32] M.A. Palacios, M.M. Gomez, M. Moldovan, G. Morrison, S. Rauch, C. McLeod, R. Ma, J. Laserna, P. Lucena, S. Caroli, A. Alimonti, F. Petrucci, B. Bocca, P. Schramel, S. Lustig, M. Zischka, U. Wass, B. Stenbom, M. Luna, J.C. Saenz, J. Santamaria, J.M. Torrens, *Sci. Total Environ.*, 2000, **257**, 1.
- [33] J. Schäfer, J.D. Eckhardt, Z.A. Berner, D. Stüben, *Environ. Sci. Technol.*, 1999, **33**, 3166.
- [34] E. Helmers, N. Mergel, Fresenius *J. Anal. Chem.*, 1998, **362**, 522.
- [35] S. Rauch, H.F. Hemond, C. Barbante, M. Owari, G.M. Morrison, B. Peucker-Ehrenbrink, U. Wass, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, **39**, 8156.
- [36] B. A. Leśniewska, B. Godlewska-Żyłkiewicz, B. Bocca, S. Caimi, S. Caroli, A. Hulanicki, *Sci. Total Environ.*, 2004, **321**, 93.
- [37] B. Godlewska-Żyłkiewicz, M. Kozłowska, *Anal. Chim. Acta*, 2005, **539**, 61.
- [38] B.A. Leśniewska, B. Godlewska-Żyłkiewicz, A. Rusczyńska, E. Bulska, A. Hulanicki, *Anal. Chim. Acta*, 2006, **564**, 236.
- [39] J. Chwastowska, W. Skwara, E. Sterlińska, L. Pszonicki, *Talanta*, 2004, **64**, 224.
- [40] O. Morton, H. Puchelt, E. Hernandez, E. Lounejeva, *J. Geochem. Explor.*, 2001, **72**, 223.
- [41] C. P.R. Morceli, A.M.G. Figueiredo, J.E.S. Sarkis, J. Enzweiler, M. Kakazu, J.B. Sigolo, *Sci. Total Environ.*, 2005, **345**, 81.
- [42] M.E. Kalandar, S. Rauch, G.M. Morrison, K. Andam, *J. Environ. Monit.*, 2003, **5**, 91.
- [43] D. Laschka, T. Striebel, J. Daub, M. Nachtwey, *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.*, 1996, **8**, 124.
- [44] E. de Vos, S.J. Edwards, I. McDonald, D.S. Wray, P.J. Carey, *Appl. Geochem.*, 2002, **17**, 1115.
- [45] E. Helmers, K. Kümmerer, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Anthropogenic platinum group element emissions. Their impact on man and environment*, Springer-Verlag 2000, s. 15.
- [46] H. Obata, T. Yoshida, H. Ogawa, *Anal. Chim. Acta*, 2006, **580**, 32.
- [47] M. Moldovan, M.M. Gomez, M.A. Palacios, *Anal. Chim. Acta*, 2003, **478**, 209.
- [48] M. Moldovan, S. Rauch, M. Gomez, M. A. Palacios, G. M. Morrison, *Wat. Res.*, 2001, **35**, 4175.
- [49] S. Rauch, H.F. Hemond, B. Peucker-Ehrenbrink, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 396.

- [50] S. Rauch, H.F. Hemond, B. Peucker-Ehrenbrink, *J. Environ. Monit.*, 2004, **6**, 335.
- [51] C. Barbante, M. Schwikowski, T. Döring, H. W. Gäggeler, U. Schotterer, L. Tobler, K. van de Velde, C. Ferrari, G. Cozzi, A. Turetta, K. Rosman, M. Bolshov, G. Capodaglio, P. Cescon, C. Boutron, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 4085.
- [52] K. van de Velde, C. Barbante, G. Cozzi, I. Moret, T. Bellomi, Ch. Ferrari, C. Boutron, *Atmos. Environ.*, 2000, **34**, 3117.
- [53] C. Barbante, G. Cozzi, G. Capodaglio, K. van de Velde, Ch. Ferrari, A. Veysseyre, C. Boutron, G. Scarponi, P. Cescon, *Anal. Chem.*, 1999, **71**, 4125.
- [54] M. Moldovan, S. Veschambre, D. Amouroux, B. Benech, O.F.X. Donard, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 66.
- [55] H.P. König, R.F. Hertel, W. Koch, G. Rosner, *Atmos. Environ.*, 1992, **26A**, 741.
- [56] S. Artelt, H. Kock, D. Nachtigall, U. Heinrich, *Toxicol. Lett.*, 1998, **96-97**, 163.
- [57] F. Alt, A. Bambauer, K. Hoppstock, B. Mergler, G. Tölg, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1993, **346**, 693.
- [58] K.E. Jarvis, S.J. Parry, J.M. Piper, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**, 1031.
- [59] A. Limbeck, *Anal. Chim. Acta*, 2006, **575**, 114.
- [60] S. Lustig, S. Zang, B. Michalke, P. Schramel, W. Beck, *Sci. Total Environ.*, 1996, **188**, 195.
- [61] S. Lustig, S. Zang, W. Beck, P. Schramel, *Mikrochim. Acta*, 1998, **129**, 189.
- [62] J.F.W. Bowles, A.P. Gize, *Mineral. Mag.*, 2005, **69**, 687.
- [63] S.R. Dahlheimer, C.R. Neal, J.B. Fein, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 870.
- [64] J.R. Lloyd, *FEMS Microbiol. Rev.*, 2003, **27**, 411.
- [65] A. Turner, *Mar. Chem.*, 2007, **103**, 103.
- [66] A. Turner, M. Crussell, G.E. Millward, A. Cobelo-Garcia, A.S. Fisher, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, **40**, 1524.
- [67] M.E. Farago, P.J. Parsons, *Environ. Technol. Lett.*, 1986, **7**, 147.
- [68] H.J. Ballach, F. Alt, J. Messerschmidt, R. Witting, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Anthropogenic platinum group element emissions. Their impact on man and environment*, Springer-Verlag 2000, s. 105.
- [69] J. Kowalska, M. Asztemborska, G. Bystrzejewska-Piotrowska, *Nukleonika*, 2004, **49** (S1), S31.
- [70] J. Kowalska, S. Huszał, M.G. Sawicki, M. Asztemborska, E. Stryjewska, E. Szalacha, J. Golimowski, S.W. Gawroński, *Electroanal.*, 2004, **16**, 1266.
- [71] M. Hawieńczyk, G. Bystrzejewska-Piotrowska, J. Kowalska, M. Asztemborska, *Nukleonika*, 2005, **50** (S1), S59.
- [72] B.A. Leśniewska, J. Messerschmidt, N. Jakubowski, A. Hulanicki, *Sci. Total Environ.*, 2004, **322**, 95.
- [73] J. Schäfer, D. Hannker, J.D. Eckhardt, D. Stüben, *Sci. Total Environ.*, 1998, **215**, 59.
- [74] D. Verstraete, J. Riondato, J. Vercauteren, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, M. Verloo, *Sci. Total Environ.*, 1998, **218**, 153.
- [75] S. Lustig, S. Zang, B. Michalke, P. Schramel, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1997, **357**, 1157.
- [76] R.R. Brooks (red.), *Noble metals and biological systems. Their role in medicine, mineral explorations and the environment*, Boca RatonCRC Press, 1992.
- [77] R. Djingova, P. Kovacheva, G. Wagner, B. Markert, *Sci. Total Environ.*, 2003, **308**, 235.
- [78] M. Niemelä, P. Perämäki, J. Piispanen, J. Poikolinen, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **521**, 137.
- [79] J. Messerschmidt, F. Alt, G. Tölg, *Anal. Chim. Acta*, 1994, **291**, 161.
- [80] F. Alt, J. Messerschmidt, G. Weber, *Anal. Chim. Acta*, 1998, **359**, 65.
- [81] D. Kluppel, N. Jakubowski, J. Messerschmidt, D. Stuewer, D. Klockow, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1998, **13**, 255.

- [82] F. Alt, G. Weber, J. Messerschmidt, A. van Bohlen, B. Kastenholz, K. Guenther, *Anal. Lett.*, 2002, **35**, 1349.
- [83] M. Asztemborska, materiały konferencyjne Seminar for Young Scientists „New achievements in Separation Sciences”, Gdańsk-Sobieszewo 2005, s. 31.
- [84] M.E. Farago, P.J. Parsons, *Environ. Tech. Lett.*, 1985, **6**, 165.
- [85] S. Rauch, M. Paulsson, M. Wilewska, H. Blanck, G. M. Morrison, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2004, **47**, 290.
- [86] J.M. Cosden, J. Schijf, R.H. Byrne, *Environ. Sci. Technol.*, 2003, **37**, 555.
- [87] S. Zimmermann, F. Alt, J. Messerschmidt, A. von Bohlen, H. Taraschewski, B. Sures, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2002, **21**, 2713.
- [88] B. Sures, F. Thielen, F. Baska, J. Messerschmidt, A. von Bohlen, *Environ. Res.*, 2005, **98**, 83.
- [89] S. Zimmermann, J. Messerschmidt, A. von Bohlen, B. Sures, *Environ. Res.*, 2005, **98**, 203.
- [90] C. Singer, S. Zimmermann, B. Sures, *Aquat. Toxicol.*, 2005, **75**, 65.
- [91] S. Rauch, G.M. Morrison, *Sci. Total Environ.*, 1999, **235**, 261.
- [92] S. Zimmermann, B. Sures, *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 2004, **11**, 194.
- [93] S. Zimmermann, U. Baumannnn, H. Taraschewski, B. Sures, *Environ. Pollut.*, 2004, **127**, 195.
- [94] B. Sures, S. Zimmermann, J. Messerschmidt, A. von Bohlen, F. Alt, *Environ. Pollut.*, 2001, **113**, 341.
- [95] B. Sures, R. Siddall, *Exp. Parasitol.* 1999, **93**, 66.
- [96] S. Zimmermann, C. M. Menzel, D. Stüben, H. Taraschewski, B. Sures, *Environ. Pollut.*, 2003, **124**, 1.
- [97] B. Sures, S. Zimmermann, C. Sonntag, D. Stüben, H. Taraschewski, *Environ. Pollut.*, 2003, **122**, 401.
- [98] B. Sures, C. Singer, S. Zimmermann, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Palladium emissions in the environment. Analytical methods, environmental assessment and health effects*, Springer-Verlag 2005, s. 489.
- [99] I. Veltz, F. Arzac, S. Biagianti-Risbourg, F. Habets, H. Lechenault, G. Vernet, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1996, **31**, 63.
- [100] K.H. Ek, S. Rauch, G.M. Morrison, P. Lindberg, *Sci. Total Environ.*, 2004, **334-335**, 149.
- [101] K.H. Jensen, S. Rauch, G.M. Morrison, P. Lindberg, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2002, **42**, 338.
- [102] S. Artelt, O. Creutzenberg, H. Kock, K. Levsen, D. Nachtigall, U. Heinrich, T. Rühle, R. Schlögl, *Sci. Total Environ.*, 1999, **228**, 219.
- [103] S. Hann, G. Koellensperger, K. Kanitsar, G. Stingeder, M. Brunner, B. Erovic, M. Müller, C. Reiter, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, **376**, 198.
- [104] R. Merget, G. Rosner, *Sci. Total Environ.*, 2001, **270**, 165.
- [105] M. Krachler, A. Alimonti, F. Petrucci, K.J. Irgolic, F. Forastiere, S. Caroli, *Anal. Chim. Acta*, 1998, **363**, 1.
- [106] S. Caroli, A. Alimonti, F. Petrucci, B. Bocca, M. Krachler, F. Forastiere, M.T. Sacerdote, S. Mallone, *Spectrochim. Acta Part B*, 2001, **56**, 1241.
- [107] R. Schierl, *Microchem. J.*, 2000, **67**, 245.
- [108] I. Iavicoli, B. Bocca, F. Petrucci, O. Senofonte, G. Carelli, A. Alimonti, S. Caroli, *Occup. Environ. Med.*, 2004, **61**, 636.
- [109] B. Bocca, A. Alimonti, A. Cristaudo, E. Cristallini, F. Petrucci, S. Caroli, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **512**, 19.
- [110] G. Philippeit, J. Angerer, *J. Chromatogr. B*, 2001, **760**, 237.
- [111] J. Begerow, L. Dunemann, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Anthropogenic platinum group element emissions. Their impact on man and environment*, Springer-Verlag 2000, s. 227.

- [112] J. Messerschmidt, A. von Bohlen, F. Alt, R. Klockenkämper, *Analyst*, 2000, **125**, 397.
- [113] M. Schuster, M. Schwarzer, G. Risse, [w:] F. Zereini, F. Alt (red.), *Emissionen von Platinmetallen – Analytik, Umwelt und Gesundheitsrelevanz*, Springer, Berlin, 1999, s. 67.
- [114] J. Kielhorn, Ch. Melber, D. Keller, I. Mangelsdorf, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2002, **205**, 417.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 marca 2007

CHEMICZNO-ENZYMATYCZNA STRATEGIA KONSTRUKCJI PROLEKÓW NUKLEOZYDOWYCH

CHEMICAL-ENZYMATIC STRATEGY FOR DESIGN OF NUCLEOSIDE PRODRUGS

**Renata Kaczmarek¹, Katarzyna Kulik¹,
Janina Baraniak^{*1,2}**

¹ *Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk,
Zakład Chemii Bioorganicznej,
ul. Sienkiewicza 112, 90-362 Łódź*

² *Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Instytut Chemii i Ochrony Środowiska,
Akademia im. Jana Długosza,
Al. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa
e-mail: baraniak@bio.cbmm.lodz.pl*

Abstract

Wstęp

1. Pronukleotydy o strukturze fosfodiestrów
2. Pronukleotydy o strukturze fosfortriestrów
 - 2.1. Chemicznie labilne grupy maskujące – cyklosaligenianowe pochodne
 - 2.2. Enzymatycznie labilne grupy maskujące
 - 2.2.1. Bis(pivaloiloksymetylowe) pochodne
 - 2.2.2. Bis(p-acyloksybenzylowe) pochodne
 - 2.2.3. Bis(S-acetylo-2-tioetylowe) pochodne i bis(ditioetylowe) pochodne
3. Pronukleotydy o strukturze amidofosforanów
 - 3.1. Amidofosfodiestry pochodne nukleozydów
 - 3.2. Amidofosfomonoestry pochodne nukleozydów
 - 3.3. Amidotiofosfomonoestry i amidoditiofosfomonoestry pochodne nukleozydów
4. Pronukleotydy o strukturze borowodorofosforanów

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Renata Kaczmarek jest absolwentką Wydziału Chemii Politechniki Łódzkiej (1995). Jest asystentem w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN w Łodzi, gdzie pracuje od 1996 roku. Stopień naukowy doktora uzyskała w 2006 roku. Współautorka 13 publikacji.

Główny obszar działalności naukowej: synteza biologicznie aktywnych fosforylowanych i tiofosforylowanych pochodnych amin, amidów i alkoholi.

Mgr Katarzyna Kulik ukończyła Wydział Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w 2005 roku i w tym samym roku rozpoczęła pracę w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN w Łodzi. Jej zainteresowania naukowe dotyczą poszukiwania modyfikacji nukleozydowych leków o działaniu przeciwnowotworowym i przeciwwirusowym, mających na celu zwiększenie transportu dkomórkowego tych leków.

Dr hab. Janina Baraniak po ukończeniu studiów na Wydziale Chemii Politechniki Łódzkiej rozpoczęła pracę w CBMM PAN w Łodzi pod kierunkiem Prof. Wojciecha Steca, gdzie w 1986 roku uzyskała stopień naukowy doktora [staż naukowy w Zespole Prof. P. Frey'a (Department of Biochemistry, Institute for Enzyme Research, University of Wisconsin, Madison, USA)] a w 2005 roku stopień doktora habilitowanego.

Głównym przedmiotem jej zainteresowań naukowych jest chemia modyfikowanych nukleozydów i nukleotydów. Prowadzone badania są skoncentrowane nad syntezą związków o potencjalnych właściwościach terapeutycznych, o istotnym znaczeniu poznawczym, nakierowanym na badania mechanistyczne procesów biochemicznych. Jest współautorką 53 publikacji. Od 2006 roku pracuje również w Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie.

ABSTRACT

Several nucleoside analogues have found successful application as antiviral and anticancer agents. Their mode of action differs, but in the most general terms they have been developed as inhibitors or competitors of natural 2'-deoxynucleosides in the process of their conversion to the corresponding nucleoside-5'-triphosphates. As such, they can be incorporated into a growing viral DNA strand by a DNA polymerase resulting in chain termination. In cancer therapy, modified nucleosides, after being phosphorylated to the corresponding monophosphates, block DNA biosynthesis by deactivating nucleoside synthases. Hence biological activity of nucleoside analogues in most cases depends on the intracellular phosphorylation by viral and/or cellular kinases to their respective mono-, di-, and triphosphate derivatives. Among the three successive activating phosphorylation steps the first one has fundamental importance as the rate-limiting step. Several different enzymes can perform this initial phosphorylation, depending on the nature of the aglycone. Also, the presence and activity of the intracellular enzymes necessary for the activation of nucleoside analogues are highly dependent on the host species, the cell type, and the stage in the cell cycle. Moreover, in many cases, nucleoside analogues are poor substrates for the cellular kinases needed for their activation. For all these reasons, intracellular nucleoside monophosphate (NMP) delivery has been considered for overcoming the first phosphorylation step.

Unfortunately, NMPs themselves cannot be used as potential chemotherapeutic agents. Owing to their high polarity, these compounds are not able to penetrate cellular membrane or the blood-brain barrier easily. Therefore, in order to reduce the phosphate negative charge and enable the modified nucleotide to enter a cell, many nucleotides modified on the phosphate moiety by so-called masking group have been synthesized.

A suitable nucleotide prodrug (so-called pronucleotide) has to fulfill two requirements: i) it has to be lipophilic enough for passive diffusion of the membrane and the blood-brain barrier; ii) it should be able to deliver the nucleoside by chemical or enzymatic hydrolysis leaving a non-toxic masking group.

Many strategies using various protecting groups for the phosphate moiety have been developed to achieve this goal. The majority of strategies for unmasking pronucleotides that have been examined to date have involved substrate-nonspecific enzymes to remove one or more groups that are attached to the 5' MP moiety. Carboxyesterases (CEs) have attracted considerable attention, since they include bis(pivaloyloxymethyl) [(bis(POM))] and *S*-acyl-2-thioethyl (SATE) moieties which are initially unmasked by CE-mediated cleavage. A combination of aryl ester and amino acid phosphoramidate groups as a particular class of enzyme-labile protecting groups was developed for the delivery of antiviral nucleoside prodrugs. An endogenous phosphoramidase was responsible and necessary for the biological activity of those compounds in living cells.

On the other side almost all approaches based on chemical hydrolysis reported so far were unable to deliver the nucleotide selectively except the cycloSal approach.

This review will predominantly concentrate on the different approaches to the design of nucleotide prodrugs.

Keywords: prodrug, pronucleotide, nucleoside analogues, antiviral activity, anticancer activity, masking groups

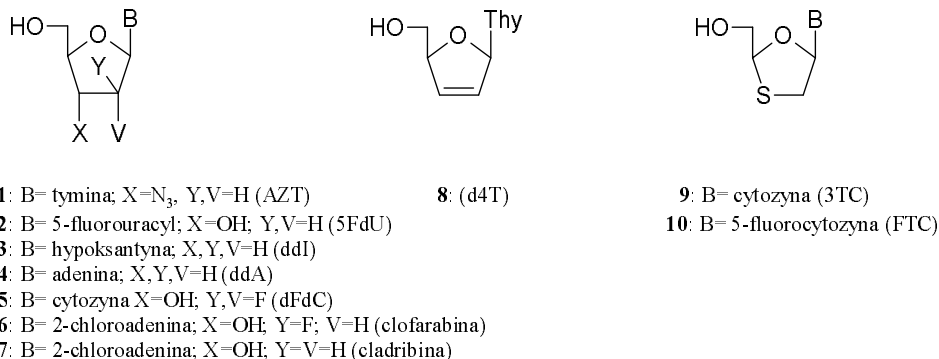
Słowa kluczowe: prolek, pronukleotyd, analogi nukleozydów, aktywność przeciwwirusowa, aktywność przeciwnowotworowa, grupy maskujące

WYKAZ SKRÓTÓW

3TC	2',3'-dideoksy-3'-tacytydyna
5FdU	5-fluoro-2'-deoksyurydyna
Ara-A	1- β -D-arabinofuranozyloadenozyna
Ara-CMP	monofosforan cytarabiny
AZT	3'-azydo-2',3'-dideoksytymidyna
AZTMP	monofosforan azydotymidyny
AZTTP	trójfosforan azydotymidyny
CEM	komórki ostrej białaczki limfoblastycznej
CEM/TK ⁻	komórki ostrej białaczki limfoblastycznej z deficytem kinazy tymidynowej
CEM/TK ⁺	komórki ostrej białaczki limfoblastycznej z nadmiarem kinazy tymidynowej
CF ₃ CO ₂ H	kwask trójfluorooctowy
CH ₃ CN	acetonitryl
cladrybina	2-chloro-2'-deoksyadenozyna
cytarabina	1- β -D-arabinofuranozylocytozyna
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]-undecen-7
ddA	2',3'-dideoksyadenozyna
ddC	2',3'-dideoksytydyna
ddI	2',3'-dideoksyinozyna
ddU	2',3'-dideoksyurydyna
ddUMP	monofosforan dideoksyurydyny
d4T	2',3'-dideoksy-2',3'-didehydrotymidyna
EL-4	chłoniak myszy
FdUMP	monofosforan 5-fluorodeoksyurydyny
FLT	3-fluoro-2',3'-dideoksytymidyna
FTC	5-fluoro-3'-tacytydyna
gemcytabina	2'-deoksy-2',2'-difluorocytydyna
L1210	białaczka limfoblastyczna, mysia linia komórkowa
MCF-7	ludzkie komórki raka piersi
MeOH	metanol
MT-4	ludzkie T-limfocyty
NDP	difosforan deoksynukleozydu
NMP	monofosforan deoksynukleozydu
NTP	trójfosforan deoksynukleozydu
P388	linia komórkowa mysiej białaczki limfoblastycznej
PBMCs	jednojądrzaste komórki krwi obwodowej
ROH	nukleozyd

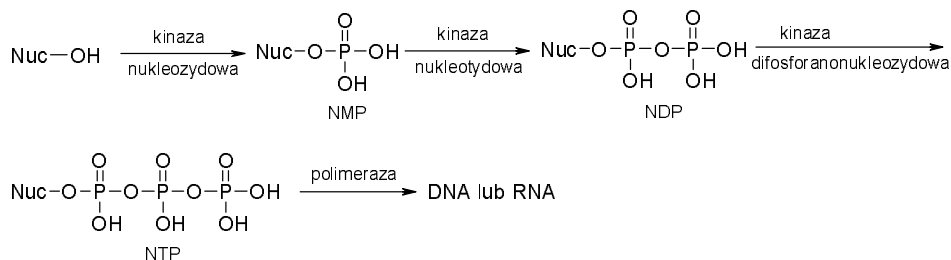
WSTĘP

Analogi nukleozydów purynowych i pirymidynowych, takie jak AZT (1) [1], 5FdU (2) [1], ddI (3) [2], ddA (4) [3], gemcytabina (5) [4], clofarabina (6) [5], cladrybina (7) [6], d4T (8) [1], 3TC (9) [7], FTC (10) [8] stanowią ważną grupę związków o działaniu przeciwwirusowym i przeciwnowotworowym (Rys. 1).



Rysunek 1. Analogi nukleozydów purynowych i pirymidynowych

Naturalne endogenne nukleozydy uzyskują aktywność biologiczną po przekształceniu w odpowiednie NMP, NDP i następnie NTP i wbudowaniu w rosnący łańcuch DNA. Pierwszy etap fosforylacji prowadzący do utworzenia NMP jest zwykle katalizowany przez kinazy nukleozydowe kodowane w komórkach gospodarza czy wirusa infekującego komórki gospodarza, zaś konwersja nukleozymonofosforanów do odpowiednich di- i trójfosforanów odbywa się przy udziale nukleotydylowych i nukleozymodifosforylowych kinaz (Schemat 1) [9].



Schemat 1. Enzymatyczna aktywacja nukleozydów

Analogi nukleozydów są pobierane przez komórki dzięki aktywności białek pełniących funkcje transportowe dla tych molekuł, i po pokonaniu bariery błony komórkowej, ulegają – podobnie jak endogenne nukleozydy – trójstopniowemu procesowi fosforylacji, tworząc odpowiednie 5'-trójfosforany.

Istnieje szereg ograniczeń bezpośredniego użycia analogów nukleozydów jako leków przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych, między innymi pojawianie się oporności na działanie, wynikające z obniżonej aktywności białek transportujących [10] lub niedostatecznej aktywności kinazy deoksycytydynamowej i tymidynamowej [11].

Modyfikacja pierścienia cukrowego przez zastąpienie atomu węgla w pozycji 2' lub 3' innym heteroatomem tylko nieznacznie wpływa na proces enzymatycznej fosforylacji analogów nukleozydów. Stąd też, mogą one być przekształcane w odpowiednie NMP i następnie, z udziałem polimeraz, wbudowane w rosnący „wirusowy” łańcuch DNA, w wyniku czego następuje terminacja elongacji tego łańcucha [9, 12, 13], spowodowana brakiem funkcji 3'-hydroksylowej.

Analogi nukleozydów mogą również działać jako inhibitory wirusowej odwrotnej transkryptazy (np. HIV-1) [9, 12, 13], mogą też zakłócać proces enzymatycznej syntezy kwasów nukleinowych [14].

Jednakże aktywność biologiczna w serii nukleozydów z tą samą modyfikacją części cukrowej różni się znacznie w obrębie nukleozasad, ponieważ związki te z różną wydajnością są przekształcane w odpowiednie NTP. Spośród trzech kolejnych procesów fosforylacji, pierwszy etap odgrywa kluczową rolę, gdyż katalizujące ten proces kinazy nukleozydowe wykazują znaczną specyficzność substratową, zależną od typu aglikonu.

Fakt, że niektóre nukleozydy, np. ddU, nie wykazują aktywności przeciwwirusowej, wynika wyłącznie z tego, że nie są one enzymatycznie przekształcane w odpowiednie NMP [15]. Ponadto, obecność i aktywność kinaz nukleozydowych zależy od gatunku gospodarza, rodzaju komórek i fazy cyklu komórkowego. Stąd też, o szybkości całego procesu fosforylacji modyfikowanych nukleozydów decyduje pierwszy etap, ponieważ kolejne etapy prowadzące do NDP i NTP w mniejszym stopniu zależą od katalizujących je kinaz.

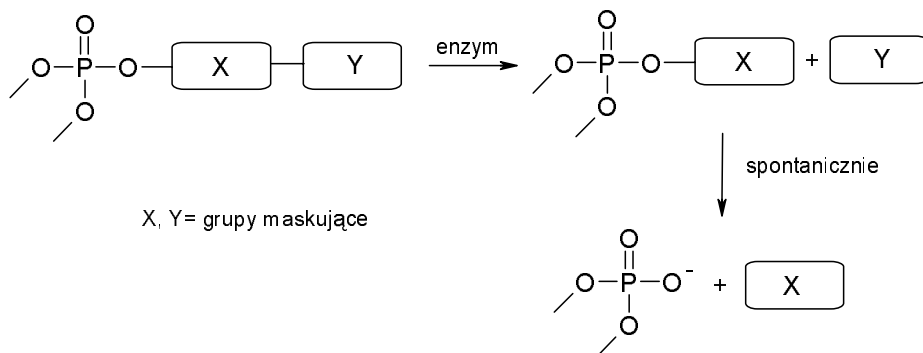
W celu uniknięcia wyżej wspomnianych trudności, aktualne strategie badawcze, mające na celu poszukiwanie bardziej aktywnych i efektywnych leków przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych, skupiają się na otrzymaniu tzw. *proleków nukleozydowych*, które wykorzystują alternatywne mechanizmy transportu dokomórkowego oraz metabolizmu wewnątrzkomórkowego [16].

U podstaw jednej ze strategii konstruowania *proleków nukleozydowych* leży wyeliminowanie etapu decydującego o szybkości procesu enzymatycznej fosforylacji (pierwszy etap) i podawanie dokomórkowo tych związków w postaci monofosforanów. Niestety, monofosforany jako silnie kwasowe związki (pK_a 1–2) w warunkach fizjologicznych (pH 7,0–7,4) występują jako aniony, co utrudnia ich przenikanie przez ujemnie naładowaną lipidową błonę komórkową. Jednakże grupa fosforanowa może ulegać funkcjonalizacji drogą przyłączenia lipofilowych nośników, umożliwiających transport dokomórkowy. Tak zmodyfikowane nukleotydy są nazywane *pronukleotydami* [17].

Pronukleotydy, po podaniu doustnym, w płynach ustrojowych powinny wykazywać znaczną stabilność i odporność na enzymy metaboliczne [18], a po przejściu przez błony komórkowe na drodze biernej dyfuzji, lipofilowe nośniki, nazywane często grupami maskującymi, powinny być usuwane na drodze chemicznej lub enzymatycznej hydrolizy, uwalniając odpowiedni NMP, który będzie wywoływał pożądany efekt farmakologiczny [19]. Istotnym warunkiem takiej strategii jest, aby produkty uboczne powstające w wyniku hydrolizy grup maskujących nie były toksyczne.

Generalnie, grupa maskująca może składać się z jednego bądź dwóch komponentów. W pierwszym przypadku, po dotarciu pronukleotydu do komórki następuje hydroliza grupy maskującej, powodująca uwolnienie aktywnego związku. Natomiast pronukleotyd, zawierający dwuskładnikową grupę maskującą, w pierwszym etapie jest aktywowany chemicznie lub enzymatycznie przez uwolnienie jednej grupy maskującej. Efektem tej reakcji jest spontaniczne rozerwanie wiązania lek-druża grupa maskująca i wydzielenie już aktywnego leku, który może działać specyficznie w konkretnym miejscu organizmu (Schemat 2) [20].

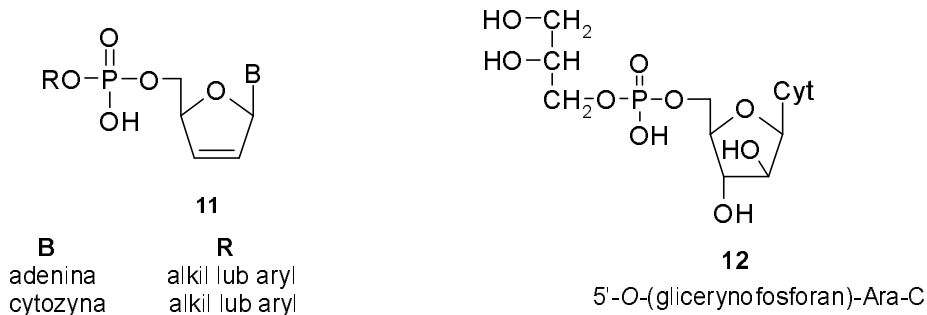
Pronukleotydy mogą zawierać jedną bądź dwie grupy maskujące i wtedy odpowiednio posiadają strukturę fosfodiesterów lub fosfotriesterów.



Schemat 2. Aktywacja pronukleotydów z dwuskładnikową grupą maskującą

1. PRONUKLEOTYDY O STRUKTURZE FOSFODIESTRÓW

Pronukleotydy o strukturze fosfodiesterów są związkami posiadającymi ładunek ujemny, stąd też nasuwało się pytanie, czy będą one w stanie przenikać przez błony komórkowe. W takim przypadku zasadniczą rolę powinna odgrywać natura podstawnika R (Rys. 2); im jest on bardziej lipofilowy, tym otrzymany związek powinien lepiej wnikać do komórek [21].

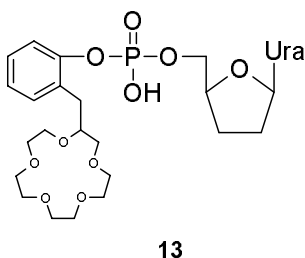


Rysunek 2. Pronukleotydy o strukturze fosfodiestrów

Pierwszymi przedstawicielami tej klasy pronukleotydów były związki **11**, w których jako nośniki lipofilowe wykorzystano estry alkilowe i aryłowe. W grupie tych związków jedynie pochodne glicerolu (**12**, Rys. 2), zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*, charakteryzowały się cytotoksycznością porównywalną z Ara-CMP w odniesieniu do komórek białaczki L1210 [21a], a w badaniach *in vivo* względem białaczki mysiej P388 [22].

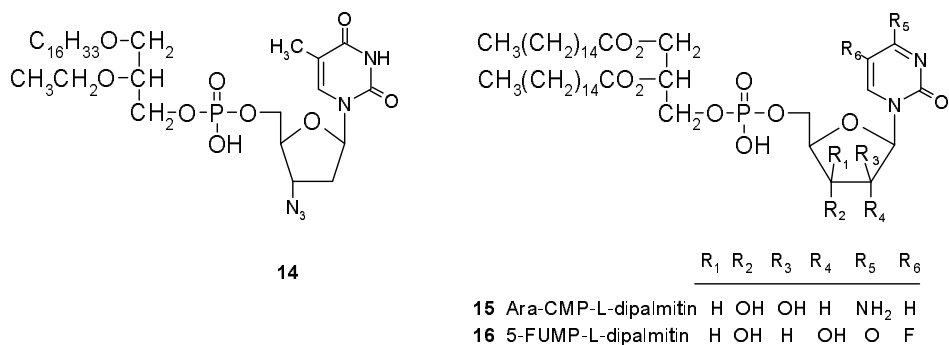
Odrębną klasę pronukleotydów stanowiły koniugaty, w których jako grupy maskujące zostały wykorzystane steroidy [23]. W przypadku koniugatów zawierających resztę 7- β -hydroksycholesterolu, pochodne FLT w badaniach *in vitro* wykazywały cytotoksyczną aktywność względem mysiej białaczki EL-4 [24], zaś pochodne AZT były aktywne w odniesieniu do wirusa HIV [25].

Morin i współpracownicy [26] zaproponowali interesującą klasę pronukleotydów, w których wiązanie fosfodiestrowe jest utworzone z wykorzystaniem pochodnej eteru koronowego jako lipofilowej grupy maskującej. Otrzymane 5'-fosfodiestry, pochodne AZT i ddU, z racji posiadanego ładunku ujemnego, wykazywały charakter hydrofilowy. Jednakże po asocjacji z kationem metalu, prawdopodobnie, tworzą one lipofilowe pary jonowe, mogące przenikać przez błonę komórkową i ulegać następczej hydrolizie do AZTMP lub ddUMP. Przeprowadzone badania *in vitro* wykazały 11-krotne zwiększenie przeciwwirusowej aktywności związku **13** (Rys. 3), w stosunku do ddU w zainfekowanych wirusem HIV-1 komórkach CEM-SS, co sugeruje, że aktywną formą leku jest zakładany ddUMP. Przeciwnie, koniugat AZT i eteru koronowego był 14-krotnie mniej aktywny niż AZT.



Rysunek 3. Koniugat eteru koronowego-[15c5] z ddUMP

Kolejną grupę pronukleotydów o strukturze fosfodiestrów stanowią koniugaty nukleotydów z glicerolipidami, mające za zadanie ułatwienie transportu nukleotydów do tkanek zdolnych absorbować lipidy, takich jak makrofagi, w których gromadzą się wirusy HIV [27]. Rysunek 4 przedstawia przykładowo fosfatydylo-AZT (**14**) oraz dipalmitylfosfatydytowe pochodne Ara-C (**15**) i 5-FU (**16**). W badaniach *in vitro*, przeprowadzonych na kilku liniach komórkowych, związek **14** był inhibitorem odwrotnej transkryptazy wirusa HIV [27b], co może oznaczać, że w pierwszej kolejności zachodziła przy udziale fosfolipazy A hydroliza reszty kwasu tłuszczowego, a następnie fosfodiesteraza degradowała glicero-3-fosforo-5'-AZT do AZT i AZTMP.



Rysunek 4. Glicerolipidofosfodiestry nukleozydów

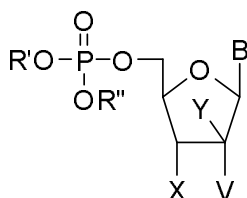
2. PRONUKLEOTYDY O STRUKTURZE FOSFOTRIESTRÓW

Wykorzystanie *pronukleotydów* o strukturze fosfotriestrów jest najczęściej rozpatrywaną możliwością wprowadzania do komórek nukleozydo-5'-monofosforanów. Jednakże fosfotriestry w komórce w pierwszym etapie powinny być przekształcone w odpowiednie fosfodiestry, a te z kolei w NMP.

Chociaż triestry pochodne kwasu fosforowego, zawierające arylowe i alkilowe podstawniki o charakterze lipofilowym, łatwo wnikają do komórek, to nie mogą one być enzymatycznie przeprowadzane w odpowiednie diestry, gdyż nie jest znana endogenna aktywność fosfotriesterazowa. Z drugiej strony, ze względu na swoją stabilność, w niewielkim stopniu ulegają one wewnątrzkomórkowej hydrolizie chemicznej. Z tego powodu w grupie pronukleotydów pochodnych triestrów fosforowych najczęściej syntezowane są związki z biolabilnymi grupami maskującymi. Tak zaprojektowane stabilne związki, po wniknięciu do komórki w reakcji katalizowanej enzymatycznie, powinny uwalniać biolabilną grupę z utworzeniem pochodnej ulegającej spontanicznej hydrolizie do diestru fosforowego.

2.1. CHEMICZNIE LABILNE GRUPY MASKUJĄCE – CYKLOSALIGENIANOWE POCHODNE

Brak aktywności przeciwwirusowej prostych triestrów alkilowych pochodnych AZT (**17a**), ddC (**17b**), Ara-C (**17c**), Ara-A (**17d**) (Rys. 5) [28] był prawdopodobnie spowodowany odpornością na hydrolizę chemiczną i enzymatyczną diestrów powstałych w wyniku ataku cząsteczki wody na atom fosforu. Aktywność *in vitro* diarylofosforylowych pochodnych AZT (**18**) zależała od natury aryłowego podstawnika (Rys. 5) [29].



- 17a:** B= tymina; X=N₃; Y=V=H; R', R''= grupy alkilowe
17b: B= cytozyna; X=Y=V=H; R', R'' = grupy alkilowe
17c: B= cytozyna; X=Y=OH; V=H; R', R''= grupy alkilowe
17d: B= adenina; X=Y=OH; V=H; R', R''= grupy alkilowe
18: B= tymina; X=N₃; Y=V=H; R', R''= grupy aryłowe

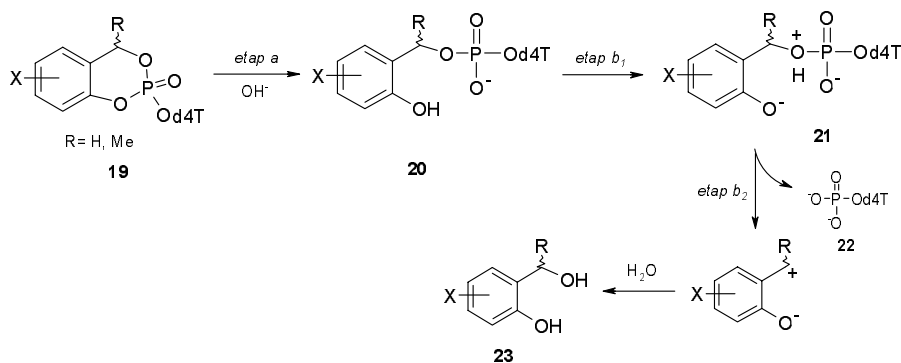
Rysunek 5. Pronukleotydy o strukturze fosfortriestrów

Związki, w których pierścienie fenyłowe zawierały podstawniki elektroakceptorowe (*p*-NO₂, -CN), wykazywały większą aktywność niż niepodstawione analogi, gdyż łatwiej ulegały wewnątrzkomórkowej hydrolizie do odpowiednich 5'-monofosforanów.

Spośród fosfortriestrów z grupami maskującymi usuwanymi chemicznie, na uwagę zasługują zaprojektowane przez Meiera cyklosaligenianowe (cycloSal) pochodne [30]. Jest to, jak do tej pory, jedyna grupa pronukleotydydów rozszczepiana w komórkach do odpowiednich nukleotydydów na drodze prostej i selektywnej hydrolizy chemicznej. W cząsteczce tych związków występują dwa różne wiązania fosfoestrowe: benzyłowe i fenyłowe (Schemat 3).

Generalnie, nukleotydy o strukturze triestrów, zawierające proste bis(fenyłowe) lub bis(benzyłowe) podstawniki, nie są rozpatrywane jako pronukleotydy, gdyż tworzące się w pierwszym etapie chemicznej hydrolizy naładowane diestry kwasu fosforowego są wyjątkowo odporne na dalszą hydrolizę. Jednakże istotną rolę w metabolizmie triestrów odgrywa natura podstawników obecnych w pierścieniu aromatycznym. Podstawniki elektroakceptorowe w bis(fenyłowych) estrach powodują ich szybką hydrolizę, podczas gdy szybkiemu rozszczepieniu do diestru ulegają bis(benzyłowe) estry z podstawnikami elektronodonorowymi. Kombinacja tych dwóch typów wiązań estrowych w opartej o alkohol salicyłowy bifunkcyjnej, cyk-

licznej grupie maskującej stanowi istotę pronukleotydów zaprojektowanych przez zespół Meiera, będących z chemicznego punktu widzenia cyklicznymi fosforanami. Wprowadzenie trzech różnych wiązań estrowych (fenylowego, benzyloвого i alkiłowego dla wiązania nukleozydu) prowadzi do skutecznego ich zróżnicowania w procesach hydrolizy. Mechanizm generowania nukleozydo-5'-monofosforanu z cycloSal-fosfortriestrów d4T (**19**) jest przedstawiony na Schemacie 3.



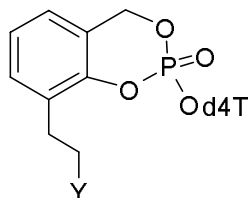
Schemat 3. Mechanizm generowania nukleozydo-5'-monofosforanu z cycloSal-fosfortriestrów

Nukleofilowy atak anionu hydroksylowego na atom fosforu w triestrze **19** prowadzi do rozerwania fenolanowego wiązania (lepsza grupa opuszczająca) i utworzenia 2-hydroksybenzylofosfodienu **20**. Konsekwencją tego procesu jest zmiana podstawnika *orto* w estrze benzylowym z bardzo słabo elektronodonorowej grupy fosforowej na silnie elektronodonorową grupę hydroksylową. Te zmiany elektro-nowe aktywują pozostałą grupę maskującą i indukują spontaniczne rozerwanie benzylowego wiązania estrowego w **21**, w wyniku czego następuje uwolnienie nukleotydu **22** i pochodnej alkoholu salicylowego **23**.

Badania mechanizmu degradacji cycloSal-d4TMP (**19**) w pełni udowodniły wewnątrzcząsteczkowy transport nukleotydu według wyżej opisanej drogi.

Jednakże wykorzystanie cycloSal-triestrów jako terapeutyków napotyka na pewne ograniczenia, wynikające z wyłącznie chemicznego procesu ich hydrolizy. Jakkolwiek pochodne cycloSal, ze względu na swój lipofilowy charakter, są zdolne do przenikania przez błony komórkowe i transportowania nukleotydów do wnętrza komórek, to jednak nie można wykluczyć sytuacji, w której triestry znajdujące się wewnątrz komórki przenikają ponownie przez błony komórkowe do przestrzeni międzykomórkowej i że hydrolizy chemiczne odbywają się również poza komórką. W celu wyeliminowania powyższych zjawisk, grupa Meiera zaprojektowała triestry stanowiące tzw. drugą generację cycloSal pronukleotydów, które z udziałem reakcji enzymatycznych winny być przekształcane wewnątrz komórki w bardziej polarne związki [31].

Modyfikacja cząsteczki cycloSal-triestrów polegała na przyłączeniu karboksy-esterazolabilnych grup estrowych do pierścienia aromatycznego (Rys. 6). Ze względu na fakt, iż ugrupowania estrowe są podstawnikami elektronoakceptorowymi, powodującymi znaczną redukcję chemicznej stabilności triestrów, dodatkowo wprowadzono etylenowy łącznik (ang. *spacer*).



24a Y= OC(O)Me (OAc)

24b Y= OC(O)tBu (OPiv)

24c Y= OC(O)CH₂CH₂C(O)CH₃ (OLev)

Rysunek 6. Struktura cycloSal-fosfortriestrów tzw. *drugiej generacji*

Przeprowadzone z użyciem linii komórkowych CEM badania aktywności pochodnych cycloSal tzw. *drugiej generacji* wykazały, że estry acetylowe (**24a**) oraz lewulinyłowe (**24c**) ulegały oczekiwanej hydrolizie enzymatycznej.

2.2. ENZYMATYCZNIE LABILNE GRUPY MASKUJĄCE

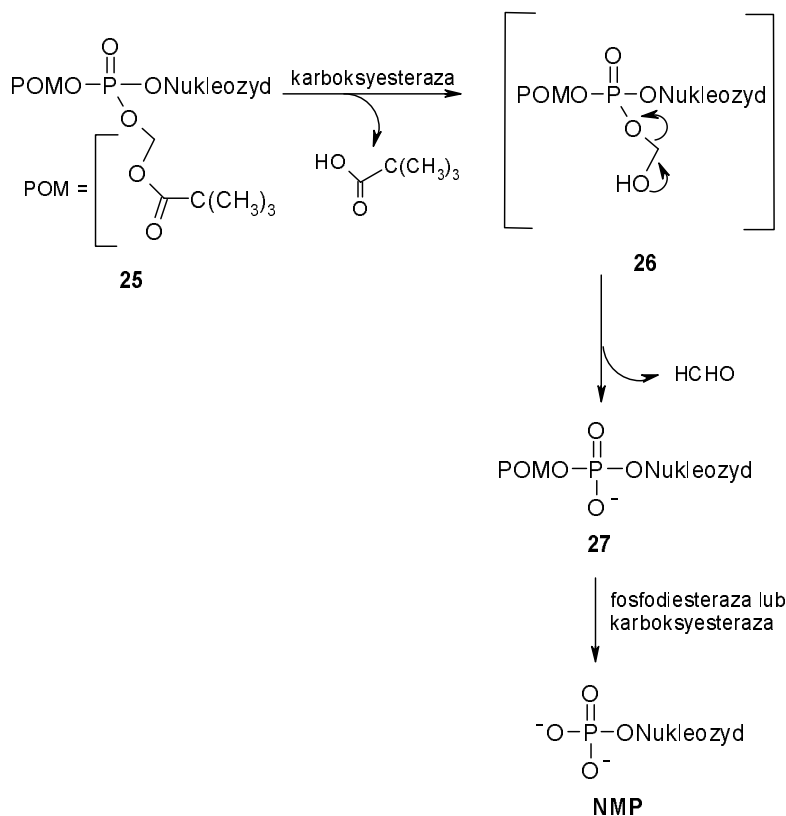
Niewielka ilość biolabilnych grup maskujących jest związana z faktem, że nie istnieją w naturze biologicznie aktywne fosforany o strukturze triestrów, a co za tym idzie, brak jest endogennych fosfotriesteraz. Konstrukcja proleków zawierających enzymatycznie labilne grupy polega na umieszczeniu takiej grupy w pewnej odległości od atomu fosforu. Reakcja enzymatycznej hydrolizy grupy maskującej prowadzi do powstania związku nadal biologicznie nieaktywnego, którego spontaniczny rozkład daje aktywny związek (ang. *tripartate concept*). Większość strategii fizjologicznej degradacji dotychczas zbadanych pronukleotydów opiera się na założeniu, iż niespecyficzne enzymy, między innymi takie jak karboksyesterazy lub fosfodiesterazy, będą powodowały uwolnienie leku z pronukleotydu drogą usunięcia jednej bądź dwóch grup ochronnych z funkcji 5'-fosforanowej.

2.2.1. Bis(piwaloiloksymetylowe) pochodne

Farquhar [32] po raz pierwszy zaproponował użycie grupy acyloksymetylowej jako biolabilnej grupy maskującej funkcję fosforanową.

Wstępne badania dotyczące enzymatycznej stabilności różnych estrów acylo-owych doprowadziły do wyboru *tert*-butylowej grupy i skonstruowania odpowied-

niej piwaloiloksymetylowej (POM) grupy maskującej. Na Schemacie 4 jest przedstawiony proponowany mechanizm dokomórkowego transportu bis(POM)-nukleozydo-5'-monofosforanów (**25**) [33].



Schemat 4. Mechanizm dokomórkowego transportu nukleozydo-bis(POM)-fosfortriestrów

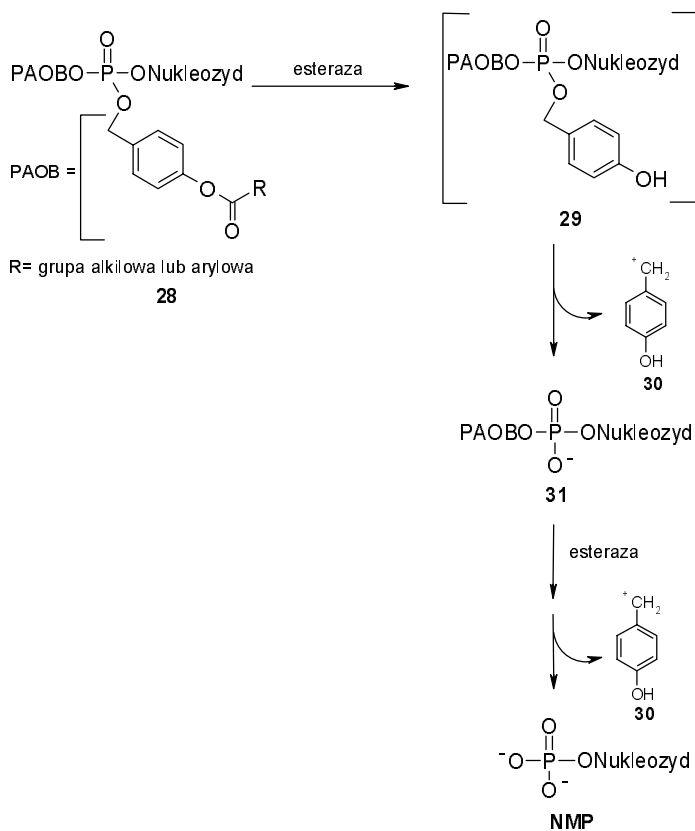
W pierwszym etapie piwaloilowy ester w grupie POM wobec karboksyesterazy ulega hydrolyzacji z utworzeniem wysoko reaktywnego hydroksymetylowego triestru **26**. Związek ten spontanicznie eliminuje formaldehyd, w efekcie czego tworzy się POM-diester **27**, który następnie w reakcji katalizowanej za pomocą fosfodiesterazy, prowadzi bezpośrednio do NMP. Alternatywnie, ze związku **27** wobec karboksyesterazy, która w sposób analogiczny do opisanego powyżej aktywuje grupę POM, tworzy się finalnie NMP.

Zastosowanie w badaniach biologicznych bis(POM)-ddUMP w pełni potwierdziło wyżej przedstawiony mechanizm. Związek wykazywał aktywność anti-HIV-1 w komórkach MT-4 [34]. Również bis(POM)-AZTMP był aktywny w stosunku do wirusa HIV-1, a bis(POM)-5FdUMP wykazywał aktywność przeciwnowotworową [33, 35].

Jednakże pronukleotydy zawierające bis(POM) ugrupowanie nie stanowią użytecznej grupy związków, ze względu na małą ich stabilność w osoczu oraz tworzące się toksyczne produkty uboczne- formaldehyd i kwas piwalonowy.

2.2.2. Bis(*p*-acyloksybenzylowe) pochodne

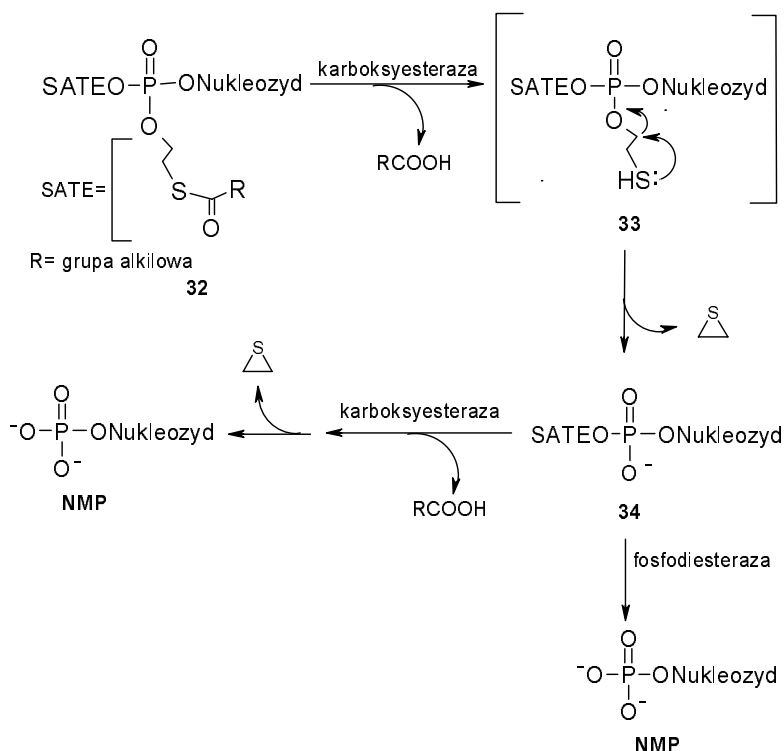
Aktywacja bis(*p*-acyloksybenzyl)fosfotriestrów (PAOB) **28** przebiega w sposób analogiczny do bis(POM)-fosfotriestrów. W wyniku enzymatycznej hydrolizy ugrupowania estrowego, w pierścieniu aromatycznym powstaje niestabilny *p*-hydroksybenzylfosfotriester **29**, który spontanicznie eliminując kation 4-hydroksybenzylowy (**30**) przekształca się w (*p*-acetyloksybenzyl)fosfodiester **31**. Ponowna aktywacja przez karboksyesterazę prowadzi do utworzenia pożądanego nukleozydo-5'-*O*-monofosforanu (NMP, Schemat 5). Mankamentem tej strategii jest reaktywność kationu **30**, który może oddziaływać z białkami, DNA lub innymi nukleofilami obecnymi w komórkach [36].



Schemat 5. Mechanizm dokomórkowego transportu nukleozydo-bis(PAOB)-fosfotriestrów

2.2.3. Bis(*S*-acetylo-2-tioetylo) pochodne i bis(ditioetylo) pochodne

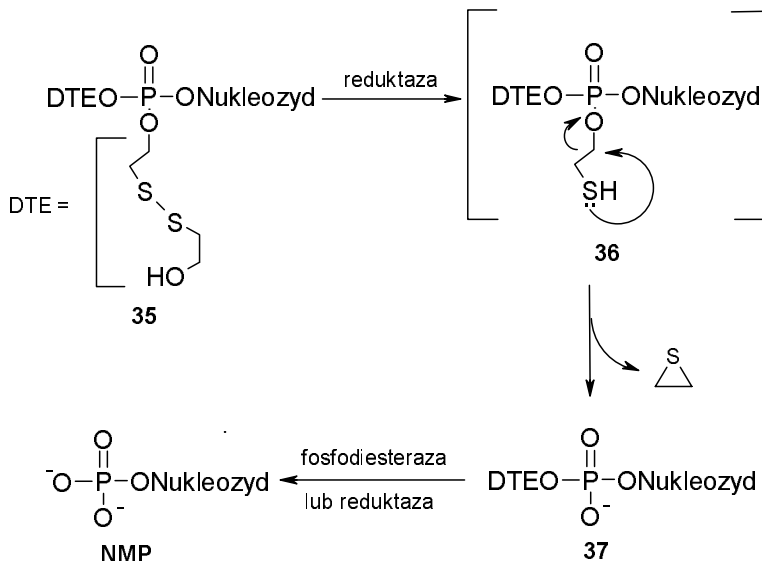
Bis(*S*-acetylo-2-tioetylo)fosfotriestry (SATE) modyfikowanych nukleozydów (**32**) zostały po raz pierwszy opisane przez Imbacha [37]. Mechanizm generowania odpowiednich 5'-monofosforanów jest podobny do degradacji wyżej przedstawionych biolabilnych fosfotriestrów. W reakcji katalizowanej karboksyesterazą tworzy się niestabilny *O*-2-merkaptioetylotriester **33**, którego reszta tiolowa, jako „miękki” nukleofil, atakuje „miękkie” centrum elektrofilowe (α -atom węgla), w efekcie czego wydziela się episiarczek i powstaje SATE-fosfodiester **34**. Powtórzenie tej samej sekwencji reakcji prowadzi do NMP lub, alternatywnie, związek **34** ulega katalizowanej fosfodiesterazą hydrolizie do NMP (Schemat 6).



Schemat 6. Mechanizm dokomórkowego transportu nukleozydo-bis(SATE)-fosfotriestrów

Inny zaproponowany przez Imbacha mechanizm hydrolizy bis(SATE)fosfotriestrów **32** zakłada w pierwszym etapie bezpośredni atak nukleofilowy cząsteczki wody na atom fosforu z uwolnieniem *S*-acylo-2-tioetanolu. Jednakże w obydwu rozważanych mechanizmach zapoczątkowana przez karboksyesterazę hydroliza reszty tioestrowej grup SATE prowadzi do wydzielienia 2 ekwiwalentów episiarczku, który posiada własności toksyczne i mutagenne [12].

Wydzielanie się episiarczku, jako produktu ubocznego, jest również postulowane w przypadku aktywacji innej grupy pronukleotydu – bis(ditioetylo)fosfortriestrów (DTE, **35**). Katalizowane przez reduktazę rozszczepienie disulfidowego wiązania prowadzi do utworzenia niestabilnego *O*-2-merkaptotioetriesteru **36**, który następnie ulega dekompozycji do diestru **37**, w sposób opisany na Schemacie 7.



Schemat 7. Mechanizm dokomórkowego transportu nukleozydo-bis(DTE)-fosfortriestrów

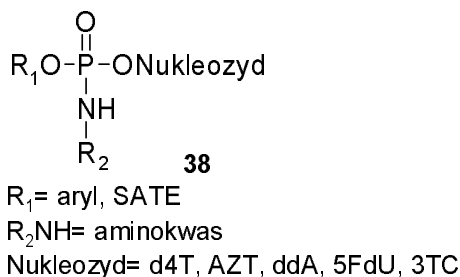
Stabilność pronukleotydu SATE jest zależna od rodzaju reszty tioestrowej. Najbardziej aktywnymi związkami okazały się pochodne z dwoma łańcuchami *S*-piwaloilo-2-tioetyłowymi, gdyż zawada steryczna i wysoka lipofilowość grupy *tert*-butylowej zapobiega zbyt szybkiemu usunięciu grupy maskującej, a co za tym idzie – niepożądanemu rozkładowi związku w medium komórkowym.

Badanie *in vitro* aktywności przeciwwirusowej (HIV-1, Herpes) bis(SATE)fosfortriestrów takich nukleotydu, jak AZT, d4T, ddA, przeprowadzone na różnych liniach komórkowych z deficytem kinazy tymidynowej (ang. *TK⁻cells*), wykazało, że w niektórych przypadkach związki te były bardziej aktywne niż macierzyste nukleozydy, co jest potwierdzeniem ich wewnątrzkomórkowej degradacji do 5'-monofosforanów odpowiednich nukleotydu. Natomiast bis(DTE)-AZTMP był w mniejszym stopniu niż AZT aktywny w stosunku do HIV-1 w komórkach CEM-SS, MT-4 i PBMCs. Jednakże podwyższenie aktywności przeciwwirusowej w komórkach CEM/TK⁻ potwierdza wewnątrzkomórkowy transport AZTMP [37a, 38].

3. PRONUKLEOTYDY O STRUKTURZE AMIDOFOSFORANÓW

3.1. AMIDOFOSFODIESTRY POCHODNE NUKLEOZYDÓW

Amidofosfodiestrowe pochodne nukleozydów (**38**) zostały po raz pierwszy opisane przez McGuigana w 1992 roku. Zasadniczą przesłanką ich syntezy było założenie, iż z racji braku ładunku ujemnego w cząsteczce, będą one wnikać do komórek na drodze biernej dyfuzji [39]. Wstępne badania biologiczne związków o strukturze **38** (Rys. 7) wykazały, że mogą być one rozpatrywane jako inhibitory odwrotnej transkryptazy wirusa HIV-1 [40].



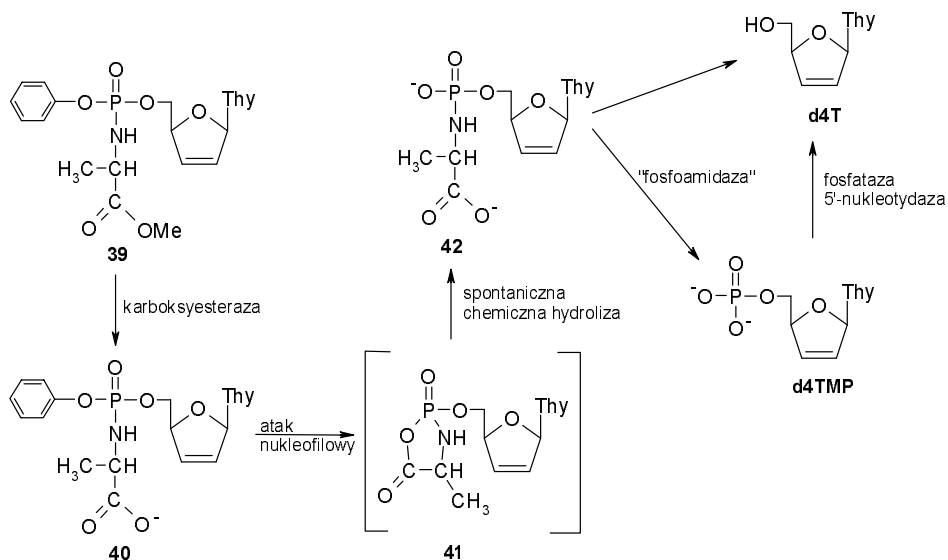
Rysunek 7. Pronukleotydy o strukturze amidofosfodiestrów

Na podstawie badania zależności pomiędzy strukturą a aktywnością stwierdzono, że obecność reszty α -aminokwasu wpływa w sposób zasadniczy na aktywność biologiczną, ponieważ pochodne alkiloamin nie posiadały żadnej lub wykazywały tylko nieznaczną aktywność przeciwwirusową [41].

McGuigan i in. wykazali, że spośród związków z resztą α -aminokwasu pochodne aryloestrów charakteryzują się większą aktywnością niż analogiczne alkiloestry [40d] oraz, że aktywność przeciwwirusowa amidofosfodiestrów pochodnych aminokwasów zależy od długości łańcucha bocznego aminokwasu: im dłuższy łańcuch, tym aktywność mniejsza [42]. Stąd też, w przypadku amidofosfodiestrów pochodnych d4T, najbardziej aktywne były związki zawierające w swojej cząsteczce resztę estru metyloвого L-alaniny. Najniższą aktywność wykazywały pochodne L-leucyny i L-waliny [43]. Porównując aktywność przeciwwirusową serii amidofosfodiestrów pochodnych d4T i AZT, Balzarini i współpracownicy [3] stwierdzili, że w komórkach CEM zainfekowanych wirusem HIV-1 aktywność ta jest również zależna od rodzaju nukleozydu i rodzaju estru karboksylowego. Jako tzw. strukturę wiodącą (ang. *lead compound*), w odniesieniu do reszty amidofosforanowej, wybrano ugrupowanie fenylo-metoksyalanylo-amidofosforanowe. Istotnym wnioskiem wynikającym z przeprowadzonych badań było stwierdzenie, że amidofosforanowa pochodna d4T (**39**, Schemat 8) jest w takim samym stopniu aktywna w komórkach CEM/TK⁺, jak i CEM/TK⁻, co oznacza, że słuszną jest koncepcja wyeliminowania

pierwszego etapu fosforylacji nukleozydów poprzez wprowadzenie do komórek związków o strukturze amidofosfodiestrów. Natomiast aktywność przeciwwirusowa pochodnych AZT była mniejsza niż aktywność niemodyfikowanego AZT, ponieważ w przypadku tego nukleozydu o szybkości całego procesu fosforylacji decyduje drugi etap przemiany (AZTMP do AZTDP), a nie pierwszy (AZT do AZTMP) [44].

W celu lepszego poznania zależności pomiędzy strukturą a aktywnością amidofosfodiestrów pochodnych d4T i AZT, w kilku ośrodkach badawczych prowadzono niezależne badania dotyczące metabolizmu tych związków [45]. Badacze sugerowali, że w pierwszym etapie karboksyesteraza katalizuje hydrolizę estru karboksylowego w części aminokwasowej związku **39**, a następnie, w wyniku nukleofilowego ataku grupy karboksylowej w związku **40** na atom fosforu, tworzy się nietrwały, pięcioczłonowy, cykliczny związek pośredni **41**, czemu towarzyszy spontaniczne rozerwanie wiązania fosfor-aryloksyl. Związek **41** ulega następnie szybkiemu przekształceniu w amidofosfomonoester **42**, który okazał się być aktywnym metabolitem.

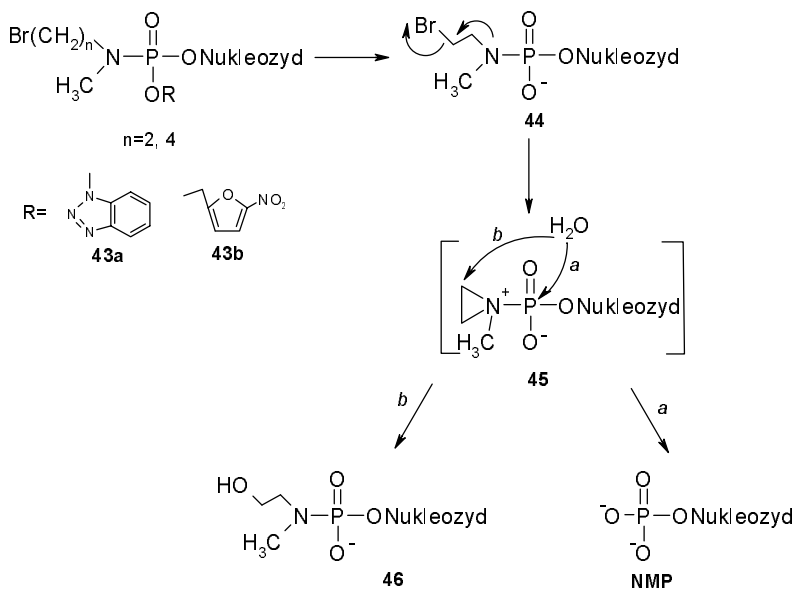


Schemat 8. Mechanizm dokomórkowego transportu pronukleotydw o strukturze fenylmetoksyalanyloamidofosfodiestrów

Na podstawie niezależnie przeprowadzonych badań McGuigan i współpracownicy [45a, 46] wykazali, że hydroliza wiązania P-N w związku **42** katalizowana przez specyficznie działającą fosfoamidazę, prowadzi do powstania d4TMP, który następnie jest przekształcany w trójfosforan za pomocą odpowiednich kinaz, lub w wolny nukleozyd, jeśli reakcja katalizowana jest przez fosfatazy lub nukleotydy. W przypadku amidofosfodiestrów pochodnych nukleozydów, zawierających jako podstawnik resztę aminokwasu, etap początkowej aktywacji może poten-

cialnie zachodzić pozakomórkowo, ponieważ jest katalizowany przez niespecyficzne esterazy. Natomiast finalna aktywacja, polegająca na rozerwaniu wiązania P-N, jest katalizowana przez endogenne fosfoamidazy i prawdopodobnie proces ten jest na tyle powolny, że obserwuje się w komórce małą akumulację modyfikowanych nukleotydów.

Zaproponowana przez Borchę i współpracowników inna grupa amidofosfodiestrowych pochodnych nukleozydów posiadała strukturę dobraną tak, aby proces aktywacji zachodził wyłącznie wewnątrzkomórkowo [47]. Cechą charakterystyczną pronukleotydów **43** (Schemat 9) była obecność grupy benzotriazolowej (**43a**) lub nitrofurylowej (**43b**), mających za zadanie ułatwienie dokomórkowego transportu nukleozydoamidofosforanów z podstawnikiem haloetyloaminowym ($n = 2$, Schemat 9). Zakładano, że reszta benzotriazolowa będzie ulegała bezpośredniej hydrolicy z utworzeniem niestabilnego anionu **44**, podczas gdy nitrofurylowe ugrupowanie na drodze bioredukcyjnej aktywacji będzie generowało wewnątrzcząsteczkowo taki sam amidofosforanowy anion **44**. Spontaniczna cyklizacja tego anionu winna prowadzić do powstania jonu azyrydiniowego **45**, jako związku pośredniego, który ulegając następcej hydrolizie z rozerwaniem wiązania P-N uwalniałby wewnątrzkomórkowo nukleozydo-5'-monofosforan. Jednakże obok hydrolizy wiązania P-N (atak cząsteczki wody na atom fosforu, *droga a*) obserwowano rozerwanie wiązania C-N (atak H_2O na atom węgla, *droga b*) prowadzące do niepożądanego produktu **46**. Zamiana haloetyloaminowego podstawnika w halobutyloaminowy ($n = 4$, Schemat 9) doprowadziła do syntezy nowej podgrupy pronukleotydów **43**, które ulegały szybkiej i ilościowej konwersji do odpowiednich nukleotydów.



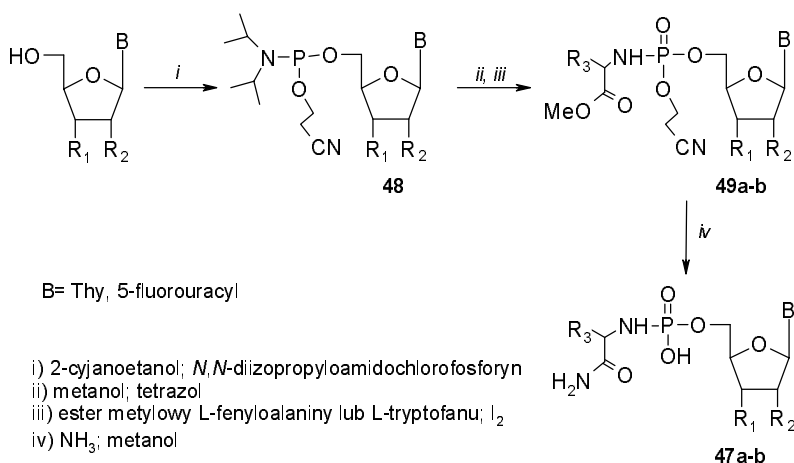
Schemat 9. Mechanizm dokomórkowego transportu nukleozydoamidofosfodiestrów z podstawnikiem benzotriazolowym lub nitrofurylowym

Przeprowadzone *in vitro* badanie aktywności 5-fluoro-2'-deoksyurydinoamidofosforanu zawierającego podstawnik nitrofurylowy względem mysich komórek białaczki L1210 wykazały silną inhibicję wzrostu komórek (IC_{50} 0,5–3nM). Z kolei badanie aktywności syntazy tymidylanowej w komórkach o niekompletnej zawartości kinazy tymidynowej wykazało, że aktywacja pronukleotydu przebiega poprzez zaproponowany mechanizm, obejmujący bezpośrednie wewnątrzkomórkowe przekształcenie w FdUMP.

Grupa Borchy zsyntezowała również analogiczne amidofosforany pochodne cytarabiny – nukleozydu stosowanego w terapii przeciwnowotworowej [48]. Przeprowadzone *in vitro* badania wykazały, że aktywność tego związku względem linii komórkowej CEM jest zgodna z mechanizmem obejmującym wewnątrzkomórkowy transport cytarabino-5'-monofosforanu.

3.2. AMIDOFOSFOMONOESTRY POCHODNE NUKLEOZYDÓW

W 1994 roku Wagner przedstawił syntezę pronukleotydów o strukturze amidomonoestrów (**47**, Schemat 10) [49]. Podstawą tej syntezy było założenie, że amidofosfomonoestry hydrofobowych aminokwasów powinny być lepiej rozpuszczalne w wodzie niż amidofosfodiestry otrzymane przez McGuigana, i powinny być wciąż zdolne do penetracji błony komórkowej. Synteza amidofosfomonoestrów **47** oparta była o metodologię amidofosforynową i reakcję oksydacyjnego amidowania. Nukleozydy w reakcji z 2-cyanoetylo-*N,N*-diizopropylamidochlorofosforynem tworzyły związek pośredni **48**, którego reakcja z metanolem wobec tetrazolu prowadziła do utworzenia odpowiedniego fosforynu metylowego. Następnie fosforyn metylowy reagował z jodem tworząc odpowiedni jodofosforan, który z kolei, w reakcji z estrami metylowymi aminokwasów, tworzył związki **49** (Schemat 10).



Schemat 10. Synteza pronukleotydów o strukturze amidofosfomonoestrów

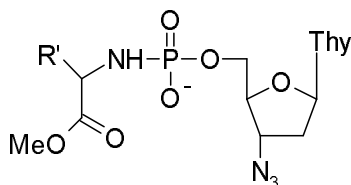
Finalna reakcja eliminacji ugrupowania β -cyjanoetylowego (NH_4/MeOH) w związkach **49** prowadziła do amidofosfomonoestrów **47**. Powyższa strategia została wykorzystana do otrzymania pochodnych takich nukleozydów, jak: d4T, AZT, FLT, zawierających w swojej cząsteczce resztę fenyloalaniny lub tryptofanu.

Otrzymane przez Wagnera związki posiadały strukturę aktywnych metabolitów **42** (Schemat 8) zaproponowanych przez McGuigana. Stąd też, rozpatrując mechanizm ich działania Wagner przyjął, że w wyniku katalizowanej fosfoamidazą hydrolizy wiązania P-N tworzy się monofosforan, który w dalszych etapach jest fosforylowany do odpowiedniego trójfosforanu.

Śród związków zsyntezowanych w Laboratorium Wagnera największą anti-HIV-1 aktywność w badaniach *in vitro* przeprowadzonych na liniach komórkowych PBMCs i CEM wykazywały użyte w stężeniach nanomolowych pochodne fenyloalaniny i tryptofanu. Związki te były stabilne w wodzie, mediach komórkowych, ludzkim i szczurzym osoczu, jak również nie obserwowano efektu cytotoksycznego przy stężeniach do 100 mM [50].

Ponadto Wagner [51] wykazał, że w przeciwieństwie do nukleozydo-5'-*O*-amidofosfodiestrów, aktywność przeciwwirusowa monoestrów nie zależy jednoznacznie od stereochemii aminokwasów. Na przykład aktywność przeciwwirusowa amidofosfomonoestru AZT była większa dla pochodnej estru metyloвого D-fenyloalaniny, zaś w przypadku pochodnych tryptofanu większą aktywność wykazywał związek, w którym aminokwas miał konfigurację L. Duży wpływ na aktywność przeciwwirusową *in vitro* badanych związków miał również rodzaj użytych do badań linii komórkowych. W zainfekowanych wirusem HIV-1 liniach komórkowych CEM pochodne L-fenyloalaniny i L-tryptofanu wykazywały dużo większą aktywność niż w liniach komórkowych PBMCs. Prawdopodobnie jest to spowodowane tym, iż więcej AZTMP gromadzi się w komórkach PBMCs niż w CEM, natomiast stężenie AZTTP jest większe w CEM, co może sugerować, że w liniach komórkowych CEM szybciej następuje katalizowana odpowiednimi kinazami przemiana monofosforanu do aktywnego trójfosforanu.

W 1997 roku Wagner i współpracownicy [52] wykazali, że AZT obok dobrych własności przeciwwirusowych, posiada w badaniach *in vitro* również interesujące własności przeciwnowotworowe w odniesieniu do komórek nowotworu piersi. Z racji tej, że podawanie AZT wywołuje niepożądane działania uboczne, postanowiono sprawdzić, czy AZT-amidoforanowe monoestry, pochodne aminokwasów (**50**, Rys. 8), wykazują potencjalne własności przeciwnowotworowe. Przeprowadzone na linii komórkowej MCF-7 badania zależności aktywności od struktury otrzymanych amidofosforanów pochodnych estrów metyloowych aminokwasów wykazały, że im większy podstawnik alkilowy przy α atomie węgla reszty aminokwasowej, tym cytotoksyczność mniejsza, przy czym wprowadzenie dużego ugrupowania aromatycznego (pochodne fenyloalaniny i tryptofanu) zdecydowanie poprawia aktywność związku.



R' = podstawnik alkilowy reszty aminokwasowej

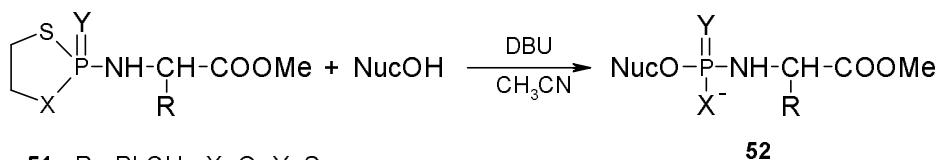
50

Rysunek 8. Koniugat estru metylowego aminokwasu z 5'-*O*-monofosforanem AZT

3.3. AMIDOTIOFOSFOMONOESTRY I AMIDODITIOFOSFOMONOESTRY POCHODNE NUKLEOZYDÓW

Zsyntezowane w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN w Łodzi *N*-oksatiafosfolanowe i ditiafosfolanowe pochodne aminokwasów stanowiły dogodną drogę syntezy nieopisanych dotąd w literaturze chemicznej nukleozydoamidotiofosforanów i nukleozydoamidoditiofosforanów pochodnych aminokwasów [53].

Przeprowadzone wobec silnej zasady, takiej jak DBU, reakcje podstawienia nukleofilowego na atomie fosforu wbudowanym w pierścień oksatiafosfolanowy albo ditiafosfolanowy, znajdujący się na grupie α -aminowej tryptofanu czy fenyloalaniny (**51**), za pomocą 5'-hydroksylowej funkcji nukleozydów, takich jak AZT, d4T, FTC, 3TC, przebiegały z wysokimi wydajnościami (Schemat 11).



51a R = PhCH₂; X=O, Y=S

51b R = PhCH₂; X=S, Y= S

51c R = 3-Indolyl; X=O, Y=S

51d R = 3-Indolyl; X=S, Y=S

52

NucOH = AZT, d4T, FTC, 3TC

Schemat 11. Synteza koniugatów estrów metylowych aminokwasów z 5'-*O*-tiofosforanami i 5'-*O*-ditiofosforanami nukleozydów

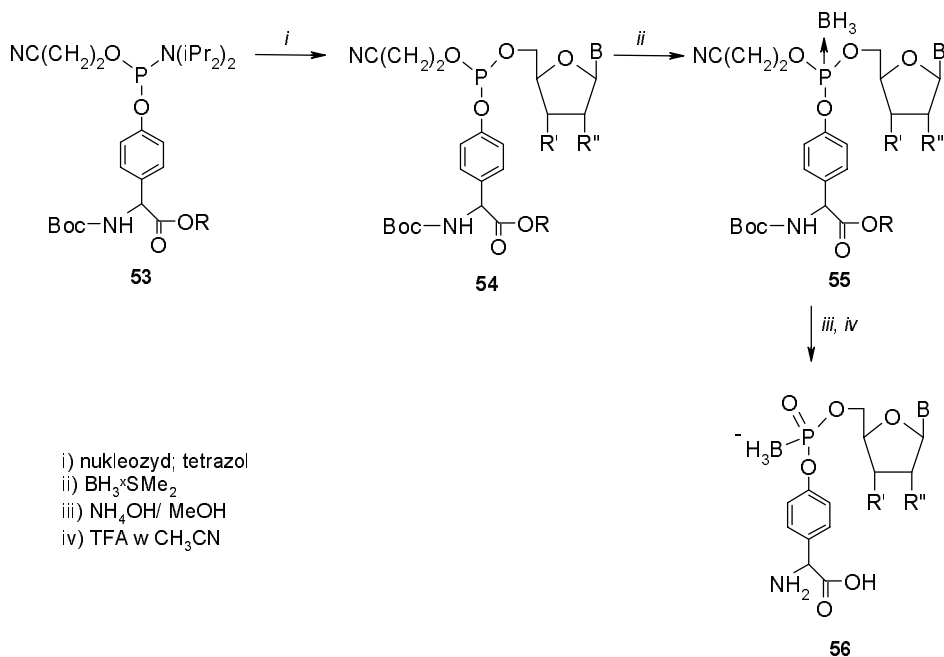
Badania przeprowadzone na komórkach PBMCs w Laboratorium Prof. R. Schinaziego (University of Atlanta, Georgia) wykazały, że koniugat 5'-*O*-tiofosforylowanego AZT z fenyloalaniną jest bardziej aktywny w stosunku do wirusa HIV-1 niż samo AZT [EC₅₀ (nM) odpowiednio 1,5 i 1,9], zaś aktywność koniugatu 5'-*O*-tiofosforylowanego AZT z tryptofanem jest równa aktywności samego AZT [54].

4. PRONUKLEOTYDY O STRUKTURZE BOROWODOROFOSFORANÓW

W roku 2002 Ramsay Shaw [55] zaproponowała nową grupę potencjalnych proleków, będących koniugatami tyrozyny z 5'-*O*-borowodorofosforanami nukleozydów. Wśród *P*-modyfikowanych nukleotydów borowodorofosforanowe pochodne są zaliczane do związków o potencjalnych właściwościach terapeutycznych [56]. Zastąpienie fosforylowego atomu tlenu grupą borowodorową zwiększa lipofilowość otrzymanych analogów i sprawia, że są one odporne na działanie enzymów nukleolitycznych.

Zaproponowana przez Ramsay-Shaw synteza koniugatów aminokwasów z 5'-*O*-borowodorofosforanami nukleozydów była oparta o metodologię amidofosforynową (Schemat 12).

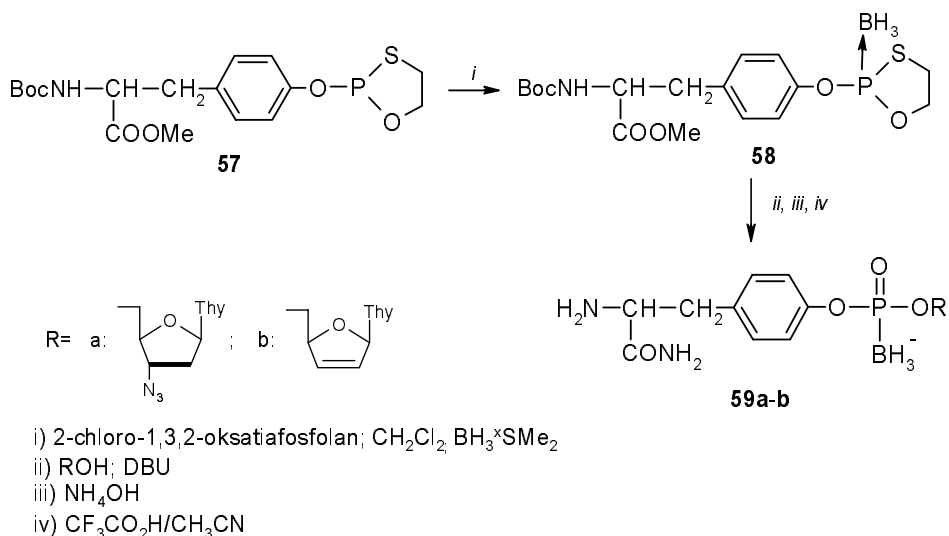
Zablokowaną na funkcji aminowej i grupie karboksylowej tyrozinę poddano katalizowanej tetrazolem reakcji fosfitylacji za pomocą 2-cyanoetylo-bis(*N,N*-diizopropyl)amidofosforynu. Otrzymany amidofosforyn **53** był następnie wobec tetrazolu kondensowany z 5'-*O*-hydroksylową grupą nukleozydów. Powstała *P*(III) pochodna **54** była *in situ* poddana reakcji z kompleksem $\text{BH}_3 \times \text{SMe}_2$, w wyniku czego tworzył się pożądaný borowodorofosforan **55**. Grupy blokujące z nukleozydu oraz grupa 4-nitrofenylova z ugrupowania karboksylowego aminokwasu były usuwane w standardowy sposób, co prowadziło do pożądanego związku **56**.



Schemat 12. Amidofosforynowa metoda syntezy koniugatów aminokwasów z 5'-*O*-borowodorofosforanami nukleozydów

W opracowanej w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN metodologii oksatiafosfolanowej kluczowymi związkami pośrednimi są 2-X-1,3,2-oksatiafosfolanowe pochodne [X = O, S, Se], które są otrzymywane w reakcji utlenienia odpowiednich 1,3,2-oksatiafosfolanowych prekursorów. Stąd też P(III) prekursorzy **57** stanowią odpowiednie substraty do przyłączenia reszty borowodorowej.

Otrzymane w ten sposób odpowiednie 2-borowodoro-1,3,2-oksatiafosfolany **58** (Schemat 13), następnie w reakcji z 5'-hydroksylową grupą takich nukleozydów, jak AZT czy d4T, tworzyły koniugaty typu nukleozyd-aminokwas połączone wiązaniem borowodorofosforanowym (**59**) [57].



Schemat 13. Oksatiafosfolanowa metoda syntezy koniugatów aminokwasów z 5'-O-borowodorofosforanami nukleozydów

PODSUMOWANIE

Mimo że w ciągu ostatnich lat nastąpił znaczny postęp w badaniach nad zwiększeniem dokomórkowego transportu nukleozydowych leków, to wciąż w tym obszarze pozostaje wiele kwestii do rozwiązania. Na przykład, nie istnieje jedna ogólnie użyteczna metoda modyfikacji nukleozydów. W szczególności transport dokomórkowy dideoksynukleozydów jest uprzywilejowany, w porównaniu z nukleozydami modyfikowanymi w pozycji 2' i 3' cukru. Ponadto istnieje niewielka ilość systematycznych badań mających na celu określenie jak dana struktura pronukleotydu wpływa na proces uwalniania nukleotydu. Co więcej, dla niewielkiej liczby pronukleotydu określono w badaniach *in vivo* toksyczność danego pronukleotydu w zależności od czasookresu jego stosowania, zbadano farmakokinetykę i dystrybucję tkankową proleku.

Obecnie uważa się, że aktywność proleku w komórkach pozbawionych kinazy tymidynowej świadczy o uwolnieniu w komórce odpowiedniego nukleotydu. Jakkolwiek został potwierdzony wewnątrzkomórkowy transport aktywnych nukleotydów, niejednokrotnie o aktywności przewyższającej aktywność macierzystego nukleotydu, to brak jest bezpośredniego dowodu potwierdzającego taki mechanizm.

Godnym odnotowania jest fakt, że pomimo tych wciąż niewyjaśnionych kwestii, dwa leki oparte na strategii pronukleotydów zostały ostatnio zatwierdzone przez Food and Drug Administration (FDA) [58].

Kolejne wyzwanie w stosunku do poszukiwania nowych form transportowych 5'-fosforanów nukleotydów stanowi problem oporności na dany lek. Na przykład, gemcytabina została uznana przez FDA za standardowy lek w przypadku leczenia jednego z najgorzej rokujących nowotworów, jakim jest rak trzustki z przerzutami. Chociaż gemcytabina jest aktualnie ewaluowana w różnych reżimach zastosowań klinicznych, to ostatnio pojawiły się pierwsze doniesienia na temat oporności w stosunku do tego leku.

Toteż nieodłącznie wysoki biologiczny potencjał niektórych nukleotydów zasługuje na dalsze prace mające na celu rozsądne i racjonalne projektowanie wysoko efektywnych pronukleotydów.

PODZIĘKOWANIA

Praca wykonana w ramach realizacji grantu nr N204 075 32/2063, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] (a) E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, 1986, **29**, 1561; (b) E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, 1995, **38**, 2491; (c) C. Perigaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach, *Nucleosides & Nucleotides*, 1992, **11**, 903.
- [2] R. Yarchoan, H. Mitsuya, R.V. Thomas, J.M. Pluda, N.R. Hartman, C.F. Perno, K.S. Marczyk, J.P. Allain, D.G. Johns, S. Broder, *Science*, 1989, **245**, 412.
- [3] D. Saboulard, L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, R. Pathirana, S. Velazquez, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini, *Mol. Pharmacol.*, 1999, **56**, 693.
- [4] (a) L.W. Hertel, J.S. Krion, J.W. Misner, J.M. Tustin, *J. Org. Chem.* 1988, **53**, 2406. (b) M.L. Rothenberg, M.J. Moore, M.C. Cripps, *Ann. Oncol.*, 1996, **7**, 347.
- [5] S. Jeha, V. Gandhi, K.W. Chan, L. McDonald, I. Ramirez, R. Madden, M. Rytting, M. Brandt, M. Keating, W. Plunkett, H. Kantarjian, *Blood*, 2004, **103**, 784.
- [6] H.M. Bryson, E.M. Sorkin, *Drugs*, 1993, **76**, 872.
- [7] J.W. Beach, L.S. Jeong, A.J. Alves, D. Pohl, H.O. Kim, Ch.-N. Chang, S.-L. Doong, R.F. Schinazi, Y.-Ch. Cheng, C.K. Chu, *J. Org. Chem.*, 1992, **57**, 2217.
- [8] G. Cadet, Ch.-S. Chan, R.Y. Daniel, C.P. Davis, D. Guiadeen, G. Rodriguez, T. Thomas, S. Walcott, P. Scheiner, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 4574.
- [9] P. Herdewijn, J. Balzarini, E. De Clercq, *Advances in Antiviral Drug Design.*, 1993, **1**, 233.
- [10] J. Spratlin, R. Sangha, *Clin. Cancer Res.*, 2004, **10**, 6956.

- [11] C.M. Galmarini, L. Jordheim, *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2003, **3**, 717.
- [12] P. Herdewijn, J. Balzarini, E. De Clercq, R. Pauwels, M. Baba, S. Broder, H. Vanderhaeghe, *J. Med. Chem.*, 1987, **30**, 1270.
- [13] H. Mitsuya, S. Broder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, **83**, 1911.
- [14] T. Obata, Y. Endo, *Curr. Drug Targets*, 2003, **4(4)**, 305.
- [15] Z. Hao, D.A. Cooney, D. Farquhar, C.-F. Perno, K. Zhang, R. Masood, Y. Wilson, N.R. Hartman, J. Balzarini, D.G. Johns, *Mol. Pharmacol.*, 1990, **37**, 157.
- [16] (a) C.R. Wagner, V.V. Iyer, E.J. McIntee, *Med. Res. Rev.*, 2000, **20**, 417; (b) C. Meier, *Synlett*, 1998, 233.
- [17] C. Perigaud, J.-L. Giradet, G. Gosselin, J.-L. Imbach, *Advances in Antiviral Drug Design*, 1996, **2**, 147.
- [18] A. Albert, *Nature*, 1958, **182**, 421.
- [19] (a) V.J. Stella, *J. Med. Chem.*, 1980, **23**, 1275; (b) A.A. Sinkula, S.H. Yalkowsky, *J. Pharm. Sci.*, 1980, **64**, 181.
- [20] P.L. Carl, P.K. Chakravarty, J.A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.*, 1981, **24**, 479.
- [21] (a) A. Rosowsky, S.H. Kim, J. Ross, M.M. Wick, *J. Med. Chem.*, 1982, **25**, 171; (b) K.B. Mullah, T.S. Rao, J. Balzarini, E. De Clercq, W.G. Bentrude, *J. Med. Chem.*, 1992, **35**, 2728; (c) J.A. Montgomery, H.J. Thomas, H.J. Schaeffer, *J. Org. Chem.*, 1961, **26**, 1929.
- [22] J.G. Turcotte, S.P. Srivastava, J.M. Steim, P. Calabresi, L.M. Tibbetts, M.Y. Chu, *Biochem. Biophys.*, 1980, **619**, 619.
- [23] C.I. Hong, A.J. Kirisits, A. Nechaev, D.J. Buchheit, C.R. West, *J. Med. Chem.*, 1980, **23**, 1343.
- [24] Y.H. Ji, C. Moog, G. Schmitt, P. Bischoff, B. Luu, *J. Med. Chem.*, 1990, **33**, 2264.
- [25] X. Pannecoucke, G. Parmentier, G. Schmitt, G. Dolle, B. Luu, *Tetrahedron*, 1994, **50**, 1173.
- [26] G.T. Morin, B.D. Smith, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 3101.
- [27] (a) S. Shuto, H. Itoh, S. Ueda, S. Imamura, K. Fukukawa, M. Tsujino, A. Matsudo, T. Ueda, *Chem. Pharm. Bull.*, 1988, **36**, 209; (b) C. Piantadosi, C.J. Marasco, S.L. Morris-Natschke, K.L. Meyer, F. Gumms, J.R. Surles, K.S. Ishaq, L.S. Kucera, N. Iyer, C.A. Wallen, S.J. Piantadosi, E.J. Modest, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 1408.
- [28] (a) B. Colin, N.M. Jones, C. McGuigan, P.A. Riley, *Nucleic Acids Res.*, 1989, **17**, 7195; (b) C. McGuigan; S.M. Tollerfield, P.A. Riley, *Nucleic Acids Res.*, 1989, **17**, 6065.
- [29] C. McGuigan, M. Davies, R. Pathirana, N. Mahmood, A.J. Hay, *Antiviral Res.*, 1994, **24**, 69.
- [30] C. Meier, *Mini Rev. Med. Chem.*, 2002, **2**, 219.
- [31] C. Meier, *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, **5**, 1081.
- [32] D.N. Srivastava, D. Farquhar, *Bioorg. Chem.*, 1984, **12**, 118.
- [33] D. Farquhar, S. Khan, D.N. Srivastava, P.P. Saunders, *J. Med. Chem.*, 1994, **37**, 3902.
- [34] D. Farquhar, B. Nowak, S. Khan, W. Plunkett, *Antiviral Res.*, 1991, **15**, 143.
- [35] D. Farquhar, R. Chen, S. Khan, *J. Med. Chem.*, 1995, **38**, 488.
- [36] A.G. Mitchell, D. Nicholls, W.J. Irwin, S. Freeman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 1992, **7**, 1145.
- [37] (a) I. Lefebvre, C. Perigaud, A. Pompon, A.M. Aubertin, J.L. Girardet, A. Kirn, G. Gosselin, J.-L. Imbach, *J. Med. Chem.*, 1995, **38**, 3941; (b) G. Valette, A. Pompon, J.-L. Girardet, L. Cappelacci, P. Franchetti, M. Grifantini, P. La Colla, A.G. Loi, C. Perigaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 1981.
- [38] (a) G. Gosselin, J.-L. Girardet, C. Perigaud, S. Benzaria, I. Lefebvre, N. Schlienger, A. Pompon, J.-L. Imbach, *Acta Biochim. Pol.*, 1996, **43**, 1.
- [39] (a) A. Simoncsits, J. Tomasz, *Nucleic Acids Res.*, 1975, **2**, 1223; (b) M.E. Phelps, P.W. Woodman, P.V. Danenberg, *J. Med. Chem.*, 1980, **23**, 1229.
- [40] (a) C. McGuigan, R.N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 1048; (b) C. McGuigan, R.N. Pathirana, N. Mahmood, K.G. Deviene, A.J. Hay, *Antiviral Res.*, 1992, **17**,

- 311; (c) C. McGuigan, A. Salgado, C. Yarnold, T.Y. Harries, E. De Clercq, J. Balzarini, *Antiviral Chem. Chemother.*, 1996, **7**, 184.
- [41] (a) C. McGuigan, D. Cahard, A. Salgado, E. De Clercq, J. Balzarini, *Antiviral Chem. Chemother.*, 1996, **7**, 31; (b) C. McGuigan, A. Perry, C.J. Yarnold, P.W. Sutton, D. Lowe, W. Miller, S.G. Rahim, M.J. Slater, *Antiviral Chem. Chemother.*, 1998, **9**, 233.
- [42] C. McGuigan, K.G. Devine, T.J. O'Connor, S.A. Galpin, D.J. Jeffries, D. Kinchington, *Antiviral Chem. Chemother.*, 1990, **1**, 107.
- [43] L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, L. Bidois, E. De Clercq, C. McGuigan, J. Balzarini, *Antiviral Res.*, 1997, **34**, A54, 40.
- [44] J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq, *J. Biol. Chem.*, 1989, **264**, 6127.
- [45] (a) J. Balzarini, A. Karlsson, S. Aquaro, C.-F. Perno, D. Cahard, L. Naesens, E. De Clercq, C. McGuigan, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1996, **93**, 7295; (b) D. Egron, I. Lefebvre, C. Perigaud, T. Beltran, A. Pompon, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, J.-L. Imbach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, **8**, 1045.
- [46] C. McGuigan, D. Cahard, H.M. Sheeka, E. De Clercq, J. Balzarini, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 1748.
- [47] (a) C.L.F. Meyers, L. Hong, C. Joswig, R.F. Borch, *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 4313; (b) S.C. Tobias, R.F. Borch, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 4475.
- [48] S.C. Tobias, R.F. Borch, *Molecular Pharmaceutics*, 2004, **1**, 112.
- [49] T.W. Abraham, C.R. Wagner, *Nucleosides & Nucleotides*, 1994, **13(9)**, 1891.
- [50] (a) C.R. Wagner, E.J. McIntee, R.F. Schinazi, T.W. Abraham, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 1819; (b) E.J. McIntee, R.P. Remmel, R.F. Schinazi, T.W. Abraham, C.R. Wagner, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 3323.
- [51] S. Chang, G.W. Griesgraber, P.J. Southern, C.R. Wagner, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 223.
- [52] C.R. Wagner, G. Ballato, A.O. Akanni, E.J. McIntee, R.S. Larson, S.L. Chang, Y. Abulhaji, *Cancer Res.*, 1997, **57**, 2341.
- [53] (a) J. Baraniak, R. Kaczmarek, W.J. Stec, *Tetrahedron Lett.*, 2000, **41**, 9139; (b) J. Baraniak, R. Kaczmarek, E. Wasilewska, W.J. Stec, *Phosphorus, Sulfur and Silicon*, 2002, **177**, 1667.
- [54] R.F. Schinazi – wyniki nieopublikowane
- [55] P. Li, B.R. Shaw, *Org. Lett.* 2002, **4**, 2009.
- [56] (a) A. Sood, B.R. Shaw, B.F. Spielvogel, *J. Am. Chem. Soc.* 1990, **112**, 9000; (b) J. Tomasz, B.R. Shaw, K. Porter, B.F. Spielvogel, A. Sood, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 1992, **31**, 1373.
- [57] J. Baraniak, R. Kaczmarek, E. Wasilewska, *Tetrahedron Lett.*, 2004, **45**, 671.
- [58] (a) Adefovir dipivoxyl, Hepsvera® [bis{pivaloxymethyl (POM)}-PMEA]; (b) Tenofovir disoproxil fumarate, Viread® [bis{isopropylloxycarbonylmethoxy(POC)}-PMPA].

Praca wpłynęła do Redakcji 22 marca 2007

**PRZECIWNOWOTWOROWE
ANTYBIOTYKI ENODIYNOWE**

THE ENEDIYNE ANTICANCER ANTIBIOTICS

Stanisław Boryczka¹, Wojciech Mól¹, Andrzej Jowśa²

¹ Katedra i Zakład Chemii Organicznej,

² Katedra i Zakład Żywności i Żywienia,

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej,

Śląska Akademia Medyczna,

ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

e-mail: boryczka@slam.katowice.pl

Abstract

Wstęp

1. Chemia układów enodiynowych
2. Podział, budowa i działanie antybiotyków enodiynowych
 - 2.1. Antybiotyki zawierające 9-członowy pierścień enodiynowy
 - 2.2. Antybiotyki zawierające 10-członowy pierścień enodiynowy

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



Dr hab. Stanisław Boryczka – absolwent Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej (1973). Stopień naukowy doktora nauk chemicznych uzyskał na Uniwersytecie Śląskim (1990), a doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych w specjalności chemia leków – na Wydziale Farmaceutycznym *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego (2003). Odbił staż w Laboratoire de Synthèse et Electrochimie Organique na Université Catholique de l'Ouest (1993–1994) w Angers. Od 1980 r. pracuje w Katedrze Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Śląskiej Akademii Medycznej.

Jego zainteresowania naukowe koncentrują się na poszukiwaniu nowych związków biologicznie aktywnych, głównie acetylenowych pochodnych chinoliny o działaniu przeciwnowotworowym, badaniu właściwości fizykochemicznych oraz zależności pomiędzy strukturą a działaniem cytotoksycznym.



Mgr inż. Wojciech Mól – absolwent Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej w Gliwicach. Od 2000 roku pracuje w Katedrze Chemii Organicznej Śląskiej Akademii Medycznej na stanowisku asystenta.

Jego zainteresowania naukowe dotyczą poszukiwania nowych acetylenowych pochodnych chinolin o działaniu przeciwnowotworowym.



Mgr Andrzej Jowśa – absolwent Wydziału Farmaceutycznego Śląskiej Akademii Medycznej. Pracę dyplomową pt. „Synteza i ocena własności cytotoksycznych bis-acetylenowych tiochinolin” wykonał w Katedrze Chemii Organicznej. W XXVI Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich w 2005 roku zajął I miejsce, a w XLI Ogólnopolskim Konkursie Prac Magisterskich Wydziałów Farmaceutycznych w 2006 – miejsce III. Obecnie jest słuchaczem I roku studiów doktoranckich na Wydziale Farmaceutycznym Śląskiej Akademii Medycznej.

ABSTRACT

Naturally occurring enediyne anticancer antibiotics derived from bacterial sources are reviewed. The enediynes represent promising chemotherapeutic agents that exhibit unprecedented molecular architecture, fascinating modes of action and extremely potent anticancer activity, more potent than other anticancer drugs. The enediynes are structurally characterized by an unsaturated core with two acetylenic groups conjugated with a double bond. All these molecules contain three important functional domains:

- an enediyne ring (nine-membered or ten-membered) as a highly reactive core that generates the reactive diradicals, thus providing the fragments that damage DNA,
- a triggering device which after suitable activation under physiological conditions initiates the cascade of reactions that leads to the generation of diradicals,
- a delivery system that is responsible for targeting DNA.

The mode of action of the enediyne antibiotics is the ability to produce single-stranded or double-stranded DNA lesions by a mechanism which involves the interactions with duplex DNA along specific sequences within the minor groove. This is followed by the formation of a highly reactive benzenoid diradical via Bergman or Myers-Saito cycloaromatization and abstraction of hydrogen atoms from the deoxyribose of DNA leading to site-specific DNA breaks, which induces cell apoptosis.

The diradical (p-benzyne) intermediates in simple prototype enediynes were postulated by Bergman in 1972 and provided the basis for the mechanism of action of the naturally occurring enediynes.

Over 20 natural enediynes antibiotics are known now. They are divided into two distinct groups; those containing a nine membered enediynes chromophore non-covalently associated with a stabilizing apoprotein (neocarzinostatin **1**, kedarcidin **2**, lidamycin **3**, maduropeptin **4**, N1999A2 **5**) and those containing ten membered enediyne ring (calicheamicins **6**, dynemicins **7**, esperamicin **8**, namenamicin **9**, shishijimicins **10**). However, the lack of selectivity for cancer cells and toxicity of natural enediynes have complicated their use in cancer chemotherapy. Several monoclonal antibody-enediynes and polymer-enediynes conjugates have been prepared and evaluated for clinical significance as anticancer drugs. Much effort has been devoted to the design and synthesis of new, simplified, fully synthetic analogues characterized by similar mode of action.

Keywords: enediyne antibiotics, prodrugs, cycloaromatization, diradicals, DNA, cytotoxicity

Słowa kluczowe: antybiotyki enodiyne, proleki, cykloaromatyzacja, DNA, cytotoxyczność

WSTĘP

Choroby nowotworowe, ze względu na częstość występowania i nikiel możliwości wyleczenia, są w dalszym ciągu jednym z największych wyzwań nauki. Powodują one około 20% zgonów i zajmują w tym względzie drugie miejsce po chorobach serca i naczyń [1]. W Polsce, w 2002 roku na nowotwory zachorowało łącznie 114 440 osób, a zmarło prawie 87,8 tys. [1]. Polska wypadła tragicznie w statystykach umieralności osób chorych na raka. Zajmujemy 22 miejsce pod względem skuteczności leczenia onkologicznego. Szanse 5-cio letniego przeżycia ma obecnie 40% chorych na raka w tym tylko 30% mężczyzn [2]. Innymi słowy: na trzech pacjentów tylko jeden wygrywa walkę z rakiem, a dwóch umiera. W USA każdego roku diagnozuje się ok. 1,4 mln nowych przypadków zachorowań na raka, a umiera z tego powodu 560 tys osób [3, 4].

Wśród wielu sposobów leczenia raka znaczące miejsce przypada chemioterapii (ok. 23% przypadków) [5]. Nie jest to spowodowane wysoką skutecznością poszczególnych preparatów, lecz brakiem lepszych sposobów walki z nowotworami. Niedoskonała chemioterapia stanowi zatem nieustanne wezwanie do podejmowania kolejnych prób znalezienia lub syntezy nowych skuteczniejszych cytostatyków.

Wśród asortymentu leków o działaniu przeciwnowotworowym (ocenia się, że jest ich ponad 50, Yuan podaje liczbę ok. 87 [6, 7]) substancje pochodzenia naturalnego stanowią 62–65% [7–9]. Ten wysoki odsetek naturalnych cytostatyków, w porównaniu z 23–25% procentowym udziałem substancji pochodzenia naturalnego w ogólnej liczbie stosowanych obecnie farmaceutyków [6, 8], może oznaczać, że przyroda sama pomaga człowiekowi w walce z rakiem.

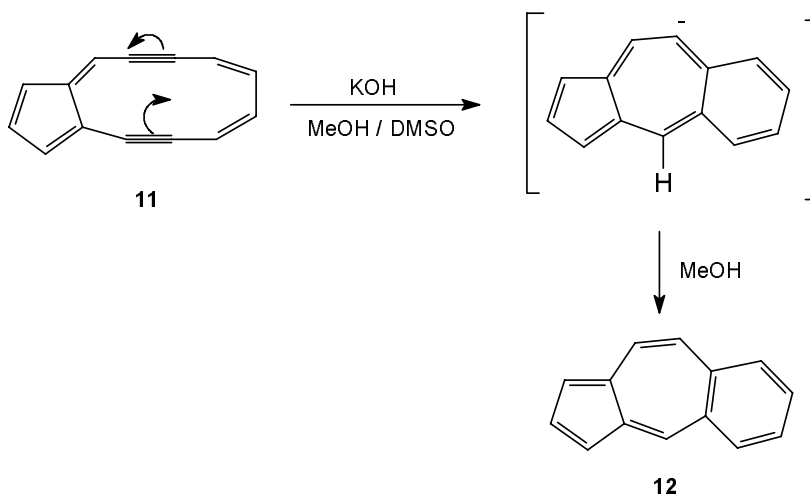
Najnowszą grupę chemioterapeutyków przeciwnowotworowych stanowią obecnie antybiotyki enodinyowe [10–13]. Nazwa pochodzi od podstawowego elementu strukturalnego, odpowiedzialnego za działanie biologiczne, jakim jest wysoce nienasycony pierścień makrocycliczny, który zawiera jedno podwójne (*en*) i dwa wiązania potrójne (*diny*). Antybiotyki te posiadają wyjątkową budowę, niespotykany do tej pory mechanizm działania i wykazują bardzo wysoką aktywność cytotoksyczną, nieznaną wcześniej w grupie środków przeciwnowotworowych.

Pierwszym antybiotykiem z tej grupy była neokarcynostatyna **1** wyizolowana przez Ishidę i in. w 1965 roku z bakterii *Streptomyces carzinostaticus* [14, 15]. Związek ten nie spotkał się z większym zainteresowaniem aż do momentu, gdy naukowcy z firm farmaceutycznych Bristol-Meyers i Lederle Laboratories odkryli, w 1987 roku, następne antybiotyki z tej grupy, tj. esperamycynę **8** [16, 17] i kalicheamycynę **6** [18, 19]. Prawdopodobnie konkurencja sprawiła, że publikacje dotyczące związków **6** i **8** ukazały się obok siebie w tym samym numerze J. Am. Chem. Soc. Niezwykle cenne właściwości biologiczne naturalnych układów enodinyowych spowodowały gwałtowny wzrost zainteresowania i podjęcie w wielu ośrodkach na świecie intensywnych badań nad pozyskiwaniem i działaniem tej grupy związków.

W roku 1989 wyizolowano dynemycynę **7** z hodowli bakterii *Micromonospora chersina*, znajdujących się w próbkce ziemi pobranej w stanie Gujarat w Indiach [20, 21]. Rok później wydzielono deoxydynemycynę **A** z bakterii *Micromonospora globosa* [22]. W roku 1991 odkryto kedarcydynę **2**, wytwarzaną przez nowy szczep *Actinomycete* (L585-6), wyhodowany z próbki ziemi pobranej w Indiach [23, 24]. Lidamycynę **3** wydzielono z bakterii *Streptomyces globisporus* [25, 26], a kolejny antybiotyk o nazwie maduropeptyna **4** wyizolowano z bakterii *Actinomadura madurae* [27]. Kilka lat później opisano antybiotyk oznaczony symbolem N1999A2 **5**, wydzielony ze *Streptomyces sp.* AJ9493 [28]. Odkrycie w roku 1996 namenamycyny **9**, wyodrębnionej z morskich osłonicek *Polysyncraton lithostrotum* na wyspie Namenalala [29] oraz sziszymycyn **10** (ang. *shishijimicins*) w roku 2003, w Japonii, z osłonicek *Didemnum proliferum* [30] wskazuje, że antybiotyki enodiynowe są wytwarzane przez różne organizmy. Obecnie znanych jest ponad 20 naturalnych antybiotyków enodiynowych, a ogromne zainteresowanie nimi, jako nowymi potencjalnymi cytostatykami, wciąż trwa, o czym świadczy ilość ukazujących się publikacji.

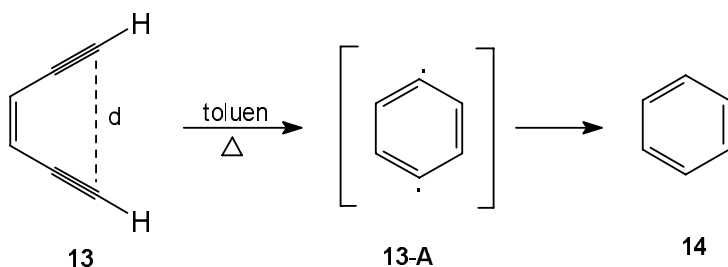
1. CHEMIA UKŁADÓW ENODIYNOWYCH

Historia badań chemicznych nad układami enodiynowymi rozpoczęła się nieco wcześniej od odkrycia antybiotyków enodiynowych. Pierwsze doniesienie na ten temat pojawiło się w 1966 roku, kiedy Sondheimer i in. opisali reakcję przegrupowania syntetycznego układu enodiynowego **11** w pochodną 5,6-benzazulenu **12** [31]. Dla tej transformacji zaproponowali jonowy mechanizm przedstawiony na Rys. 1.



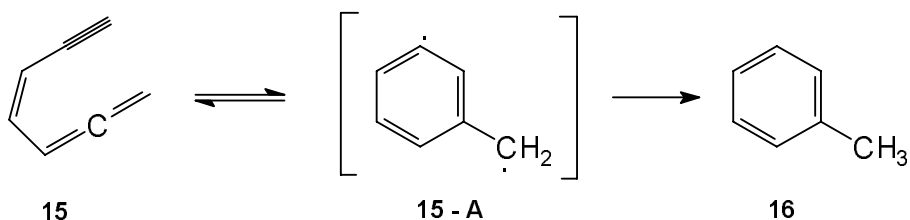
Rysunek 1. Jonowy mechanizm przegrupowania bicyklo[9. 3. 0]tetradeca-1,5,7,11,13-pentaen-3,9-diynu **11** do pochodnej 5,6-benzazulenu **12**

W roku 1972 Bergman i in. opublikowali szczegółowe badania dotyczące zachowania się *cis*-heks-3-en-1,5-dynu **13** podczas ogrzewania we wrzącym toluenie [32]. Zaproponowali rodnikowy mechanizm dla tego typu cykloaromatyzacji, zachodzącej poprzez wysoce reaktywny p- δ , δ -didehydrobenzenowy dirodnik **13-A**. Końcowym produktem jest związek aromatyczny **14** (Rys. 2). W chemii arynów **13-A** znany jest jako pochodna p-benzynnu i w dalszym ciągu uważany jest jako układ raczej egzotyczny, w porównaniu z pochodnymi o-benzynnu, często spotykanymi w reakcjach organicznych jako związki przejściowe w nukleofilowej substytucji aromatycznej [33]. Ze względu na znaczenie tej reakcji, została ona nazwana cykloaromatyzacją Bergmana. W kilka lat później okazało się, że tego typu cykloaromatyzacja stała się podstawową reakcją wyjaśniającą mechanizm działania antybiotyków enodinyowych.



Rysunek 2. Cykloaromatyzacja Bergmana *cis*-heks-3-en-1,5-dynu **13**

Drugą możliwą drogą cykloaromatyzacji związków enodinyowych jest reakcja Myers-Saito. Zachodzi ona z udziałem układów enoyno-Allenowych **15** poprzez reaktywny dirodnik typu 1,4- δ , π -dihydrotoluenowy **15-A**, jako produkt pośredni (Rys. 3) [34–36].



Rysunek 3. Cykloaromatyzacja Myers-Saito

Istotnym parametrem określającym łatwość cykloaromatyzacji jest odległość (d) pomiędzy terminalnymi atomami węgla dwóch wiązań potrójnych (Rys. 2). Układy enodinyowe, w których $d < 3,34 \text{ \AA}$, ulegają cykloaromatyzacji, natomiast w przypadku gdy $d > 3,4 \text{ \AA}$, proces praktycznie nie zachodzi. Związki enodinyowe z wiązaniami potrójnymi, znajdującymi się w odległości mniejszej niż $3,2 \text{ \AA}$, trudno otrzy-

mać ze względu na ich samorzutną cyklizację, zachodzącą już w temperaturze pokojowej [37].

Zagadnienie cykloaromatyzacji układów *cis*-enodiynowych wydawało się początkowo interesujące, głównie z punktu widzenia chemii fizycznej i teoretycznej. Dopiero od momentu odkrycia w roku 1987 naturalnych antybiotyków enodiynowych obserwuje się gwałtowny wzrost zainteresowania syntezą tego typu pochodnych, do takiego stopnia, że problem ten stał się jednym z głównych kierunków badań w chemii związków acetylenowych ostatniej dekady.

2. PODZIAŁ, BUDOWA I DZIAŁANIE ANTYBIOTYKÓW ENODIYNOWYCH

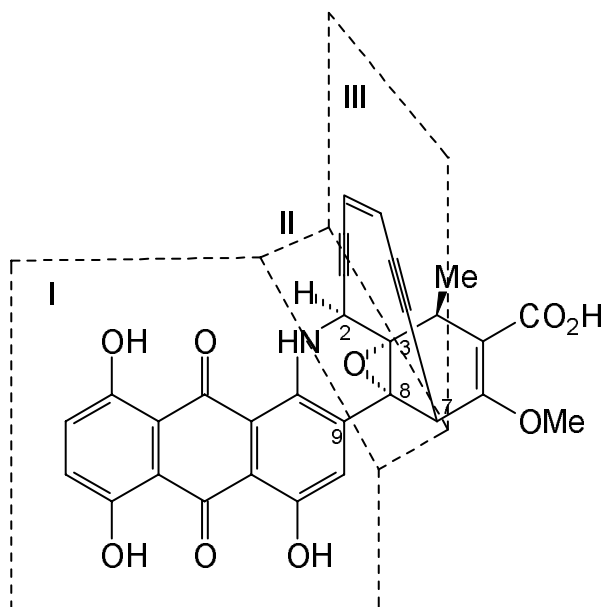
Naturalnie występujące antybiotyki enodiynowe można podzielić, zgodnie z pro-pozycją Wei-Min Dai'a, na dwie grupy w zależności od wielkości pierścienia makrocyklicznego [13]. Pierwsza zawiera chromofor zbudowany z 9-członowego pierścienia enodiynowego i występuje głównie w postaci kompleksu z częścią białkową (apoproteina). Należą do tej grupy:

- neokarcynostatyna **1**
- kedarcydyna **2**
- lidamycyna (C-1027) **3**
- maduropeptyna **4**
- N1999A2 **5**

Do drugiej grupy należą antybiotyki z 10-członowym pierścieniem enodiynowym bez części białkowej:

- kalicheamycyny **6**
- dynemycyny **7**
- esperamycyny **8**
- namenamycyna **9**
- sziszymycyny **10**

Cząsteczki antybiotyków enodiynowych posiadają 3 podstawowe elementy strukturalne, które pełnią określone funkcje w mechanizmie działania, co przedstawiono na przykładzie dynemycyny **7** (Rys. 4) [38, 39]. Fragment (I) odpowiedzialny jest za łączenie się cząsteczki antybiotyku, w sposób mniej lub bardziej specyficzny, do mniejszej bruzdy DNA. Drugim elementem jest tzw. wyzwalacz (II), w przypadku dynemycyny **7** jest nim pierścień epoksydowy, który zapobiega samorzutnemu procesowi cykloaromatyzacji utrzymując atomy węgla C-2, C-3, C-7 i C-8 w sztywnej konformacji *anty*. Po zadziałaniu czynników aktywujących (działanie nukleofila, temperatura, światło, bioredukcja) następuje otwarcie pierścienia epoksydowego, co pozwala atomom węgla C-2, C-3, C-7, C-8, przyjąć konformację *gauche*. Wtedy odległość (*d*) pomiędzy terminalnymi atomami wiązań potrójnych zmniejsza się od wartości $d = 3,54 \text{ \AA}$ do ok. $d = 3,17 \text{ \AA}$ i w temperaturze fizjologicznej zachodzi cykloaromatyzacja [39].



Rysunek 4. Elementy składowe cząsteczki dynemycyny A 7

Trzecim charakterystycznym elementem budowy antybiotyków enodiynowych jest pierścień makrocykliczny 9- lub 10-członowy (III), określany jako głowica bojowa antybiotyku, który zawiera fragment (Z)-heks-3-en-1,5-diynowy. Po zadziałaniu wyzwalacza następuje cykloaromatyzacja pierścienia enodiynowego i tworzy się dirodnik. Ten wysoko reaktywny produkt przejściowy oddziałuje z łańcuchem DNA powodując jego przerwanie, co zapoczątkowuje kaskadę procesów apoptozy prowadzącą do śmierci komórek. Antybiotyki enodiynowe należą więc do proleków, które wykazują działanie dopiero po przejściu w formę aktywną.

2.1. ANTYBIOTYKI ZAWIERAJĄCE 9-CZŁONOWY PIERŚCIEŃ ENODIYNOWY

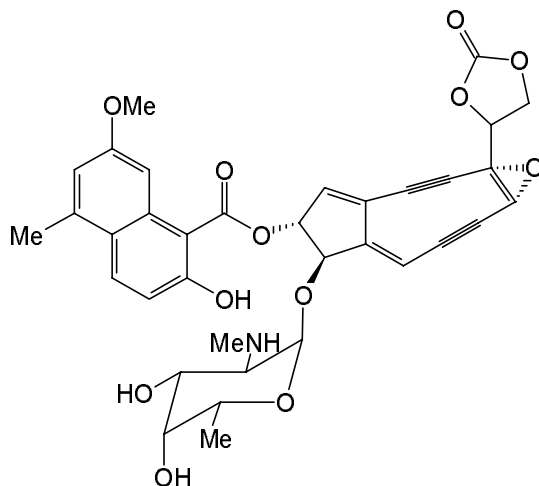
Neokarcynostatyna (NCS)

Neokarcynostatyna **1**, obecnie zwana też jako zinostatyna, po raz pierwszy została opisana przez Ishidę i in. w 1965 roku jako kompleks o składzie 1:1 niekovalencyjnie związanej części białkowej (apoproteiny, apo-NCS) i chromoforu (Rys. 5) [14, 15]. Apoproteina i chromofor mogą być łatwo oddzielone poprzez ekstrakcję, ale chromofor przy braku części białkowej łatwo ulega cykloaromatyzacji. Struktura chromoforu neokarcynostatyny **1** została ustalona 20 lat później przez Edo i in. [40]. Część białkowa jest polipeptydem składającym się z 115 aminokwa-

sów i odpowiada za transport oraz stabilizację chromoforu [41, 42]. Wykazano również, że proteina neokarcynostatyny **1** ma zdolność enzymatycznego rozkładu białek histonowych (głównie H1) na krótkie peptydy [43, 44]. W ten sposób ułatwia bezpośredni dostęp chromoforu neokarcynostatyny **1** do łańcucha DNA. Część chromoforowa antybiotyku odpowiada za interkalację z DNA i działanie biologiczne.

AAPTATVTPS SGLSDGTVVK VAGAGLQAGT AYDVGOCAWW DTGVLACNPA
DFSSVTADAN GSASTSLTVR RSFEGFLFDG TRWGGTVNCT TAACQVGLSD
AAGNGPEPGV AISFN

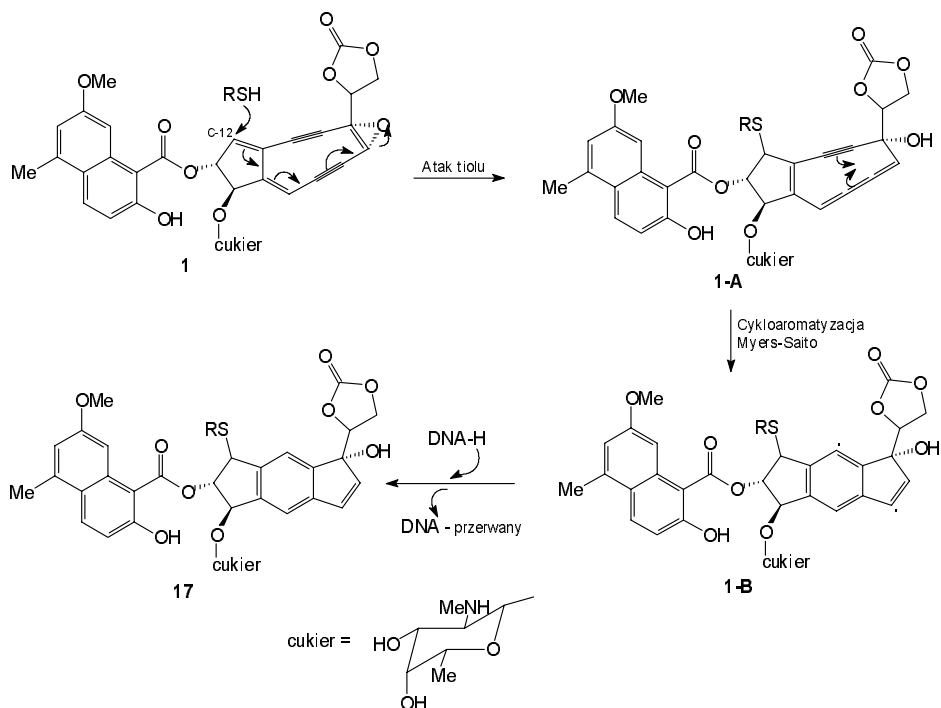
Apoproteina neokarcynostatyny (apo-NCS) 115 AA



Chromofor neokarcynostatyny (NCS)

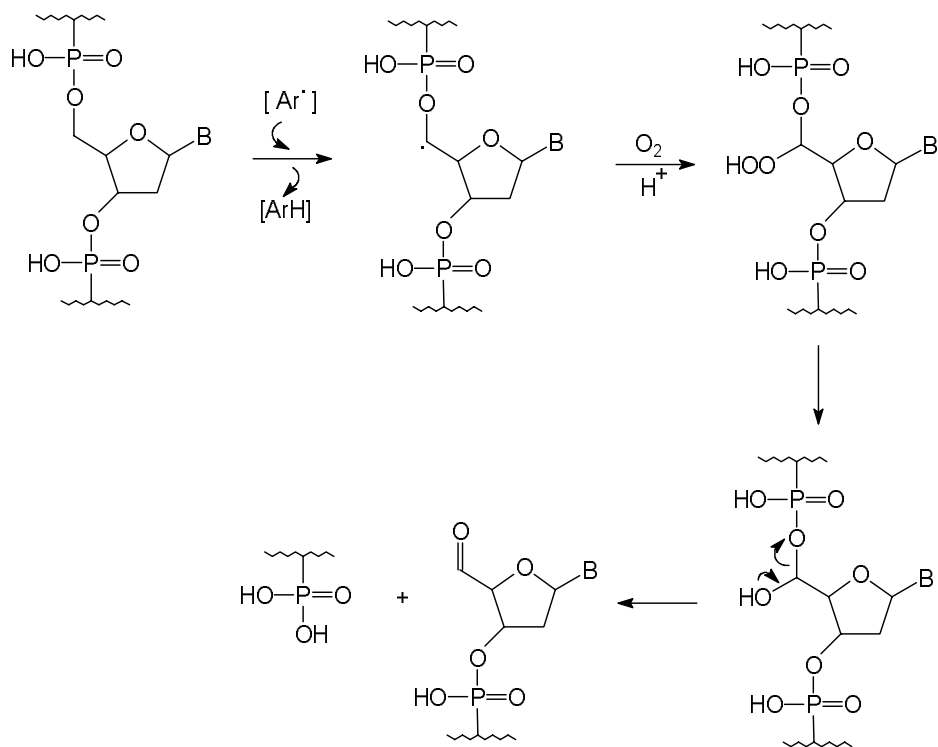
Rysunek 5. Struktura cząsteczki neokarcynostatyny **1**

Mechanizm działania neokarcynostatyny **1** został przedstawiony w 1987 roku przez Myersa i składa się z kilku etapów (Rys. 6) [45–47]. Zgodnie z tą propozycją, w początkowej fazie procesu reszta kwasu naftoesowego interkaluje się do DNA w taki sposób, aby enodiynowy fragment chromoforu tj. epoksybicyklo[7.3.0]dodekadiendiynu znajdował się w mniejszej bruzdzie DNA. Aktywacja kaskady reakcji prowadzących do rozerwania jednej nici łańcucha DNA rozpoczyna stereospecyficzny atak czynnika nukleofilowego, np. tiolu (jest to zazwyczaj cząsteczka glutationu, najbardziej dostępnego tiolu w komórkach ssaków) na atom węgla C-12. Prowadzi to do przegrupowania szkieletu pierścienia makrocyklicznego łącznie z otwarciem pierścienia epoksydowego i utworzeniem kumulenu **1-A**. Ten nietrwały i reaktywny układ ulega szybko cykloaromatyzacji typu Myers-Saito z utworzeniem dirodnika **1-B**, który odrywa rodniki wodorowe od łańcucha DNA przechodząc w trwały związek aromatyczny **17**.



Rysunek 6. Mechanizm działania neokarcynostatyny 1

Uprzywilejowanymi miejscami ataku dirodnika 1-A na łańcuchach DNA są reszty adeniny i tyminy. Wykazano, że 80% przecięć łańcucha DNA przez NCS jest spowodowane oderwaniem atomu wodoru z położenia C-5' dezoksyrybozy, co prowadzi do utworzenia reszty adeniny lub tyminy z grupą aldehydową w pozycji 5' i fosforanową w położeniu 3' (Rys. 7) [48]. Proces rozerwania zachodzi w obecności tlenu. Mniej niż 20% uszkodzeń DNA jest następstwem ataku dirodnika na pozycje C-4' i C-1' dezoksyrybozy [49].



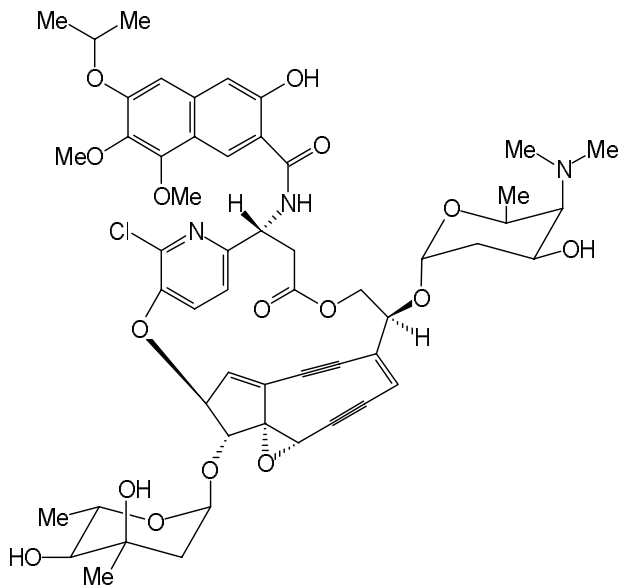
Rysunek 7. Mechanizm rozrywania łańcucha DNA w pozycji 5' dezoksyrybozy

Kedarcydyna

Kedarcydyna **2** została wyizolowana w 1991 roku ze szczepu bakterii *Actinomyces* (*L585-6*) znalezionych w próbce ziemi pobranej w Indiach [23, 24]. Wykazuje ona wysoką aktywność przeciwnowotworową *in vitro*, podobną do innych antybiotyków enodiynowych, a ID_{50} np. wobec komórek HCT-116 wynosi 0.4 ng/ml [50]. Jest również aktywna wobec bakterii Gram-dodatnich. Występuje w postaci kompleksu złożonego z chromoforu i rozpuszczalnej w wodzie apoproteiny (Rys. 8). Skład kompleksu, w przeciwieństwie do neokarcynostatyny **1**, jest różny w zależności od warunków hodowli i zmienia się od 1:1 do 1:18. Część białkowa występuje w postaci trzech form: główna zawiera 114 aminokwasów, a pozostałe dwie formy posiadają o jeden lub dwa aminokwasy mniej (alanina i seryna) [50]. Również zidentyfikowano trzy formy chromoforu kedarcydyny o masach cząsteczkowych 1029, 1015 i 1001. Cząsteczka chromoforu kedarcydyny **2** posiada budowę zbliżoną do neokarcynostatyny **1**.

ASAAVSVSPA TGLADGATVT VSASGFATST SATALQCAIL ADGRGACNVA
 EFHDFSLSGG EGTTSVVVRR SFTGYVMPDG PEVGAVDCDT APGGCEIVVG
 GNTEEYENAA ISFE

Apoproteina kedarcydyny, 114 AA



Chromofor kedarcydyny

Rysunek 8. Struktura cząsteczki kedarcydyny 2

Mechanizm działania kedarcydyny 2 polega na rozcinaniu jednej nici DNA z wysoką specyficznością sekwencyjną 5'-TCCTN-3', podobną do kalicheamycyny 6 [51]. Rozrywanie łańcucha DNA odbywa w obecności tlenu i jest hamowane przez takie jony, jak Ca^{2+} i Mg^{2+} , które kompleksując się z fragmentem kwasu 2-hydroksynaftoesowego utrudniają wiązanie się antybiotyku z DNA. Aktywowanie cząsteczki kedarcydyny 2 zachodzi podobnie jak w przypadku neokarcynostatyny 1 i rozpoczyna się atakiem nukleofila na atom C-12. Następuje otwarcie pierścienia epoksydowego, zmienia się geometria pierścienia enediynowego i zachodzi cykloaromatyzacja Bergmana. Powstały dirodnik oddziałuje z DNA powodując jego przerywanie, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórek.

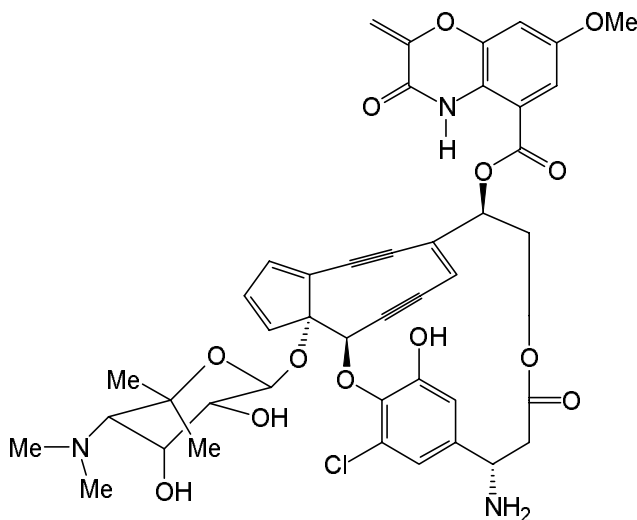
Proteina kedarcydyny 2 wykazuje, podobnie jak neokarcynostatyny 1, również selektywne działanie proteolityczne rozkładając histony na krótkie peptydy i ułatwiając dostęp chromoforu do łańcucha DNA [43, 52].

Lidamycyna

Lidamycynę **3** (nazwa oryginalna C-1027) wyizolowano w roku 1988 z *Streptomyces globisporus* C-1027 w Chinach [25, 26, 53], a strukturę chromoforu ustalono dopiero w 1993 roku [54, 55]. Cząsteczka antybiotyku składa się z wyjątkowo nietrwałego chromoforu, powiązanego niekowalencyjnie z częścią białkową w stosunku 1:1, składającą się z 110 aminokwasów (Rys. 9) [56, 57]. Antybiotyk **3** posiada wyjątkowo wysoką aktywność cytotoksyczną *in vitro* wobec komórek nowotworowych, takich jak np. komórki białaczki L1210, P388, wątrobiaka H22 i raka piersi MCF-7 o wartościach $IC_{50} = 0,01-1$ nM. Jego działanie znacznie przewyższa aktywność neokarcynostatyny **1** [53]. Wykazuje również działanie przeciwwirusowe.

APAFSVSPAS GLSDGOSVSV SVSGAAAGET YYAQCAPVG VGQDACNPATA
SFTTDAASGA ASFSFVVRKS YTGSTPEGTP VGSVDCATAA CNLGAGNSGL
DLGHVALTFG

Apoproteina lidamycyny, 110 AA



Chromofor lidamycyny (C-1027)

Rysunek 9. Struktura cząsteczki lidamycyny **3**

Mechanizm działania lidamycyny **3** jest podobny do działania dwóch poprzednio opisanych antybiotyków. Polega na przecinaniu dwóch nici DNA, co powoduje śmierć komórek na drodze apoptozy [58, 59]. Uprzywilejowanymi miejscami przerywania DNA są specyficzne sekwencje, takie jak: 5'-TAT-3'/3'-ATA-5' i 5'-AGAT-3'/3'-TCT-5' [60]. Jest to jedyny antybiotyk enodinyowy, który nie wymaga procesu

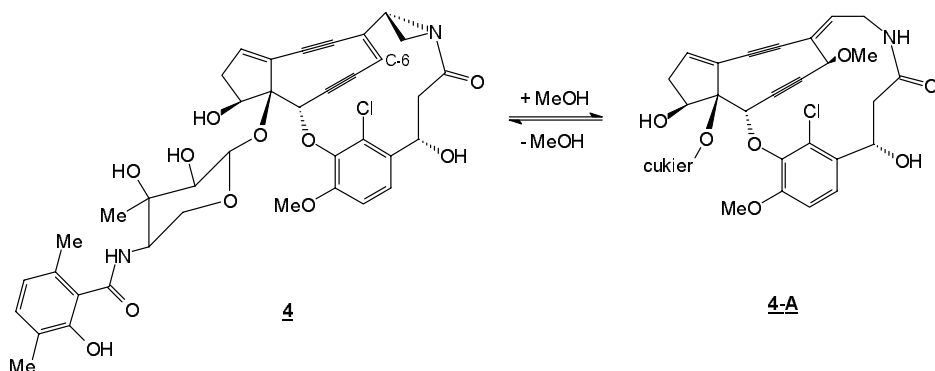
aktywowania [25, 61, 62]. Cykloaromatyzacja rozpoczyna się w momencie odłączenia się apoproteiny od chromoforu. Proces przerywania łańcucha DNA zachodzi głównie na drodze oderwania atomu wodoru z pozycji C-4' dezoksyrybozy. W przeciwieństwie do innych antybiotyków enodiynowych, cząsteczka lidamycyny **3** nie zawiera elementu strukturalnego w postaci pierścienia epoksydowego, pełniącego funkcję zabezpieczającą przed wystąpieniem samorzutnej cykloaromatyzacji Bergmana. Stąd między innymi wynika wysoka niestabilność cząsteczki lidamycyny **3** i wzrasta znaczenie części białkowej.

Maduropeptyna (MDP)

Maduropeptyna **4** została wyizolowana z *Actinomadura madurae* w 1991 roku (strukturę ustalono w 1994 roku) jako kompleks o składzie 1:1 nośnika białkowego o masie cząsteczkowej 32 kDa, rozpuszczalnego w wodzie, i chromoforu zawierającego 9-członowy pierścień enodiynowy (Rys. 10) [27, 63]. Wykazuje wysoką aktywność wobec bakterii Gram-dodatnich oraz przeciwnowotworową [27]. Apoproteina maduropeptyny **4** swoją budową nie przypomina protein neokarcynostatyny **1**, lidamycyny **3** i kedarcydyny **2**, które mają masę w zakresie 5–11 kDa i odznaczają się 40% podobieństwem budowy. Apoproteina **4**, podobnie jak neokarcynostatyny i kedarcydyny, posiada powinowactwo do histonów [44, 64]. Chromofor maduropeptyny **4** jest słabo związany z białkową częścią, a jego struktura oraz proces aktywowania nie są jeszcze dokładnie poznane. Wykazuje natomiast duże podobieństwo do chromoforu C-1027 **3**, o czym świadczy wzór cząsteczki pochodnej maduropeptyny **4-A**, będącej produktem addycji metanolu do atomu C-6 podczas procesu wyodrębniania. Przypuszcza się, że powstały addukt jest prolekiem, który ulega wewnątrzcząsteczkowemu przegrupowaniu w enodiynową formę aktywną zawierającą pierścień azyrydynowy (Rys. 10). Dopiero ta postać maduropeptyny może ulegać cykloaromatyzacji i oddziaływać z DNA [63, 64].

MVPISIRNR VAKVAVGSAA VLGLAVGFQT PAVAAAPTAT VTPSSGLSDG
 TVVKVAGAGL QAGTAYDVGQ CAWVDTGVLV CNPADFSSVT ADANGSASTS
 LTVRRSFEFG L.FDGTRWGT VDCTTA.AC QVGLSDAAGN GPEGVAISFN

Apoproteina maduropeptyny

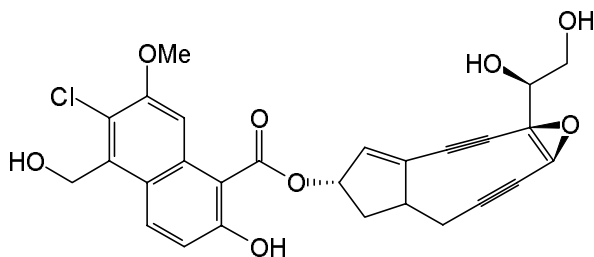


Chromofor maduropeptyny

Rysunek 10. Struktura cząsteczki maduropeptyny 4

Antybiotyk N1999A2 (NA2)

Antybiotyk enodiynowy oznaczony symbolem N1999A2 **5** został wyizolowany z bakterii *Streptomyces sp.* AJ9493, w roku 1998, w Japonii [28]. Posiada w swojej budowie 9-członowy pierścień enodiynowy i resztę kwasu naftoesowego (Rys. 11). NA2 **5** wykazuje silne działanie przeciwbakteryjne i przeciwnowotworowe. Cytotoksyczność *in vivo*, oznaczona jako IC_{50} wobec komórek różnych linii nowotworowych, mieści się w granicach 10^{-12} – 10^{-8} M [65].



Chromofor N1999A2

Rysunek 11. Struktura cząsteczki antybiotyku N1999A2 5

Chromofor NA2 5 wykazuje podobną budowę do neokarcynostatyny 1 z tym, że nie ma reszty aminocukrowej. W przeciwieństwie do wcześniej przedstawionych antybiotyków enodiinowych z 9-cio członowym pierścieniem, NA2 5 występuje bez części białkowej i, pomimo tego, jest bardziej trwały w roztworze wodnym aniżeli np. neokarcynostatyna 1 [65]. Mechanizm działania polega na interkalacji cząsteczki NA2 5 do mniejszej bruzdy DNA, cykloaromatyzacji i przecięciu dwóch nici DNA w sekwencji 5'-GGT/3'-CCA (T > A >> C > G) [65].

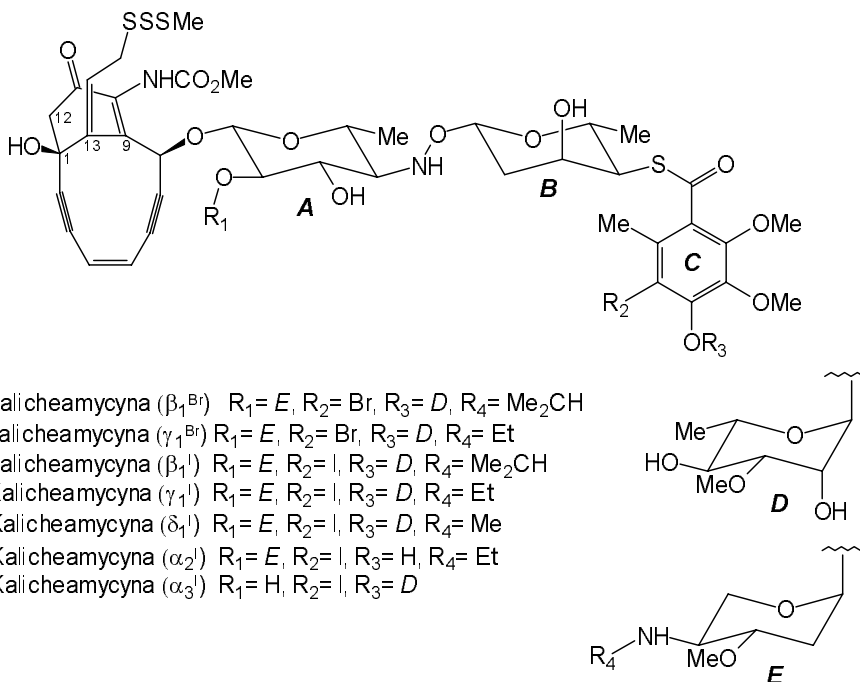
2.2. ANTYBIOTYKI ZAWIERAJĄCE 10-CZŁONOWY PIERŚCIEN ENODIINOWY

Kalicheamycyny

Rodzina kalicheamycyn 6 (Rys. 12) została wyizolowana z bakterii *Micromonospora echinospora* znalezionych w złożach saletry chilijskiej w stanie Teksas w USA [18, 19]. Złoża te zawierają znaczne ilości węgla wapniowego i są używane jako materiał budowlany w tym regionie. Kalicheamycyny posiadają niezwykle wysoką aktywność przeciw bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym na poziomie stężenia poniżej 1 pg/ml [66, 67]. Ich aktywność przeciwnowotworowa kształtuje się w testach *in vitro* na poziomie $ED_{50} = 0,025$ ng/ml (wobec komórek Co77), a dawka optymalna w testach *in vivo* wynosi 0,5–1,5 mg/kg wobec komórek białaczek P388 i L1210 oraz raka okrężnicy i czerniaka B16 [18, 66, 67]. Kalicheamycyny 6 są ponad 4000 razy bardziej aktywne od adriamycyny [18].

Rodzina kalicheamycyn 6 składa się z 7 przedstawicieli, których cząsteczki różnią się podstawnikami R_1 , R_2 , R_3 , R_4 oraz atomem chlorowca (Br, I) (Rys. 12) [66, 68]. Pochodne jodowe powstają po dodaniu do hodowli komórkowej jodku sodowego. Wyróżniającym się przedstawicielem tej grupy antybiotyków jest kalicheamycyna γ_1^I . W cząsteczce tego związku widoczne są trzy elementy strukturalne,

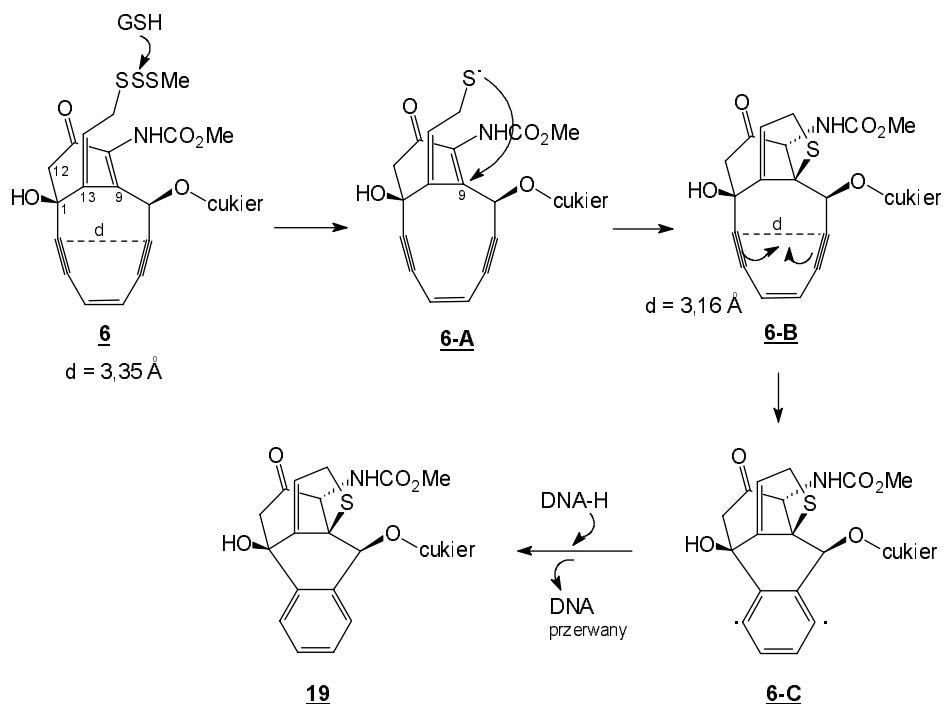
które pełnią istotną rolę w mechanizmie działania. Pierwszy element składa się z czterech reszt cukrowych (A, B, D, E) oraz jednego heksapodstawionego pierścienia benzenowego (C) (Rys. 12). Ten fragment budowy jest odpowiedzialny za wiązanie się z mniejszą bruzdą podwójnej helisy DNA z wysoką specyficznością do sekwencji 5'-TCCT-3' i 5-TTTT-3' [69, 70]. Drugim elementem budowy jest aglikon, zwany kalicheamycynonem. Jest to bicykliczny układ zawierający 10-członowy pierścień enodiynowy oraz cykliczny α,β -nienasycony keton, cykloheksenon, z wiązaniem podwójnym przy węzłowym atomie C-9. Aglikon jest odpowiedzialny za przerywanie łańcucha DNA. Trzecim elementem jest trisulfid metyloowo-allilowy przy atomie C-13, który pełni funkcję wyzwalacza.



Rysunek 12. Struktury cząsteczek kalicheamycyn 6

Mechanizm działania składa się z kilku etapów i rozpoczyna się od powiązania kalicheamycyny γ_1^I z mniejszą bruzdą DNA [71–75]. Powstały kompleks DNA-kalicheamycyna reaguje z nukleofilem, którym jest najczęściej glutation (GSH). Następuje rozerwanie wiązania S-S w trisulfidzie (Rys. 13). Powstały tiolan 6-A ulega wewnątrzcząsteczkowej addycji do podwójnego wiązania α,β -nienasyconego ketonu, co powoduje rehybrydyzację atomu C-9 z sp^2 na sp^3 . Zmienia się geometria pierścienia enodiynowego (związek 6-B) tak, że odległość (d) pomiędzy atomami C-2 i C-7 zmniejsza się i następuje w temperaturze pokojowej cykloaromatyzacja z utwo-

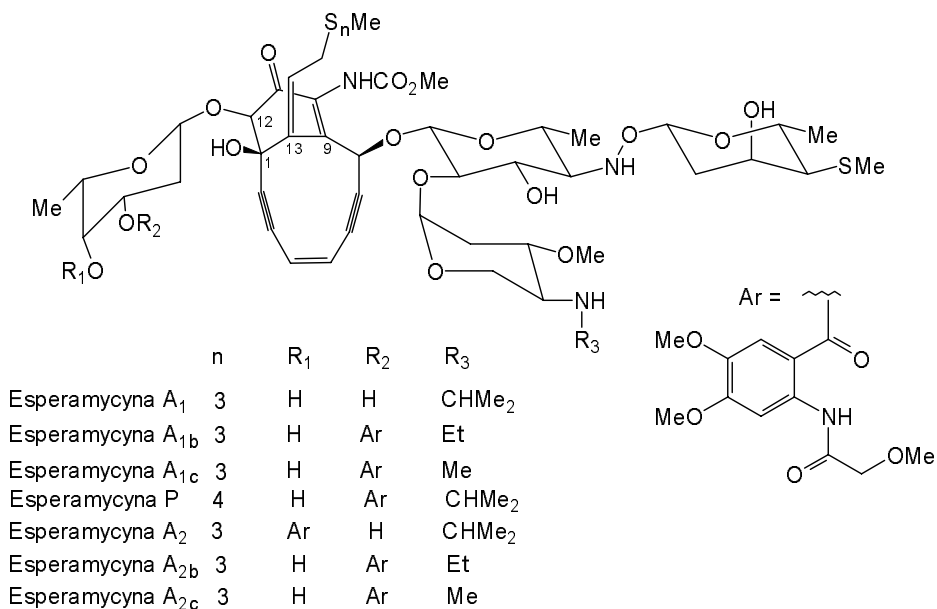
rzeniem dirodnika **6-C**. Powstały rodnik kalicheamycyny odrywa atomy wodoru z łańcucha DNA od C-5' lub C-4', najczęściej z cząsteczki cytydyny w sekwencji 5'-TCCT-3', zapoczątkowując proces rozzerwania dwóch nici DNA [71, 76, 77]. W ten sposób **6-C** przechodzi w trwały układ **19**.



Rysunek 13. Mechanizm działania kalicheamycyn **6**

Esperamycyny

Esperamycyny **8** zostały wyizolowane z bakterii *Actinomadura verrucosospora* w roku 1985, a struktura została ustalona dwa lata później [16, 17, 78]. Nazwa pochodzi od miasta w Argentynie, Pto Esperanza, gdzie odkryto szczepy bakterii, z których została wyizolowana. W skład tej grupy wchodzi 7 przedstawicieli (Rys. 14) [16, 79].

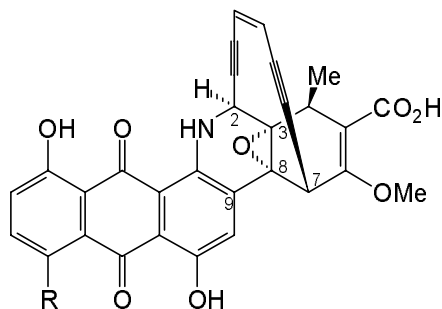


Rysunek 14. Struktury cząsteczek esperamycyn 8

Esperamycyny **8** wykazują, podobnie jak kalicheamycyny **6**, bardzo wysoką aktywność cytotoksyczną wobec komórek różnych linii nowotworowych, takich jak np. P388, B16 i M5076, w dawkach w zakresie 100 ng/kg [80]. Budową i mechanizmem działania również przypominają kalicheamycyny. Powodują przecinanie jednej lub dwóch nici DNA, jednak z mniejszą selektywnością działania niż kalicheamycyny. Preferowanymi miejscami przecięcia są T > C > A > G [80, 81].

Dynemycyny

Dynemycyna A **7** została wyizolowana z bakterii *Micromonospora chersina* wyhodowanej z próbki ziemi pobranej w stanie Gujarat w Indiach [20, 21], a deosydynemycyna A z *Micromonospora globosa* w 1990 roku (Rys. 15) [22]. Dynemycyny **7** mają cechy strukturalne zarówno antracyklinowych leków przeciwnowotworowych (antybiotyków antracyklinowych – np. daunorubicyny), jak i enodiiynowych.



Dynemycyna A R = OH

Deoksydynemycyna A R = H

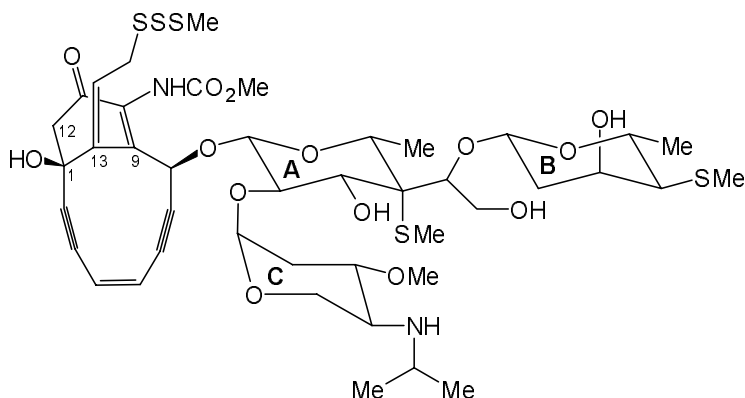
Rysunek 15. Struktury cząsteczek dynemycyny A i deoksydynemycyny A 7

Dynemycyny **7** wykazują wysoką aktywność przeciwbakteryjną i przeciwnowotworową na poziomie $IC_{50} = 14\text{--}48$ mM wobec komórek białaczki P388 i czerniaka B16 [20, 21]. Dynemycyna A **7** powoduje przecinanie jednej lub dwóch nici DNA [82]. Mechanizm działania polega na interkalacji cząsteczki antybiotyku do mniejszej bruzdy DNA, bioredukcji chinonu do hydrochinonu, otwarciu pierścienia epoksydowego, cykloaromatyzacji Bergmana z utworzeniem dirodnika, który odrywa dwa atomy wodoru od łańcucha DNA indukując proces jego rozerwania [83–85]. Uprzywilejowane miejsca przecinania nici DNA przez dynemycynę A **7** znajdują się po stronie 3' zasad purynowych (w kolejności $G \gg A$), a mianowicie 5'-GC-3', 5'-GT-3', 5'-AT-3', 5'-AG-3' [82].

Namenamycyna

Namenamycyna **9** (Rys. 16) została wyizolowana z bardzo małą wydajnością $10^{-4}\%$ w 1996 roku z morskich osłonicy *Polysyncraton lithostrotum* na wyspie Namanalala z archipelagu wysp Fiji [29]. Namenamycyna **9** posiada podobną budowę do kalicheamycyny **6**. Dwa elementy strukturalne, aglikon i trisulfid, są identyczne. Różnice pojawiają się w trzecim elemencie budowy tj. reszcie cukrowej. Namenamycyna **9** posiada tylko trzy reszty cukrowe (A, B, C) połączone wiązaniem C–O przy braku wiązania N–O występującego w przypadku kalicheamycyny **6**. Namenamycyna **9** nie posiada heksapodstawionego pierścienia benzenowego, który w kalicheamycynie **6** znajduje się przy pierścieniu cukrowym B. Ta różnica w budowie jest prawdopodobnie odpowiedzialna za inną specyficzność wiązania się do łańcucha DNA, która dla namenamycyny **9** dotyczy sekwencji 5'-TTT-3' (dla kalicheamycyny **6** 5'-TCCT-3'). Namenamycyna posiada wysoką aktywność przeciwbakteryjną np. MIC = 0,12 mg/ml wobec *E. coli*. Dla porównania: dla penicylin G MIC = 32 mg/ml wobec *E. coli*. Cytotoksyczność namenamycyny **9** jest również

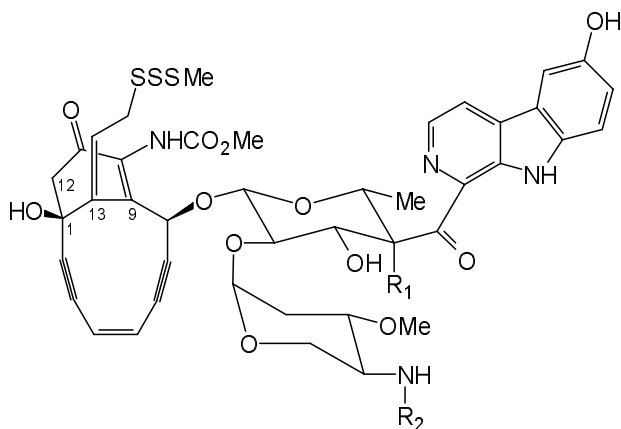
bardzo wysoka. W badaniach *in vitro* IC_{50} wobec komórek P388 kształtuje się na poziomie 3,5 ng/ml [29].



Rysunek 16. Struktura cząsteczki namenamycyny 9

Sziszymycyny

Do ostatnio odkrytych antybiotyków enodiynowych należą sziszymycyny A-C (ang. *shishijimicins*) **10** (Rys. 17), wyizolowane w Japonii w 2003 roku z morskich osłonicek *Dimemnum proliferum* [30]. Budową przypominają namenamycynę **9**. Jedyną różnicą strukturalną polega na zastąpieniu jednej reszty cukrowej podstawnikiem 6'-hydroksy- β -karbolin-1'-ylowym, niespotykanym do tej pory w antybiotykach enodiynowych. Przypuszcza się, że może to być przyczyną innej specyficzności wiązania się z łańcuchem DNA aniżeli w przypadku kalicheamycyny **6** i namenamycyny **9**. Sziszymycyny **10** wykazują niezwykle wysoką aktywność cytotoksyczną. W testach *in vitro* wobec komórek 3Y1, Hela i P388 sziszymycyna A jest ponad 10 razy bardziej aktywna od namenamycyny i ponad 7–100 tys. razy bardziej aktywna od adriamycyny [30].



A. $R_1 = SMe, R_2 = i\text{-Pr}$

B. $R_1 = H, R_2 = i\text{-Pr}$

C. $R_1 = SMe, R_2 = Et$

Rysunek 17. Struktury cząsteczek szizumycyn **10**

UWAGI KOŃCOWE

Wobec braku możliwości izolacji wystarczających ilości antybiotyków enodiy-nowych ze źródeł naturalnych, stosunkowo szybko podjęto próby opracowania ich totalnej syntezy. Ze względu na skomplikowaną strukturę tego typu związków, zadanie to należałoby oceniać w kategoriach wyzwania intelektualnego a nie metody produkcji. Sukcesem zakończyły się próby syntezy totalnej kalicheumycyny **6** [86, 87] i dynemycyny **7** [88], ale ze względu na wieloetapowy ich przebieg (22–37 etapów) i niskie końcowe wydajności (0,2–0,9%), w dalszym ciągu nie jest możliwe otrzymywanie antybiotyków enodiy-nowych na większą skalę. Spośród znanych obecnie ponad 20 naturalnych antybiotyków enodiy-nowych dwa z nich, tj. koniugat neokarcynostatyny z kopolimerem styrenu i kwasu maleinowego (w Japonii) [89] i esperamycyna (w USA) [12], znajdują się na etapie zaawansowanych badań klinicznych. Wprowadzenie do praktyki klinicznej kalicheumycyny, ze względu na jej bardzo wysoką toksyczność i brak selektywności działania, jest raczej mało prawdopodobne. Natomiast znaczne postępy poczyniono w zakresie połączenia antybiotyków enodiy-nowych z odpowiednimi przeciwciałami monoklonalnymi, które spełniają rolę czynników transportowych, ukierunkowanych na odpowiednie antygeny. Jest to tzw. mechanizm konia trojańskiego. Tego typu kompleks lek-przeciwciało warunkuje wysoką specyficzność działania i jest mniej toksyczny. Przykładem może być koniugat przeciwciała monoklonalne HuM195 (specyficzne

do antygeny CD33 obecnemu na prekursorowych komórkach mieloidalnych) z kalicheamycyną [89–92]. Po związaniu się przeciwciała z antygenem CD33 kompleks wnika do wnętrza komórki, gdzie uwalnia się kalicheamycyna. Ten nowy preparat, gemtuzumab (CMA-676), został w roku 2000 dopuszczony przez FDA pod handlową nazwą MyloTarg™ do leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej (AML) u pacjentów powyżej 60 roku życia po pierwszym nawrocie choroby, którzy nie kwalifikują się do chemioterapii [90–92]. Prowadzone są również intensywne badania kliniczne koniugatów kalicheamycyny z przeciwciałem anti-MUC-1 (preparat oznaczony symbolem CMB-401) w leczeniu nabłonkowego raka jajników oraz kalicheamycyna-CD22 (CMC-544) w leczeniu nieziarniczego chłoniaka z limfocytów B [89–92]. Potencjalnymi kandydatami do stosowania klinicznego są również koniugaty przeciwciał monoklonalnych z lidamycyną [89].

Mała dostępność naturalnych antybiotyków enodiynowych, ich wysoka toksyczność przy niskiej selektywności działania były bezpośrednimi przyczynami rozpoczęcia badań nad syntezą nowych, o prostej budowie analogów i układów modelowych o podobnym mechanizmie działania zarówno o budowie cyklicznej, jak i acyklicznej. W poszukiwaniach coraz lepiej działających i łatwo dostępnych pochodnych enodiynowych stosuje się metody syntezy chemicznej [93–109] i biosyntezy [110–114]. Syntetyczne układy enodiynowe wykorzystuje się do otrzymywania koniugatów ze związkami biologicznie aktywnymi, np. steroidami [115–117], netropsyną [118, 119], dystamycyną [120], aminokwasami [121], poliaminami [122]. Poszukuje się nowych celów molekularnych ich działania, np. RNA [123–125] czy topoizomeraza I [126], wykorzystuje się strategię aktywacji enzymatycznej [127, 128], podejmuje się próby funkcjonalizowania stosowanych obecnie leków przeciwnowotworowych farmakoforem enodiynowym (np. taksamycyna – hybryd taksolu i enodiynu) [129–131].

Odkrycie antybiotyków enodiynowych zwiększyło potencjał preparatów cytotoksycznych i należy mieć nadzieję, że w niedługim czasie tego typu pochodne znajdą znacznie szersze zastosowanie w chemioterapii nowotworów.

PODZIĘKOWANIE

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2006–2008 (projekt badawczy nr N405 036 31/2655).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] *Rocznik Statystyczny RP*, GUS, Warszawa, 2005.
- [2] A. Danysz, *Farm. Pol.*, 1996, **52**, 850.
- [3] R. W. Ruddon, *Cancer Biology*, 3rd Edition, Oxford University Press, New York, 1995.

- [4] <http://www.dfri.harvard.edu>
- [5] I. Korzeniewska-Rybicka, *Farm. Pol.*, 1996, **52**, 840.
- [6] J.M. Pezzuto, *Biochem. Pharm.* 1997, **53**, 121.
- [7] H. Yuan, *Studies on the chemistry of paclitaxel, Dissertation*, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, 1998.
- [8] N.H. Oberlies, S. Flora, A.L. Weaver, *Chem. Int.*, 2003, **25**, 4.
- [9] G.M. Cragg, D.J. Newman, K.M. Snader, *J. Nat. Prod.*, 1997, **60**, 52.
- [10] K.C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1991, **30**, 1387.
- [11] J.W. Grissom, G.U. Gunawardena, D. Klingberg, D. Huang, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 6453.
- [12] G.B. Jones, *F.S. Found. Curr. Pharm. Design*, 2002, **8**, 2415.
- [13] W.-M. Dai, *Curr. Med. Chem.*, 2003, **10**, 2265.
- [14] N. Ishida, K. Miyazaki, M. Kumagai, M. Rikimaru, *J. Antibiot.*, 1965, **18**, 68.
- [15] M. Konishi, H. Ohkuma, K. Saitoh, H. Kawaguchi, J. Golik, G. Dubay, G. Groenewold, T.W. Doyle, *J. Antibiot.*, 1985, **38**, 1605.
- [16] J. Golik, J. Clardy, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Konishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T.W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 3461.
- [17] J. Golik, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Konishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T.W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 3462.
- [18] M.D. Lee, T.S. Dunne, M.M. Siegel, C.C. Chang, G.O. Morton, D.B. Borders, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 3464.
- [19] M.D. Lee, T.S. Dunne, M.M. Siegel, C.C. Chang, G.O. Morton, D.B. Borders, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 3466.
- [20] M. Konishi, H. Ohkuma, K. Matsumoto, T. Tsuno, H. Kamei, T. Miyaki, T. Oki, H. Kawaguchi, G.D. VanDuyne, J. Clardy, *J. Antibiot.*, 1989, **42**, 1449.
- [21] M. Konishi, H. Ohkuma, T. Tsuno, T. Oki, G.D. VanDuyne, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 3715.
- [22] N. Shiomi, H. Linuma, H. Nakagawa, M. Hamada, S. Hattori, H. Nakamura, T. Takeuchi, Y. Iitaka, *J. Antibiot.*, 1990, **43**, 1000.
- [23] K.S. Lam, G.A. Hesler, D.R. Gustavson, A.R. Crosswell, J.M. Veitch, S. Forenza, K. Tomita, *J. Antibiot.*, 1991, **44**, 472.
- [24] J.E. Leet, D.R. Schroeder, S.J. Hofstead, J. Golik, K.L. Colson, S. Huang, S.E. Klohr, T.W. Doyle, J.A. Matson, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 7946.
- [25] J.L. Hu, Y.C. Xue, R. Zhang, T. Otani, Y. Minami, Y. Yamada, T. Marunaka, *J. Antibiot.*, 1988, **41**, 1575.
- [26] T. Otani, Y. Minami, T. Marunaka, R. Zhang, M.Y. Xie, *J. Antibiot.*, 1988, **41**, 1580.
- [27] M. Hanada, H. Ohkuma, T. Yonemato, K. Tomita, M. Ohbayashi, H. Kamei, T. Miyaki, M. Konishi, H. Kawaguchi, S. Forenza, *J. Antibiot.*, 1991, **44**, 403.
- [28] T. Ando, M. Ishii, T. Kajiura, T. Kameyama, K. Miwa, Y. Sugiura, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 6495.
- [29] L.A. McDonald, T.L. Capson, G. Krishnamurthy, W-D. Ding, G.A. Ellestad, V.S. Bernan, W.M. Maiese, P. Lassota, C. Discafani, R.A. Kramer, C.M. Ireland, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 10898.
- [30] N. Oku, S. Matsunaga, N. Fusetani, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 2044.
- [31] J. Mayer, F. Sondheimer, *J. Am. Chem. Soc.*, 1966, **88**, 603.
- [32] R.R. Jones, R.G. Bergman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 660.
- [33] H.H. Wenk, M. Winkler, W. Sander, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 502.
- [34] A.G. Myers, P.S. Dragovich, E.Y. Kuo, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 9369.
- [35] W-C. Chen, J-W. Zou, C-H. Yu, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 3663.

- [36] P.W. Musch, C. Remenyl, H. Helten, B. Engels, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 1823.
- [37] B.P. Warner, S.P. Millar, R.D. Broene, S.L. Buchwald, *Science*, 1995, **269**, 814.
- [38] Y. Sugiura, T. Shiraki, M. Konishi, T. Oki, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1990, **87**, 3831.
- [39] M.F. Semmelhack, J. Gallagher, D. Cohen, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 1521.
- [40] K. Edo, M. Mizugaki, Y. Koide, H. Seto, K. Furihata, N. Otake, N. Ishida, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 331.
- [41] N. Sakata, S. Minamitani, T. Kanbe, M. Hori, M. Hamada, K. Edo, *Biol. Pharm. Bull.*, 1993, **16**, 26.
- [42] A. Teplykov, G. Obmolova, K. Wilson, K. Kuromizu, *Eur. J. Biochem.*, 1993, **213**, 737.
- [43] N. Zein, A.M. Casazza, T.W. Doyle, J.E. Leet, D.R. Schroeder, W. Solomon, S.G. Nadler, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, **90**, 8009.
- [44] N. Zein, P. Reiss, M. Bernatowicz, M. Bolgar, *Chem. Biol.*, 1995, **2**, 451.
- [45] A.G. Myers, *Tetrahedron Lett.*, 1987, **39**, 4493.
- [46] A.G. Myers, P.J. Proteau, T.M. Handel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 7212.
- [47] A.G. Myers, P.J. Proteau, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 1146.
- [48] L.S. Kappen, I.H. Goldberg, *Biochemistry*, 1983, **22**, 4872.
- [49] D.-H. Chin, L.S. Kappen, I.H. Goldberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1987, **84**, 7070.
- [50] J.E. Leet, D.R. Schroeder, D.R. Langley, K.L. Colson, S. Huang, S.E. Klohr, M.S. Lee, J. Golik, S.J. Hofstead, T.W. Doyle, J.A. Matson, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 8432.
- [51] N. Zein, J.E. Leet, D.R. Schroeder, W. Solomon, T.W. Doyle, A.M. Casazza, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, **90**, 2822.
- [52] K.L. Constantine, K.L. Colson, M. Wittekind, M.S. Friedrichs, N. Zein, J. Tuttle, D.R. Langley, J.E. Leet, D.R. Schroeder, K.S. Lam, *Biochemistry*, 1994, **33**, 11438.
- [53] Y.-S. Zhen, X.-Y. Ming, B. Yu, T. Otani, H. Saito, Y. Yamada, *J. Antibiot.*, 1989, **42**, 1294.
- [54] K. Yoshida, Y. Minami, R. Azuma, M. Sakei, T. Otani, *Tetrahedron Lett.*, 1993, **34**, 2637.
- [55] K. Iida, T. Ishii, M. Hiramata, T. Otani, Y. Minami, K. Yoshida, *Tetrahedron Lett.*, 1993, **34**, 4079.
- [56] T. Otani, Y. Minami, T. Marunaka, R. Zhang, M.-Y. Xie, *J. Antibiot.*, 1988, **41**, 1696.
- [57] T. Otani, T. Yasuhara, Y. Minami, T. Shimazu, R. Zhang, M.-Y. Xie, *Agric. Biol. Chem.*, 1991, **55**, 407.
- [58] Q.-Y. He, Y.-Y. Liang, D.-S. Wang, D.-D. Li, *Int. J. Oncol.*, 2003, **20**, 261.
- [59] Z. Wang, Q. He, Y. Liang, D. Wang, Y.-Y. Li, D. Li, *Biochem. Pharmacol.*, 2003, **65**, 1767.
- [60] Y. Sugiura, T. Matsumoto, *Biochemistry*, 1993, **21**, 5548.
- [61] M.M. McHugh, J.M. Woynarowski, L.S. Gawron, T. Otani, T. Beerman, *Biochemistry*, 1995, **34**, 1805.
- [62] T. Matsumoto, Y. Okuno, Y. Sugiura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, **195**, 659.
- [63] D.R. Schroeder, K.L. Colson, S.E. Klohr, N. Zein, D.R. Langley, M.S. Lee, J.A. Matson, T.W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 9351.
- [64] N. Zein, K.L. Solomon, K.L. Colson, D.R. Schroeder, *Biochemistry*, 1995, **34**, 11591.
- [65] N. Miyagaga, D. Sasaki, M. Matsuoka, M. Imanishi, T. Ando, Y. Sugiura, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2003, **306**, 87.
- [66] M.D. Lee, J.K. Manning, D.R. Williams, N. Kuck, R.T. Testa, D.B. Borders, *J. Antibiot.*, 1989, **42**, 1070.
- [67] W.M. Maiese, M.P. Lechevalier, H.A. Lechevalier, J. Korshalla, N.A. Kuck, A. Fantini, M.J. Wildey, J. Thomas, M. Greenstein, *J. Antibiot.*, 1989, **42**, 558.
- [68] M.D. Lee, T.S. Dunne, C.C. Chang, M.M. Siegel, G.O. Morton, G.A. Ellestad, W.J. McGahren, D.B. Borders, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 985.
- [69] N. Zein, A.M. Sinha, W.J. McGahren, G.A. Ellestad, *Science*, 1988, **240**, 1198.
- [70] N. Zein, M. Poncin, R. Nilakantan, G.A. Ellestad, *Science*, 1989, **244**, 697.

- [71] N. Zein, W.J. McGahren, G.O. Morton, J. Ashcroft, G.A. Ellestad, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 6888.
- [72] S. Walker, R. Landovitz, W.-D. Ding, G.A. Ellestad, D. Kahne, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1992, **89**, 4608.
- [73] W.-D. Ding, G. A. Ellestad, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 6617.
- [74] S. Walker, K.G. Valentine, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 6428.
- [75] S. Walker, J. Murnick, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 7954.
- [76] J.J. De Voss, C.A. Townsend, W.-D. Ding, G.O. Morton, G.A. Ellestad, N. Zein, A.B. Tabor, S.L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 9669.
- [77] J.J. Hangeland, J.J. De Voss, J.A. Heath, C.A. Townsend, W.-D. Ding, J.S. Ashcroft, G.A. Ellestad, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 9200.
- [78] M. Konishi, H. Ohkuma, K. Saitoh, H. Kawaguchi, J. Golik, G. Dubay, G. Groenewold, B. Krishnan, T. Doyle, *J. Antibiot.*, 1985, **38**, 1605.
- [79] J. Golik, H. Wong, D.M. Vyas, T.W. Doyle, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 2497.
- [80] B.H. Long, J. Golik, S. Forenza, B. Ward, R. Rehfuß, J.C. Dabrowiak, J.J. Castino, S.T. Musial, K.W. Brookshire, T. Doyle, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1989, **86**, 2.
- [81] Y. Sugiura, Y. Uesawa, Y. Takahashi, J. Kuwahara, J. Golik, T.W. Doyle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, **86**, 7672.
- [82] Y. Sugiura, T. Shiraki, M. Konishi, T. Oki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**, 3831.
- [83] T. Kusakabe, K. Maekawa, A. Ichikawa, M. Uesugi, Y. Sugiura, *Biochemistry*, 1993, **32**, 11669.
- [84] P.A. Wender, R.C. Kelly, S. Beckham, B.L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, **88**, 8835.
- [85] M.F. Semmelhack, J. Gallagher, D. Cohen, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 1521.
- [86] K.C. Nicolaou, C.W. Hummel, E.N. Pitsinos, M. Nakada, A.L. Smith, K. Shibayama, H. Saimoto, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 10082.
- [87] K.C. Nicolaou, C.W. Hummel, M. Nakada, K. Shibayama, E.N. Pitsinos, H. Saimoto, Y. Mizuno, K.-U. Baldenius, A.L. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 7625.
- [88] M.D. Shair, T.Y. Yoon, S.J. Danishefsky, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1995, **34**, 1721.
- [89] U. Galm, M.H. Hager, S.G. Van Lanen, J. Ju, J.S. Thorson, B. Shen, *Chem. Rev.* 2005, **105**, 739.
- [90] J.S. Thorson, E.L. Sievers, J. Ahlert, E. Shepard, R.E. Whitwam, K.C. Onwueme, M. Ruppen, *Curr. Pharm. Des.*, 2000, **6**, 1841.
- [91] J.M. Lambert, *Curr. Opin. Pharm.*, 2005, **5**, 543.
- [92] P. Polakis, *Curr. Opin. Pharm.*, 2005, **5**, 382.
- [93] W.-M. Dai, K.W. Lai, A. Wu, W. Hamaguchi, M.Y.H. Lee, L. Zhou, A. Ishii, S. Nishimoto, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 758.
- [94] W.M. David, D. Kumar, S.M. Kerwin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2000, **10**, 2509.
- [95] D. Kumar, W.M. David, S.M. Kerwin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001, **11**, 2971.
- [96] H. Wandel, O. Wiest, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 388.
- [97] W.-M. Dai, Y. Tachi, S. Nishimoto, X. Zhong, Z. Guo, *Lett. Drug Design Discovery*, 2004, **1**, 69.
- [98] M. Klein, M. Zabel, G. Bernhardt, B. Konig, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 9379.
- [99] O. Provot, A. Giraud, J.-F. Peyrat, M. Alami, J.-D. Brion, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 8547.
- [100] Z. Zhao, J.G. Peacock, D.G. Gubler, M.A. Peterson, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 1373.
- [101] L. Banfi, G. Guanti, A. Basso, *Eur. J. Org. Chem.*, 2000, 939.
- [102] I. Ueda, U.K. Miyawaki, T. Sugane, Y. Sakurai, Y. Wada, M. Futai, *Pharmazie*, 2000, **55**, 192.
- [103] G.K. Tranmer, W. Tam, *Synthesis*, 2002, 1675.
- [104] S. Braverman, M. Cherkinsky, M.L. Birsa, Y. Zafrani, *Eur. J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 3198.
- [105] W. Tuntiwechapikul, W.M. David, D. Kumar, M. Salazar, S.M. Kerwin, *Biochemistry*, 2002, **41**, 5283.
- [106] P.J. Benites, D.S. Rawat, J.M. Zaleski, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **122**, 7208.

- [107] D.S. Rawat, P.J. Benites, C.D. Incarvito, A.L. Rheingold, J.M. Zaleski, *Inorg. Chem.*, 2001, **40**, 1846.
- [108] B. Konig, *Eur. J. Org. Chem.*, 2000, 381.
- [109] Y. Tachi, W.-M. Dai, K. Tanabe, S. Nishimoto, *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, **14**, 3199.
- [110] O.D. Hensens, J.-L. Giner, I.H. Goldberg, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 3295.
- [111] K.S. Lam, J.A. Veitch, J. Golik, B. Krishnan, S.E. Klohr, K.J. Volk, S. Forenza, T.W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 12340.
- [112] Y. Tokiwa, M. Miyoshi-Saitosh, H. Kobayashi, R. Sunaga, M. Konishi, T. Oki, S. Iwasaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 4107.
- [113] W. Liu, S.D. Christenson, S. Standage, B. Shen, *Science*, 2002, **297**, 1170.
- [114] W. Liu, B. Shen, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, **44**, 382.
- [115] G.B. Jones, G. Hynd, J.M. Wright, A. Purohit, G.W. Plourde II, R.S. Huber, J.E. Mathews, A. Li, M.W. Kilgore, G.J. Bublely, M. Yancisin, M.A. Brown, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 3688.
- [116] G.B. Jones, R.S. Huber, J.E. Mathews, A. Li, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 3643.
- [117] A. Purohit, J. Wyatt, G. Hynd, J. Wright, A. El-Shafey, N. Swamy, R. Ray, G.B. Jones, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 8579.
- [118] M.D. Wittman, J.F. Kadow, D.R. Langley, D.M. Vyas, W.C. Rose, W. Solomon, N. Zein, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 1049.
- [119] M.F. Semmelhack, J.J. Gallagher, W. Ding, G. Krishnamurthy, R. Babine, G.A. Ellestad, *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 4357.
- [120] M. Tokuda, K. Fujiwara, T. Gomibuchi, M. Hirama, M. Uesugi, Y. Sugiura, *Tetrahedron Lett.*, 1993, **34**, 669.
- [121] G. Plourde II, A. El-Shafey, F.S. Found, A.S. Purohit, G.B. Jones, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002, **12**, 2985.
- [122] I. Suzuki, A. Shigenaga, H. Nemoto, M. Shibuya, *Tetrahedron Lett.*, 2004, **45**, 1955.
- [123] J.-M.A. Battigello, M. Cui, S. Roshong, B.J. Carter, *Bioorg. Med. Chem.*, 1995, **3**, 839.
- [124] Y. Sugiura, R. Totsuka, M. Araki, Y. Okuno, *Bioorg. Med. Chem.*, 1995, **3**, 839. *Bioorg. Med. Chem.*, 1997, **5**, 1229.
- [125] R. Totsuka, Y. Aizawa, M. Uesugi, Y. Okuno, T. Matsumoto, Y. Sugiura, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1995, **208**, 168.
- [126] C.-F. Lin, P.-C. Hsieh, W.-D. Lu, H.-F. Chiu, M.-J. Wu, *Bioorg. Med. Chem.*, 2001, **9**, 1707.
- [127] M.P. Hay, W.R. Wilson, W.A. Denny, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 2829.
- [128] M.P. Hay, W.R. Wilson, W.A. Denny, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1999, **9**, 3417.
- [129] Y.-F. Lu, C.W. Harwig, A.G. Fallis, *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 4202.
- [130] C.W. Harwig, S. Py, A.G. Fallis, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 7902.
- [131] S. Py, C.W. Harwig, S. Banerjee, D.L. Brown, A.G. Fallis, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 6139.

Praca wpłynęła do Redakcji 19 marca 2007

NOWE WYDAWNICTWA



Stanley E. Manahan, *Toksykologia środowiska. Aspekty chemiczne i biochemiczne*. tłumaczenie Władysław Boczoń i Henryk Koroniak, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006, str. 530, oprawa miękka.

„Toksykologia środowiska. Aspekty chemiczne i biochemiczne” jest tłumaczeniem trzeciego wydania angielskiego podręcznika napisanego przez znanego i uznanego autora, profesora chemii na Uniwersytecie Missouri w Columbii, S.E. Manahana, który specjalizuje się w tematyce szeroko pojętej chemii środowiska. Zainteresowania autora obejmują szeroki zakres zagadnień związanych z ekologią, przyjazną środowisku technologią chemiczną, zagospodarowaniem odpadów i analizą chemiczną.

Omawiana książka jest bardzo obszernym opracowaniem (530 stron) i może służyć zarówno jako podręcznik dla studentów chemii, biochemii, biologii, ochrony środowiska i nauk pokrewnych, jak i jako kompendium wiedzy o toksykologii dla osób zainteresowanych tą dziedziną. Jest to pierwsza tego rodzaju pozycja w języku polskim i myślę, że spotka się z bardzo dobrym odbiorem czytelników. Niewątpliwym walorem książki jest oparty na wiedzy chemicznej jasny i precyzyjny sposób prezentacji zagadnień dotyczących toksykologii. Liczne wzory chemiczne i równania reakcji znakomicie pomagają czytelnikowi w zrozumieniu budowy związków toksycznych i mechanizmu ich działania w środowisku i w organizmach żywych.

Książka traktuje nie tylko o toksycznym działaniu pierwiastków i związków organicznych, metalo-organicznych i nieorganicznych, ale w pierwszych rozdziałach przedstawia także podstawowe zagadnienia dotyczące procesów chemicznych. Z konieczności opis budowy atomu, wiązań chemicznych, reakcji i równowag oraz charakterystyka roztworów nie mogą być zbyt obszerne, ale należy podkreślić, że autor umiejętnie wybrał i jasno przedstawił te wiadomości podstawowe, które są niezbędne do zrozumienia dalszych, bardziej specjalistycznych rozdziałów. Omówienie podstaw chemii organicznej w kolejnym rozdziale jest uzasadnione tym, że większość substancji obecnych w organizmie żywym, a także większość substancji toksycznych, stanowią związki organiczne. Kolejne rozdziały poświęcone są charakterystyce środowiska naturalnego, wybranym zagadnieniom biochemii oraz procesom metabolicznym węglowodanów tłuszczów i białek. Rozdziały 5 i 6 dotyczą ściślej toksykologii, zaczynając od ekotoksykologii z uwzględnieniem biodegradacji i biomarkerów, poprzez podstawowe pojęcia stosowane w toksykologii, jak czynniki toksyczne, receptory, zatrucia i odtrucia, reakcje fizjologiczne. W rozdziale 7 zdefiniowana jest szczegółowo chemia toksykologiczna, która dotyczy oddziaływania związków toksycznych na tkankę biologiczną i układy żywe. Korzystając z wiedzy przedstawionej w poprzednich rozdziałach autor omawia procesy, którym ulegają ksenobiotyki w organizmie. Stosuje tutaj równania reakcji i wzory chemiczne, co sprawia, że opis jest konkretny i zrozumiały dla chemika. Rozdziały 8 i 9 są poświęcone genetycznym aspektom toksykologii i reakcjom organizmu na substancje toksyczne. Każdy z następujących

rozdziałów, 10–18, poświęcony jest przedstawieniu toksycznego działania wybranych pierwiastków lub związków chemicznych, m.in. czytelnik znajdzie tu wiadomości o toksycznych związkach nieorganicznych, metaloorganicznych, związkach organicznych, siarkoorganicznych i fosforoorganicznych. Charakterystyka tych związków zawiera liczne wzory strukturalne i równania odpowiednich reakcji. Pozwala to zauważyć charakterystyczne elementy budowy poszczególnych grup związków toksycznych, w tym tak ważnych i popularnych jak insektycydy czy pestycydy. Autor nie pominął także związków toksycznych pochodzenia naturalnego i w rozdziale 20 przedstawił klasyfikację tych substancji oraz mechanizm ich działania. Można się dowiedzieć o najważniejszych truciznach roślinnych, toksynach grzybowych, toksycznych glonach, jadach owadów, pajaków i gadów. Na zakończenie przedstawione są sposoby analizy ksenobiotyków i substancji toksycznych we krwi i innych materiałach biologicznych.

Dzięki przemyślanemu podejściu do tematu, autor zaprezentował niezwykle bogaty materiał w sposób profesjonalny a równocześnie przyjazny czytelnikowi. Podręcznik zasługuje na wysoką ocenę, jest napisany jasno, zrozumiałym językiem, jest bardzo dobrze przetłumaczony. Każdy rozdział kończy się spisem literatury uzupełniającej, zawierającej pozycje wydane w ostatnich latach. Bardzo cenne i pomocne jest także zamieszczenie po każdym rozdziale zestawu pytań i problemów.

Z pełnym przekonaniem można polecić go każdemu czytelnikowi zainteresowanemu toksycznymi właściwościami związków chemicznych obecnych w środowisku.

Anna Trzeciak

INFORMACJE

INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE SURFACTANTS AND DISPERSED SYSTEMS IN THEORY AND PRACTICE

„SURUZ 2007”

Zamek Książ, 22–24. 05. 2007 r.

Czwarta konferencja naukowa z cyklu „Surfaktanty i układy zdyspergowane w teorii i praktyce” została zorganizowana przez Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej. Na czele komitetu organizacyjnego i naukowego stanęła – jak poprzednio – niestrudzona animatorka tej imprezy, pani prof. dr hab. inż. Kazimiera A. Wilk. Konferencja została wpisana w sieć naukową: „Scientific Network Suruz: Surfactants and dispersed systems in theory and practice” (Contract No. INCO_CT – 2003 – 003355), i nabrała charakteru międzynarodowego. Jak już donosiłem wcześniej (Wiad. Chem. 2003, **57**, 792), na podobnej konferencji w Polanicy Zdroju w 2003 r. powstał projekt powołania tej sieci. Został on zrealizowany przez Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN w Krakowie. Na czele powstałego Konsorcjum stanął pan prof. dr hab. Kazimierz Małyś (z ww. Instytutu), a w skład Konsorcjum weszły zespoły badawcze z 14. jednostek naukowych: Akademii Górniczo-Hutniczej (Kraków), Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN (Kraków), Instytutu Elektrotechniki (Wrocław), Instytutu Odlewnictwa (Kraków) Politechniki Gdańskiej, Politechniki Krakowskiej, Politechniki Poznańskiej, Politechniki Radomskiej, Politechniki Szczecińskiej, Politechniki Warszawskiej, Politechniki Wrocławskiej, Uniwersytetu Adama Mickiewicza (Poznań), Uniwersytetu Jagiellońskiego (Kraków) i Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej (Lublin). Celem Sieci było ułatwienie współpracy jednostek naukowych, zajmujących się w kraju omawianą tematyką, a zwłaszcza wymiany informacji i wyników badań naukowych oraz umożliwienie młodym nau-

kowcom i doktorantom korzystania z warsztatów badawczych poszczególnych zespołów. W skład Sieci wchodziły 4 grupy tematyczne: (i) surfaktanty, adsorpcja, agregacja w roztworach, nanostruktury, cząsteczkowa samo-organizacja; (ii) mechanizmy interakcji i stabilności układów zdyspergowanych (piany, emulsje, suspensje); (iii) układy zdyspergowane w zastosowaniach przemysłowych i ochronie środowiska; (iv) biomedyczne zastosowania surfaktantów oraz układów zdyspergowanych (molekularna samo-organizacja, nierozpuszczalne monowarstwy, materiały biomedyczne, surfaktanty płucne).

Wymienionej problematyce odpowiadały 4 sekcje tematyczne, w których odbywały się obrady Konferencji. Prawie wszystkie wystąpienia oraz ich pełne teksty zostały przedstawione w jęz. angielskim. W sekcji: „Surfactants and dispersed systems – fundamentals” referaty plenarne wygłosili: prof. Zbigniew Adamczyk (Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN) – „Particles at interfaces. Interactions”; prof. Jerzy Zając (Université Montpellier 2, Francja) – „Surfactant adsorption and aggregation at the solid-aqueous solution interface: The current view and some applications”; prof. Pratap Bahadur (Veer Narmad South Gujarat University, Surat, India) – „Aggregation behaviour of block copolymers in aqueous solutions”. Ponadto wygłoszono 6 komunikatów oraz pokazano 31 plakatów z prac własnych. W sekcji: „Stability of dispersed systems” przedstawiono kolejne dwa referaty plenarne: prof. Thierry Vandamme (Université Louis Pasteur, Illkirch, Francja) – „Lipid-based drug delivery systems”; dr Michele Adler (Université de Marne la Vallée, Francja) – „Current developments in foams”; program sekcji dopełniało 8 ustnych doniesień z prac własnych i 18 plakatów. W sekcji: „Biological and biomedical properties” referaty plenarne wygłosili: prof. Pavol Balgavy (Comenius University, Bratislava, Słowacja) – „Effects of surfactants on the structure of model membranes”; doc. dr hab. Piotr Warszyński (Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN) – „Encapsulation by biocompatible polyelectrolyte multilayers”. Wysłuchano także 6 komunikatów i przedstawiono 22 plakaty prezentujące wyniki badań. Aż 5 referatów plenarnych wygłoszono w sekcji: „Performance properties and industrial applications”: prof. Paweł Pluciński (University of Bath, W. Brytania) – „Magnetic colloids for catalysis and separation”; prof. Jan Hupka (Politechnika Gdańska) – „The influence of AFFF agents on oily wastewater treatment”; dr Mariusz Kucharski (Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa, Wrocław) – „The adjuvants influence upon the herbicide behaviour”; prof. K. Mędrzycka (Politechnika Gdańska) – „On the mechanisms of soil remediation with the use of surfactants”; prof. Jan D. Miller (University of Utah, USA) – „Molecular dynamics simulation for the analysis of interfacial chemistry”. Tylko 3 prezentacje ustne zmieściły się w tej sekcji, a dopełniło ją 11 plakatów. Łącznie w konferencji wzięło udział 120 uczestników. Wszystkie doniesienia poddano ocenie recenzentów; zostały one zebrane w wydanym przez PALMApress (Wrocław) tomie „Proceedings”, liczącym 544 stron. Stanowić on będzie cenne źródło interesujących informacji dla zespołów, zajmujących się tą tematyką.

Przed Konferencją (w dn. 20–21.05. br.) odbyło się, w tym samym miejscu, Mikrosymposium Młodych Naukowców pt.: „Chemia i inżynieria koloidów”. Dało ono młodym naukowcom i doktorantom okazję do prezentacji uprawianej tematyki oraz uzyskanych wyników. W Mikrosymposium wzięło udział 45 osób (z Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN, Politechniki Gdańskiej, Politechniki Wrocławskiej, Uniwersytetu Adama Mickiewicza, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej). Uczestnicy przedstawili, w przybliżeniu po połowie w jęz. polskim i angielskim, 18 komunikatów. Mieli ponadto okazję uczestniczyć w dwóch dyskusjach panelowych, poświęconych nowym ideom dotyczącym wody (prowadzący: prof. prof.: B. Burczyk, A. Pomianowski, A. Sokołowski) oraz przyszłości układów zdyspergowanych (prowadzący: prof. prof.: J. Hupka, J.D. Miller, P. Pluciński, T. Vandamme). Teksty wszystkich wystąpień, w jęz. angielskim, zostały włączone do „Proceedings”.

Obecna Konferencja okazała się kolejnym sukcesem naukowym. Dała jej PT Uczestnikom okazję do zapoznania się z nowymi kierunkami badań i najnowszymi wynikami prac, realizowanych w ośrodkach, zajmujących się problematyką chemii i fizykochemii związków powierzchniowo czynnych oraz ich zastosowań. Tak, jak i poprzednie konferencje z tego cyklu, mogą zapisać na konto swych osiągnięć fakt, że coraz większa liczba prezentowanych prac była firmowana nazwiskami autorów, pochodzących z różnych zespołów. Takie kontakty okazały się bardzo inspirujące, a ich owocem jest coraz wyższy poziom osiągniętych rezultatów. Organizatorzy konferencji zadbali też o miłą atmosferę obrad, do czego przyczyniły się „towarzyskie przerywniki”: zwiedzanie stada ogierów (z możliwością jazdy konnej – dla odważnych), zwiedzanie komnat Zamku Książ oraz poznanie ich ciekawej historii, a także uroczysta kolacja. Nic dziwnego, że pod adresem pani prof. Kazimiery A. Wilk skierowano podziękowania dla Niej osobiście i dla całego Komitetu Organizacyjnego za trud zorganizowania tego spotkania, połączone z prośbą o podjęcie się organizacji następnej konferencji.

Bogdan Burczyk

INFORMACJE

INFORMACJA REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” w porozumieniu z Radą Redakcyjną kontynuuje inicjatywę podjętą na konferencji Dziekanów Wydziałów Chemicznych, która odbyła się w lutym 2007 roku w Poznaniu.

Zgodnie z tą inicjatywą poszczególne ośrodki chemiczne (przede wszystkim uczelniane) w Polsce mogą publikować w „Wiadomościach Chemicznych” informacje o swojej działalności.



Politechnika Wroclawska

Studia Doktoranckie na Wydziale Chemicznym

Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej ogłasza nabór na czteroletnie stacjonarne **STUDIA DOKTORANCKIE** w roku akademickim 2007/2008, w następujących dyscyplinach:

- **CHEMIA**, w tym specjalność **BIOTECHNOLOGIA**
- **INŻYNIERIA CHEMICZNA**
- **TECHNOLOGIA CHEMICZNA**, w tym **INŻYNIERIA MATERIAŁOWA**

Warunkami przyjęcia na studia są ukończone studia wyższe II stopnia i pozytywny wynik postępowania kwalifikacyjnego.

Zgłoszenia wraz z wymaganymi dokumentami należy składać w Dziale Nauczania Politechniki Wrocławskiej (Wybrzeże Wyspiańskiego 27, budynek A1, pokój 153) w dniach od 7 do 29 maja bieżącego roku.

Przewidywany termin rozmów kwalifikacyjnych: 18 - 20 czerwca.

Kandydaci zakwalifikowani na studia, którzy uzyskają wysoką lokatę w postępowaniu rekrutacyjnym, mogą otrzymać stypendium doktoranckie. Ponadto, zgodnie z Regulaminem Studiów Doktoranckich, doktoranci mogą ubiegać się o stypendia socjalne i naukowe.

Dodatkowe informacje o rekrutacji, w tym o potencjalnych promotorach, można uzyskać na stronach internetowych Studium Doktoranckiego Politechniki Wrocławskiej

(<http://www.doktoranci.pwr.wroc.pl>)

i Wydziału Chemicznego (<http://www.ch.pwr.wroc.pl>).



WYDZIAŁ CHEMII UNIwersYTETU WROCLAWSKIEGO zaprasza na bezpłatne kursy:

NOWOCZESNY PRACOWNIK LABORATORIUM

Szkolenie jest finansowane ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego (75%) oraz budżetu państwa (25%), realizowane pod nadzorem Dolnośląskiego Wojewódzkiego Urzędu Pracy w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego w punkcie:

Priorytet 2 *Wzmocnienie rozwoju zasobów ludzkich w regionach*

Działanie 2.1. Rozwój umiejętności powiązany z potrzebami regionalnego rynku pracy i możliwości kształcenia ustawicznego w regionie.

Celem szkoleń jest aktualizacja wiedzy w zakresie nowoczesnych metod analitycznych, przygotowanie metody pomiarowej do walidacji, projektowanie systemów bezpieczeństwa w laboratorium chemicznym.

Program szkoleń obejmuje 52 godziny zajęć w formie wykładów, warsztatów i laboratoriów.

Podczas szkoleń istnieje możliwość uzyskania certyfikatów biegłości analitycznej.

Uniwersytet Wrocławski
Wydział Chemii
ul. F. Joliot-Curie 14
50-383 Wrocław

