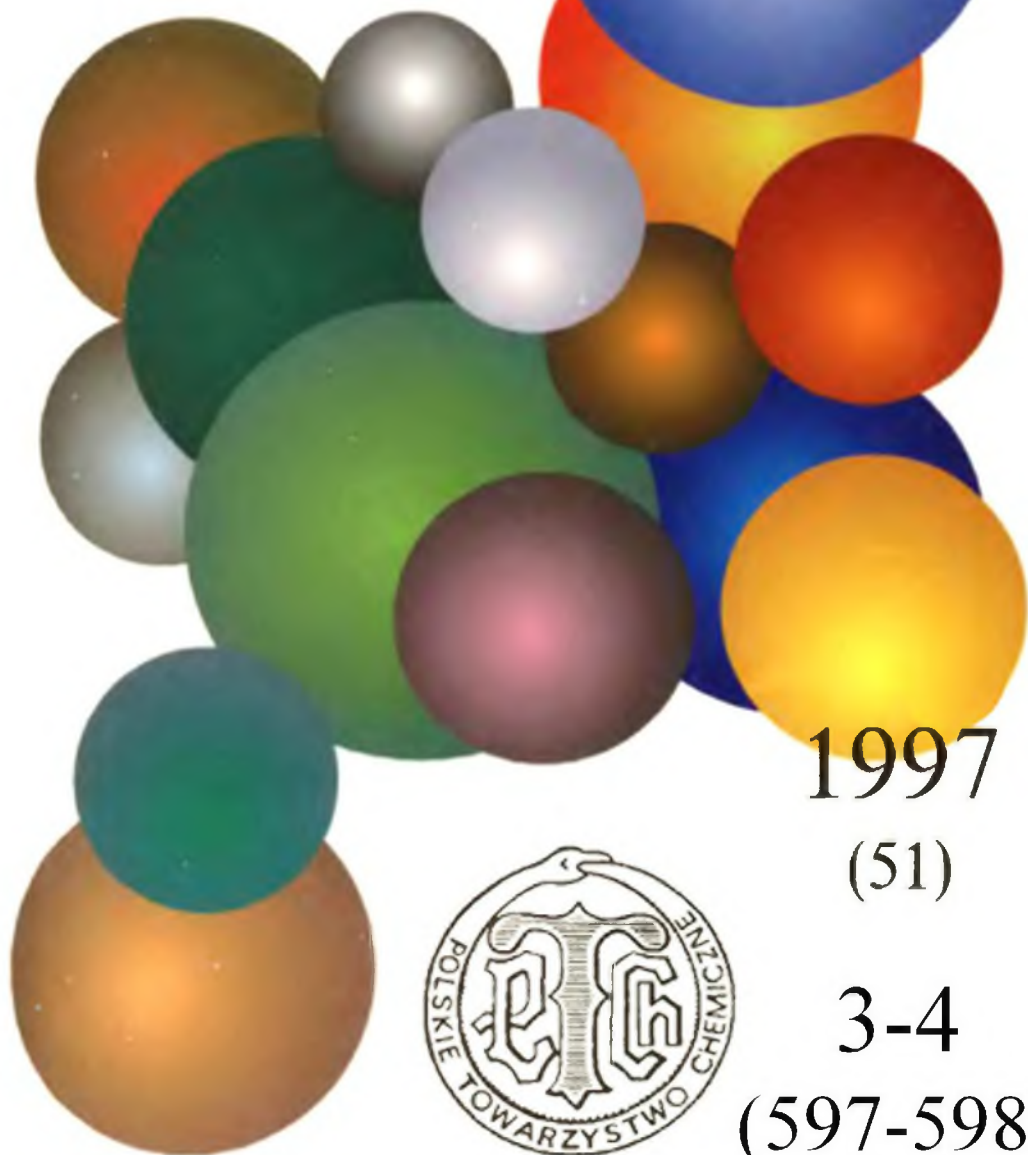


WIADOMOŚCI *chemiczne*



1997

(51)

3-4

(597-598)



CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez KBN

RADA REDAKCYJNA

**RYSZARD BODALSKI, EDWARD BOROWSKI, HENRYK BUCHOWSKI,
JÓZEF HURWIC, JERZY KONARSKI, JÓZEF KWIATKOWSKI, TADEUSZ LUTY,
LUCJAN PAWŁOWSKI, STANISŁAW PENCZEK, LUCJAN SOBCZYK (przewodniczący),
ROBERT TROĆ, KAZIMIERZ L. WIERZCHOWSKI**

Z REDAKCJĄ STAŁE WSPÓŁPRACUJĄ

**HENRYK GALINA (Rzeszów), MAREK K. KALINOWSKI (Warszawa),
BENIAMIN LENARCIK (Bydgoszcz), ZOFIA LIBUŚ (Gdańsk), JAN MAŁYSZKO (Kielce),
BOGDAN MARCINIEC (Poznań), ZOFIA MICHALSKA (Łódź),
ROMAN MIERZECKI (Warszawa), WŁADYSŁAW RUDZIŃSKI (Lublin),
ZOFIA STASICKA (Kraków), JAN SZYMANOWSKI (Poznań), JÓZEF ŚLIWIOK (Katowice)**

KOMITET REDAKCYJNY

**BOGDAN BURCZYK, JERZY P. HAWRANEK, ANDRZEJ JASIŃSKI, ADAM JEZIERSKI,
ADOLF KISZA, ZDZISŁAW LATAJKA, PRZEMYSŁAW MASTALERZ,
IGNACY Z. SIEMION, MIROSLAW SOROKA, MARIA SUSZYŃSKA**

REDAKTOR NACZELNY

JÓZEF J. ZIÓLKOWSKI

SEKRETARZ REDAKCJI

KRYSTYNA MARKSOWA

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
tel. 20 43 89, tel./fax 22 14 06

© Copyright by Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego Sp. z o.o., Wrocław 1997

REDAKTOR WYDAWNICTWA

AGNIESZKA FLASIŃSKA

REDAKTOR TECHNICZNY

BOŻENA SOBOTA

ISSN 0043-5104 ISBN 83-229-1558-6

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy w styczniu 1997

Skład, druk i oprawa: WROCŁAWSKA DRUKARNIA NAUKOWA

NOBEL 1996 W DZIEDZINIE CHEMII: FULERENY*

NOBEL PRIZE 1996 OF CHEMISTRY: FULLERENES

WSTĘP

Decyzją Królewskiej Szwedzkiej Akademii Nauk w 1996 r. Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii otrzymali: profesor Robert F. Curl Jr. z Rice University, Houston, USA; profesor Sir Harold W. Kroto z University of Sussex, Brighton, Wielka Brytania i profesor Richard E. Smalley z Rice University, Houston, USA, za odkrycie alotropowych odmian węgla, w których atomy tego pierwiastka wiążą się ze sobą w trójwymiarowe cząsteczki.

Robert F. Curl Jr. (Department of Chemistry, Rice University, P.O. Box 1892, Houston, TX 77251, USA) urodził się w Alice (stan Teksas, USA) w 1933 r. Doktorat otrzymał w 1957 r. na University of California w Berkeley. Od 1958 r. pracuje w Rice University, profesurę otrzymał w 1967 r.

Sir Harold W. Kroto (School of Chemistry and Molecular Sciences, University of Sussex, Brighton, Sussex BN1 9QJ, Wielka Brytania) urodził się w 1939 r. w Wisbech (hrabstwo Cambridgeshire, Wielka Brytania). Doktorat otrzymał na University of Sheffield w 1964 r. Trzy lata później przeniósł się na University of Sussex, gdzie pracuje do tej pory. Tamże, w roku 1985, został mianowany profesorem chemii, zaś w 1991 – profesorem-badaczem Towarzystwa Królewskiego.

Richard E. Smalley (Department of Chemistry, Rice University, P.O. Box 1892, Houston, TX 77251, USA), urodzony w 1943 r. w Akron (stan Ohio, USA), doktorat z chemii otrzymał w 1973 r. w Princeton University. Jest profesorem chemii w Rice University od 1981 r., a także profesorem fizyki tego samego uniwersytetu od 1990. Jest m.in. członkiem Narodowej Akademii Nauk USA.

* Niniejszy tekst opracował Jacek Gliński głównie w oparciu o zasoby Internetu; podstawą opracowania jest strona Królewskiej Szwedzkiej Akademii Nauk w Sztokholmie (adres sieciowy <http://www.nobel.se/announcement-96/chemistry96.html>). Inne źródła zaznaczono w tekście odrębnie.



Fot. 1. Sir Harold W. Kroto podczas odczytu, jaki odbył się we Wrocławiu w Instytucie Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego we wrześniu 1995 roku (ze zbiorów prof. dra Henryka Ratajczaka)

Przed odkryciem fulerenów znano sześć alotropowych odmian węgla: dwa typy grafitu, dwa diamentu, chaoit i węgiel (VI); ostatnie dwa odkryto w latach 1968 i 1972.

Fulereny tworzą się podczas kondensacji pary węgla w atmosferze gazu obojętnego (np. helu). Gazowy węgiel można otrzymać np. przez skierowanie silnej wiązki światła laserowego na powierzchnię węgla. Uwolnione atomy węgla mieszają się ze strumieniem helu, tworząc klaster, zawierające od kilku do kilkuset atomów. Gaz wprowadza się do komory próżniowej, gdzie ulega on rozprężeniu i ochłodzeniu do kilku stopni powyżej zera absolutnego. Powstające klasterki można analizować metodą spektrometrii masowej.

Curl, Kroto i Smalley, wraz ze studentami J. R. Heathem i S. C. O'Brienem, prowadzili eksperyment przez jedenaście dni. Udało się wytworzyć klasterki zawierające 60 i 70 atomów węgla, przy czym te z 60 atomami węgla, C_{60} , były najliczniejsze. Stwierdzono dodatkowo ich znaczną trwałość, co sugerowało strukturę molekularną o wysokiej symetrii. Jedną z możliwości był ikosaedr, wielościan o 20 sześciobocznych i 12 pięciobocznych powierzchniach. Podobną strukturę ma piłka futbolowa, a także „kopuła geodowa” zaprojektowana przez amerykańskiego architekta Richarda Buckminstera Fullera na Wystawę Światową w Montrealu (1967). Z tego powodu badacze nadali nowo odkrytej strukturze nazwę *buckminsterfullerene*.

Richard Buckminster Fuller urodził się w Milton (stan Massachusetts, USA) w 1895 r. Ten niezwykle wszechstronny twórca miał olbrzymi wpływ na architekturę, wzornictwo, sztukę, inżynierię, edukację, kartografię, a nawet matematykę. W architekturze zasłynął ideą „kopuły geodowej”, której charakterystyczna konstrukcja okazuje się przeważać nad tradycyjnymi z dwóch przynajmniej przyczyn. Po pierwsze: dla budynku zbudowanego tą metodą wzrost kosztów jego budowy jest wolniejszy niż wzrost kubatury, odwrotnie niż zazwyczaj. Po drugie: są to struktury o niezwykle wysokiej wytrzymałości: wytrzymują bez szwanku trzęsienia ziemi i huragany (specyficzne zjawisko wzajemnego wzmacniania się tej konstrukcji nazwano synergetyzmem).

Wśród kopuł tego typu najbardziej znana jest zbudowana przez Fullera na Wystawę Światową w Montrealu w 1967 r. R. B. Fuller otrzymał w 1983 r., z rąk prezydenta USA Ronalda Reagana, najwyższe cywilne odznaczenie swojego kraju – Medal of Freedom. Zmarł w tym samym roku [1].

Odkrycie C_{60} i jego unikatowej struktury zostało opublikowane w „Nature”, reakcje zaś były różne – od krytycyzmu do entuzjazmu. Żaden fizyk czy chemik nie spodziewał się, że węgiel może tworzyć tak symetryczne twory, i to tak różne od już znanych. Dalsze prace prowadzone w latach 1985–1990 dostarczyły jednak dowodów na poprawność proponowanej struktury. Między innymi udało się zidentyfikować klaster z uwiecznionymi w ich wnętrzu jednym lub więcej atomami metali. W 1990 r. zespół fizyków pod kierunkiem W. Krätschmera i D. R. Huffmana otrzymał, po raz pierwszy, makroskopowe ilości C_{60} przez utworzenie łuku elektrycznego między dwoma prętami grafitowymi w atmosferze helu i ekstrakcję kondensatu rozpuszczalnikiem organicznym [2]. Otrzymano mieszaninę C_{60} i C_{70} i określono struktury produktów, potwierdzając wcześniejsze hipotezy. Otwarta została więc droga do badania właściwości chemicznych C_{60} i innych klasterów (C_{70} , C_{76} , C_{78} i C_{84}). Z nich otrzymano nowe substancje o niezwykłych własnościach; pojawiła się całkiem nowa gałąź chemii, której konsekwencje sięgają tak różnych dziedzin, jak astrochemia, nadprzewodnictwo oraz chemia i fizyka materiałowa.

HISTORIA

W odkryciu fulerenów spotykają się bardzo odległe dziedziny chemii. Harold W. Kroto zajmował się wówczas spektroskopią mikrofalową – metodą, która dzięki rozwojowi radioastronomii pozwala analizować gazy w przestrzeni kosmicznej, zarówno w atmosferach gwiazd, jak i w międzygwiazdnych chmurach gazowych. Kroto interesował się szczególnie gwiazdami-olbrzymami o dużej zawartości węgla. Odkrył i zbadał linie widmowe ich atmosfer i uznał,

że można je przypisać jakiemuś rodzajowi długołańcuchowej molekuly, zbudowanej jedynie z węgla i azotu, którą nazwał cyjanopoliiną. Ten sam typ cząsteczek wykryto także w gazie międzygwiazdowym. Ideą Kroto było, że takie związki węgla tworzą się w atmosferze gwiazd, a nie w chmurach gazowych w przestrzeni kosmicznej. Zaprzagnął więc zbadać dokładniej tworzenie się takich łańcuchów.

W tym celu nawiązał kontakt z Richardem E. Smalleyem, specjalistą w chemii klastarów, ważnej części fizyki chemicznej. Klastery są agregatami atomów lub cząsteczek, czymś pomiędzy cząstkami mikroskopowymi i makroskopowymi. Smalley zaprojektował i zbudował „laserowo-naddźwiękowy generator wiązki klastarów”, zdolny do odparowania niemal każdego znanego materiału w postaci plazmy atomowej oraz badania budowy i rozkładu klastarów. Szczególnie interesowały go klastery atomów metali, np. metali stosowanych w elementach półprzewodnikowych. Często współpracował w tej dziedzinie z Robertem F. Curllem, którego specjalnością jest spektroskopia mikrofalowa i w podczerwieni.

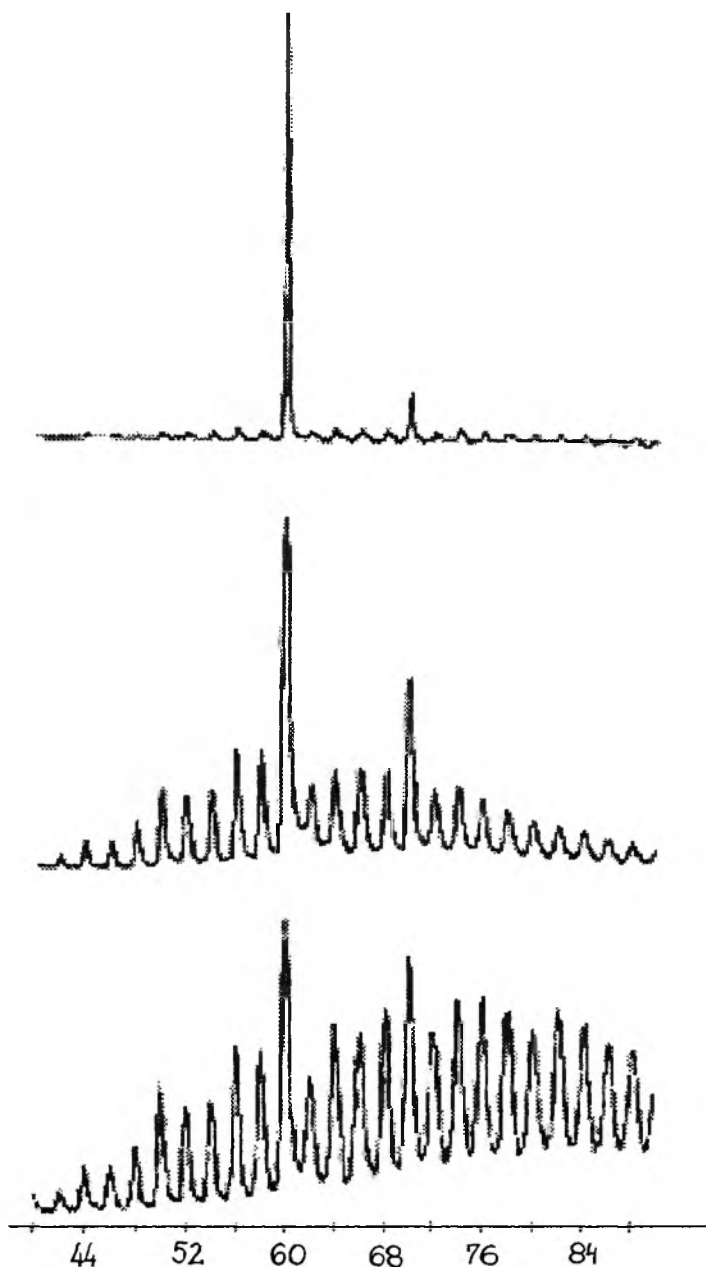
ATOMY TWORZĄ KLASTERY

Gdy atomy kondensują z fazy gazowej, tworzące się klastery mają rozmiary od kilku do kilkuset atomów. Zwykle obserwuje się dwa maksima na krzywej rozkładu rozmiarów: jedno dla klastarów „małych”, drugie — dla „dużych”. Nierzadko pewien rozmiar dominuje, a liczbę atomów tworzących taki klastery nazywa się „liczbą magiczną” — termin zapożyczony z fizyki jądrowej. Te dominujące klastery mają, jak się przypuszcza, pewne szczególne właściwości, zwłaszcza zaś wysoką symetrię.

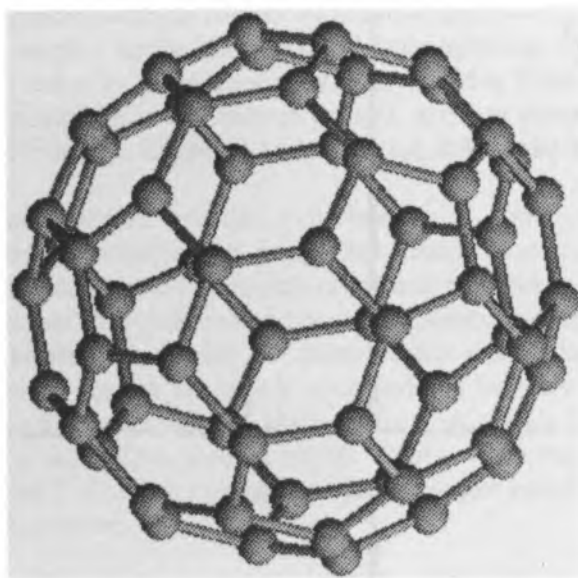
OWOCNE KONTAKTY

Dzięki znajomości z Robertem Curllem, Kroto uznał za możliwe zastosowanie instrumentu Smalleya do zbadania parowania i tworzenia klastarów przez węgiel, co mogłoby dostarczyć dowodu na powstawanie długołańcuchowych związków węgla w gorących atmosferach słońca. Curl skontaktował się ze Smalleyem i w efekcie, 1 września 1985 r., Kroto przyjechał do USA, aby wraz z pozostałymi badaczami rozpocząć prace nad odparowywaniem węgla.

Szybko okazało się, że można wpływać na rozkład rozmiarów klastarów, przy czym liczby 60 (głównie) i 70 (w mniejszym stopniu) są „liczbami magicznymi” (rys. 1). Powstał pomysł, że zamiast długiego łańcucha klastery C_{60} ma budowę ikosaedru (rys. 2). Wynikało to z jego trwałości, co odpowiadało zamkniętej strukturze o wysokiej symetrii. C_{60} otrzymał zabawną nazwę, *buckminsterfullerene*, na cześć światowej sławy amerykańskiego architekta, Richarda Buckminstera Fullera, projektanta „kopuły geodowej”.



Rys. 1. Stosując spektrometrię masową stwierdzono, że można wpływać na rozkład mas klastków węgla, zmieniając parametry gazu u wylotu dyszy komory próżniowej. W szczególnym wypadku tworzone są niemal wyłącznie klastki C_{60} i C_{70} (górny rysunek)



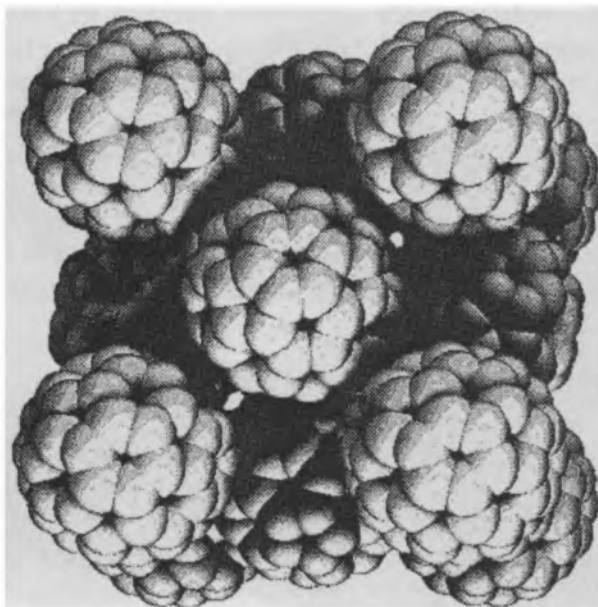
Rys. 2. Model strukturalny C_{60}

Ten gorączkowy okres zakończył się 12 września wysłaniem do „Nature” manuskryptu pracy pt. „ C_{60} : Buckminsterfullerene”. Redakcja otrzymała go 13 września, wydrukowała zaś 14 listopada 1985 [3].

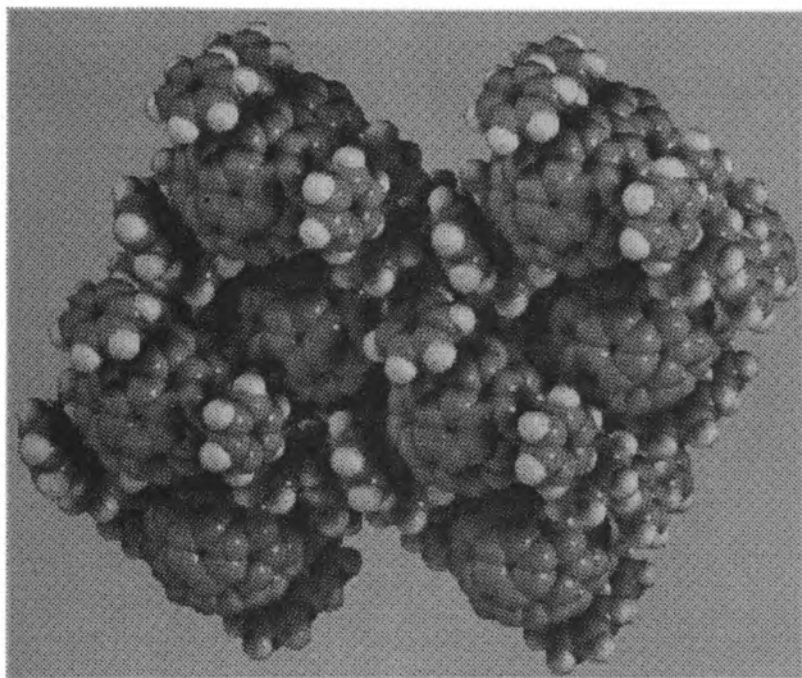
Dla chemików proponowana struktura była niezwykle piękna i pouczająca. Odpowiada ona aromatycznemu, trójwymiarowemu układowi z występującymi na przemian wiązaniami pojedynczymi i podwójnymi. Stworzenie nowej, symetrycznej cząsteczki i zbadanie jej własności ma olbrzymie znaczenie teoretyczne. Jako wzorzec służą tu często ciała Platona, także węglowodory syntetyzowane są jako struktury tetraedryczne, sześciennie czy dodekaedryczne (dwunastościenne).

DALSZE BADANIA

Badacze spróbowali następnie spowodować reakcje fulerenów z innymi związkami. Gazy (jak wodór, tlenek azotu, dwutlenek węgla, dwutlenek siarki, tlen i amoniak) wprowadzano do strumienia gazu z parą węgla, lecz spektrometria masowa nie wykazała żadnych zmian maksimum odpowiadającego C_{60} . Stało się jasne, że jest to związek reagujący wolno. Okazało się ponadto, że wszystkie klastery zawierające parzystą liczbę atomów węgla (w granicach 40–80, tj. w badanym wówczas zakresie) reagują jednakowo niechętnie. Przez analogię do C_{60} wszystkie powinny zatem być strukturami zamkniętymi, tworzącymi luki. Jest to zgodne z geometrycznym prawem Eulera, że dla każdego



Rys. 3. Fuleren C_{60} w temperaturze 153 K krystalizuje w układzie sześciennym ściennie centrowanym [10]



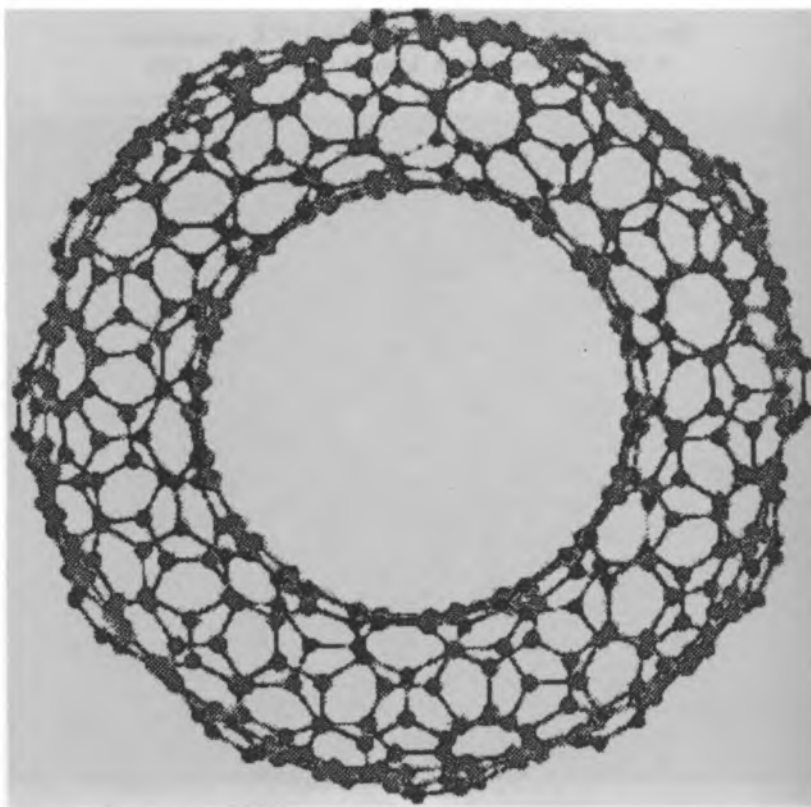
Rys. 4. Solwat fulerenu C_{60} z benzenem w temperaturze 173 K. Na jedną cząsteczkę fulerenu przypadają cztery cząsteczki benzenu [11]

wieloboku o n krawędziach (gdzie n jest liczbą parzystą większą niż 22) można zbudować przynajmniej jeden wielościan z 12 pięcioboków i $(n-22)/2$ sześcioboków. Dla dużych wartości n może więc istnieć wiele różnych struktur zamkniętych, jak np. C_{60} .

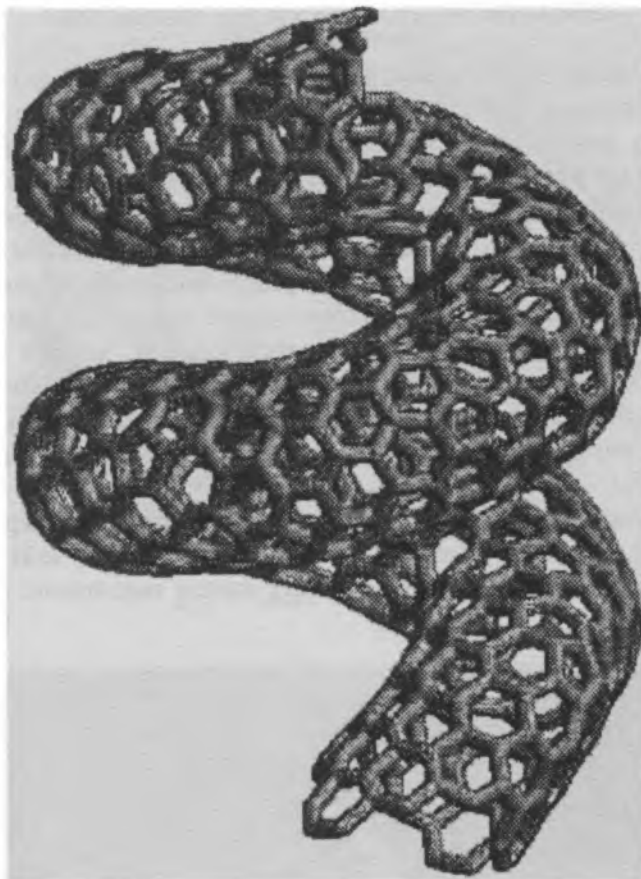
Chemiczna nieaktywność klasterów, parzysta liczba atomów i hipoteza, że wszystkie takie struktury są zamknięte i zbudowane zgodnie z prawem Eulera, sugerują podobieństwo tworzących się struktur. Istnieje zapewne niemal nieskończona ilość fulerenów, a więc pierwiastkowy węgiel może tworzyć niemal nieskończenie wiele różnych struktur (odmian alotropowych).

C_{60} I METALE

Gwałtownie rosła liczba nowych doświadczeń, które miały zbadać hipotezę o istnieniu i budowie C_{60} . Skoro jego struktura jest ażurowa, z luką o rozmiarach jednego lub więcej atomów, podjęto próby umieszczenia metalu w tej luce. Arkusz grafitu namoczono roztworem soli metalu (chlorku lantanu



Rys. 5. „Nanotorus” zbudowany z 432 atomów węgla [12]



Rys. 6. Spiralna „nanorurka” [13]

LaCl_3) i poddano procesowi odparowania i kondensacji. Analiza (metodą spektrometrii masowej) utworzonych klasterów wykazała obecność C_{60}La^+ . Związek był odporny na światło (naświetlanie intensywnym światłem laserowym nie usuwało atomów metalu). Wzmocniło to tezę o wbudowaniu jonu metalu w lukę fulerenu.

Możliwość tworzenia klasterów z wbudowanymi atomami metali dała bodziec eksperymentowi, który nazwano *shrink-wrapping* (kurczyć-zawijać). Jony fulerenu o tych samych lub przynajmniej podobnych rozmiarach zbierano w pułapce magnetycznej i poddawano impulsom laserowym. Okazało się, że wiązka laserowa zmniejsza wielkość klasteru o dwa atomy węgla w jednym cyklu, jednak przy pewnych rozmiarach struktury, gdy ciśnienie na atom metalu wewnątrz luki staje się zbyt wielkie, fragmentacja ustaje. I tak dla C_{60}Cs^+ tym granicznym rozmiarem jest C_{48}Cs^+ , dla C_{60}K^+ – C_{44}K^+ , zaś dla C_{60}Na^+ – C_{32}Na^+ .

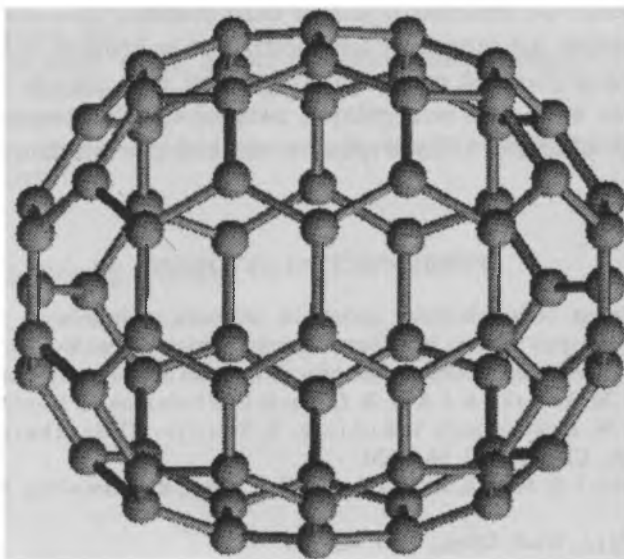
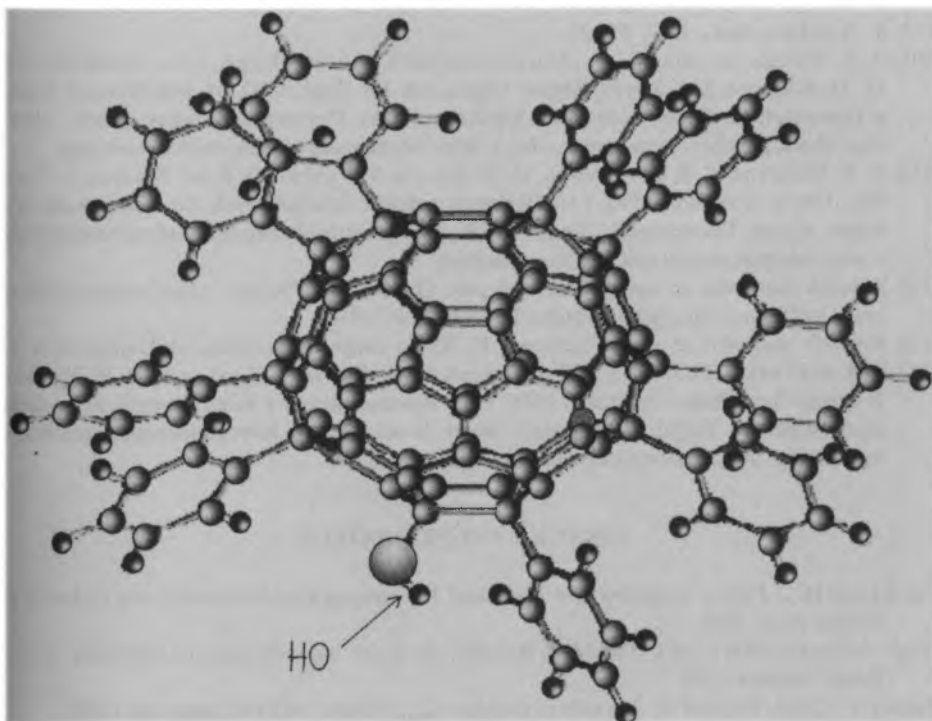
POCZĄTKI NOWEJ DYSCYPLINY CHEMICZNEJ

Pod koniec lat 80. posiadano już silne dowody na istnienie i budowę C_{60} . W 1990 r. dokonano syntezy makroskopowych ilości C_{60} przez odparowanie węgla w łuku elektrycznym pomiędzy dwiema elektrodami grafitowymi. Do pracy nad badaniami struktury i właściwości nowych związków można było zaangażować cały arsenał znanych metod identyfikacyjnych. W odróżnieniu od innych form węgla, fulereny są dobrze zdefiniowanymi związkami chemicznymi i mają ciekawe właściwości chemiczne. Opracowano specjalne metody do manipulowania strukturą fulerenów, systematycznie badano ich właściwości. Jest np. możliwe wytworzenie nadprzewodzących soli C_{60} , nowych trójwymiarowych polimerów, nowych katalizatorów, sensorów, nowych materiałów o specjalnych parametrach optycznych, elektrycznych itd. Co więcej, okazało się możliwe tworzenie cienkich rurek o zamkniętych końcach (nanorurki) zbudowanych tak jak fulereny (fot. 2).

Z teoretycznego punktu widzenia odkrycie fulerenów ma wpływ na nasze poglądy w tak odległych dziedzinach nauki, jak galaktyczny cykl węglowy czy klasyczne pojęcie aromatyczności — nader istotne zagadnienie chemii teore-



Fot. 2. Profesor Harold W. Kroto z modelem nanorurki fulerenowej (ze zbiorów prof. dr. Henryka Ratajczaka)

Rys. 7. Model strukturalny C_{70} Rys. 8. Związek fulerenowy o wzorze $C_{70}Ph_9OH$ (Ph – grupa fenylowa). Po raz pierwszy udało się przyłączyć grupę $—OH$ bezpośrednio do klatki fulerenowej [14]

tycznej. Jak dotąd nie znaleziono jeszcze bezpośrednich zastosowań praktycznych dla fulerenów, ale można się ich spodziewać w krótkim czasie, zwłaszcza że umiemy już wytwarzać makroskopowe ilości tych związków.

Doceniając wagę tych szczególnych związków, „Wiadomości Chemiczne” drukowały już wcześniej kilka artykułów, do których odsyłamy Czytelników [4–9].

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Opracowano na podstawie stron sieciowych Internetu, poświęconych postaci Richarda B. Fullera oraz jego ideom: <http://www.tcp.com/~prime8/Orbit/Bucky/>, <http://www.teleport.com/~pdx4d/domehist.html> oraz <http://www.wnet.org:80/bucky/dome.html>.
- [2] H. Ajie, M. M. Alvarez, S. J. Anz, R. D. Beck, F. Diederich, K. Fostiropoulos, D. R. Huffman, W. Krätschmer, Y. Rubin, K. E. Schriver, D. Sensharma, R. L. Whetten, *J. Phys. Chem.*, 1990, **94**, 8630.
- [3] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, *Nature*, 1985, **318**, 162.
- [4] P. Mastalerz, *Wiad. Chem.*, 1991, **45**, 369.
- [5] J. Klamut, *ibid.*, 1992, **46**, 451.
- [6] A. Huczko, *ibid.*, 1993, **47**, 241.
- [7] W. Ciesielski, I. Majchrzak, *ibid.*, 1994, **48**, 255.
- [8] R. Hassa, *ibid.*, 1995, **49**, 359.
- [9] A. Huczko, *ibid.*, 1997, **51**, 27.
- [10] H.-B. Burgi, E. Blanc, D. Schwarzenbach, Shengzhong Liu, Ying-jie Lu, M. M. Kappes, J. A. Ibers, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1992, **31**, 640. Rysunek wzięto z Internetowych stron sieciowych Wydziału Fizyki Uniwersytetu Stony Brook (USA): <http://buckminster.physics.sunysb.edu/> i <http://sbchem.sunysb.edu/msl/fullerene.html>.
- [11] M. F. Meidine, P. B. Hitchcock, H. W. Kroto, R. Taylor, D. R. M. Walton, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1992, 1534. Rysunek wzięto z Internetowych stron sieciowych Wydziału Fizyki Uniwersytetu Stony Brook (USA): <http://buckminster.physics.sunysb.edu/> i <http://sbchem.sunysb.edu/msl/fullerene.html>.
- [12] Rysunek pochodzi ze strony The Fullerene Gallery, M. Yoshida: <http://cochem2.tutkie-tutac.jp:8000/member/yoshida/fuller/Fuller.html#Fuller>
- [13] Rysunek pochodzi ze strony sieciowej H. Kroto (<http://www.susx.ac.uk/Users/kroto>).
- [14] P. R. Birkett, A. G. Avent, A. D. Darwish, H. W. Kroto, R. Taylor, D. R. W. Walton, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1996, 1231. Rysunek wzięto z Internetowych stron sieciowych Wydziału Fizyki Uniwersytetu Stony Brook (USA): <http://buckminster.physics.sunysb.edu/> i <http://sbchem.sunysb.edu/msl/fullerene.html>.

LEKTURA UZUPEŁNIAJĄCA

- Jim Baggott, *A Perfect Symmetry: the Accidental Discovery of Buckminsterfullerene*, Oxford University Press 1994.
- Hugh Aldersey-Williams, *The Most Beautiful Molecule: an Adventure in Chemistry*, Aurum Press, London 1995.
- Robert F. Curl, Richard E. Smalley, *Probing C₆₀*, *Science* **242** (18 listopada 1988).
- Harold W. Kroto, *Space, Stars, C₆₀, and Soot*, *Science* **242** (25 listopada 1988).
- H. W. Kroto, A. W. Allaf, S. P. Balm, *C₆₀: Buckminsterfullerene*, American Chemical Society 1991.

Richard E. Smalley, *Great Balls of Carbon: the Story of Buckminsterfullerene*, The Sciences, marzec–kwiecień 1991.

The All-Star of Buckyball; Profile: Richard E. Smalley, Scientific American, wrzesień 1993.

Rudy M. Baum, *Commercial Uses of Fullerenes and Derivatives Slow to Develop*, News Focus, 22 listopada 1993.

Istvan Hargittai, *Discoverers of Buckminsterfullerene*, The Chemical Intelligencer, Springer-Verlag, New York 1995.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 stycznia 1997

RACJONALNE PROJEKTOWANIE HERBICYDÓW – INHIBITORÓW BIOSYNTETY AMINOKWASÓW*

RATIONAL DESIGN OF HERBICIDES – INHIBITORS OF AMINO ACID BIOSYNTHESIS

Paweł Kafarski

*Instytut Chemii Organicznej, Biochemii i Biotechnologii Politechniki Wrocławskiej,
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
Instytut Chemii Uniwersytetu w Opolu, ul. Oleska 32, 45-052 Opole*

The design and development of new herbicides is increasingly concerned with enzyme inhibitors. Very considerable progress has been made in this area over the last twenty years, especially with the advent of herbicides blocking essential amino acids biosynthesis. These inhibitors would be limited in activity to the organisms possessing the target biochemical pathways, namely plants and microorganisms. The review describes three herbicide classes which have amino acid biosynthesis as their site of action: inhibitors of biosynthesis of aromatic amino acids, inhibitors of branched-chain amino acid pathway and inhibitors of ammonia assimilation.

Zwalczania chwastów dokonuje się za pomocą ksenobiotyków, które wpływają na procesy metaboliczne roślin. Ksenobiotyki te są inhibitorami kluczowych enzymów roślinnych, oddziałują z białkami błonowymi, indukują degradację barwników i lipidów roślinnych, wpływają na procesy regulacji hormonalnej i modyfikują bądź hamują ważne szlaki metaboliczne. Mimo że w praktyce rolniczej stosuje się wiele substancji fitotoksycznych, bardzo niewiele wiadomo o mechanizmach działania większości z nich.

Większość herbicydów znaleziono poprzez badanie aktywności fitotoksycznej nowych substancji chemicznych. Szacuje się, że trzeba zbadać aktywność od 12 000 do 15 000 związków, aby wprowadzić nowy herbicyd na rynek. Dlatego też coraz większego znaczenia nabiera racjonalne projektowanie nowych substancji fitotoksycznych. Wymaga ono znajomości biochemii roślin, mechanizmów działania znanych herbicydów, czynników wpływających na przemieszczanie się tych substancji w roślinie i mechanizmów ich rozkładu.

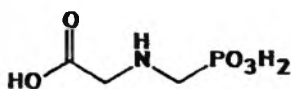
* Wykład ogłoszony na Letniej Szkole Chemii i Aktywności Biologicznej Pestycydów, Łądek-Zdrój, 24–28 czerwca 1996.

Wiedza ta stanowi podstawę do projektowania nowych struktur chemicznych modyfikujących te procesy [1]. Jego strategia polega zazwyczaj na wybraniu, specyficznego dla roślin, szlaku lub procesu metabolicznego, który nie występuje u organizmów zwierzęcych i chemicznej syntezie substancji modyfikujących te procesy.

W ostatnich 25 latach wprowadzono do rolnictwa kilka herbicydów, których działanie polega na zakłócaniu biosyntezy aminokwasów. Choć znalezione na drodze standardowego badania herbicydowej aktywności nowo otrzymanych związków organicznych, zainicjowały one szeroko zakrojone programy badawcze, których celem jest otrzymanie inhibitorów biosyntezy aminokwasów egzogennych. Inhibitory takie winny być nietoksyczne dla zwierząt. Związki te można podzielić na trzy grupy: inhibitory biosyntezy aminokwasów aromatycznych, inhibitory biosyntezy rozgałęzionych aminokwasów neutralnych (waliny, leucyny i izoleucyny) oraz inhibitory asymilacji amoniaku.

1. INHIBITORY BIOSYNTETY I KATABOLIZMU AMINOKWASÓW AROMATYCZNYCH

Jednym z najpopularniej stosowanych herbicydów obecnej doby jest N-fosfonometryloglicyna (związek 1) wprowadzona do rolnictwa przez firmę Monsanto [2]. Jej diizopropylamoniowa sól o nazwie glyphosate jest aktywnym składnikiem herbicydu Roundup® stosowanego w ponad 180 krajach świata. Ten nieselektywny, powschodowy herbicyd spełnia wszystkie warunki, jakie winien spełniać idealny środek ochrony roślin – silnie hamuje wzrost chwastów, w tym i tych uznawanych za trudne do zwalczania, nie jest toksyczny dla ludzi i zwierząt oraz ulega szybkiej biodegradacji w glebie.

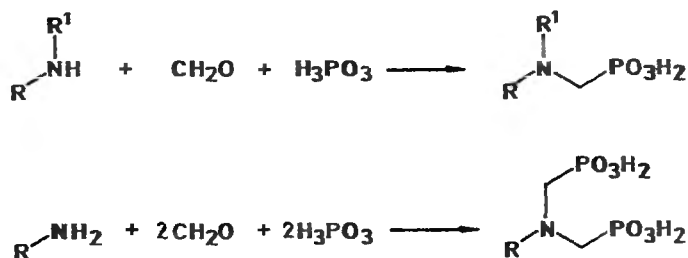


1

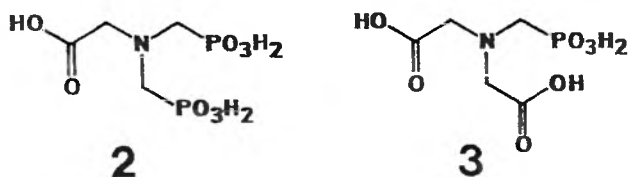
Schemat 1

N-fosfonometryloglicynę odkryto przypadkowo. W połowie lat sześćdziesiątych w laboratoriach badawczych firmy Monsanto podjęto próby wykorzystania znanej od dawna reakcji kondensacji amin, formaldehydu i kwasu fosforowego do syntezy szeregu nowych związków fosforoorganicznych, w nadziei, że jeden z nich okaże się herbicydem.

Śród kilkuset otrzymanych tą drogą kwasów aminofosfonowych jedynie dwa, bliskie strukturalnie związki 2 i 3, okazały się regulatorami wzrostu roślin. Oba zostały uznane za substancje wiodące w poszukiwaniu nowego

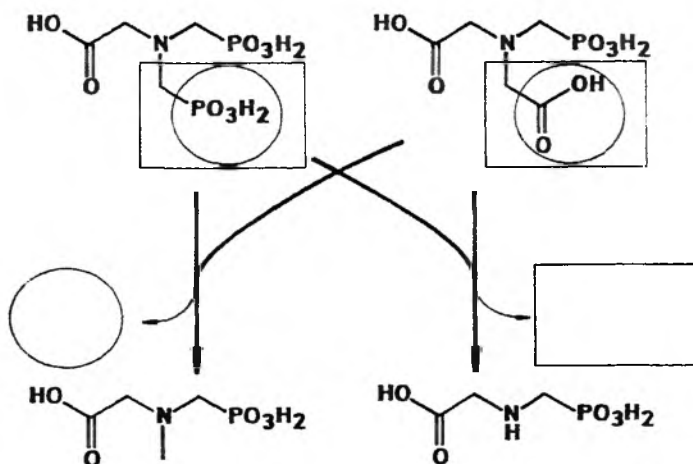


Schemat 2



Schemat 3

herbicydu i otrzymano znaczną liczbę ich analogów, głównie pochodnych o rozbudowanym szkieletie węglowym. Postępowanie to nie przyniosło jednak pożądanych efektów. Spekulacje na temat mechanizmu działania tych pochodnych pozwoliły jednak sformułować koncepcję, że aktywność herbicydowa może być wynikiem nie tyle działania tych substancji, ile działania związku powstającego na skutek ich wewnątrzkomórkowej degradacji. Takimi wspólnymi metabolitami mogły być N-metylo-N-fosfonometyloglicyna (4) i N-fosfonometyloglicyna (1). Herbicydem okazała się ta druga. Równoległe z syntezami



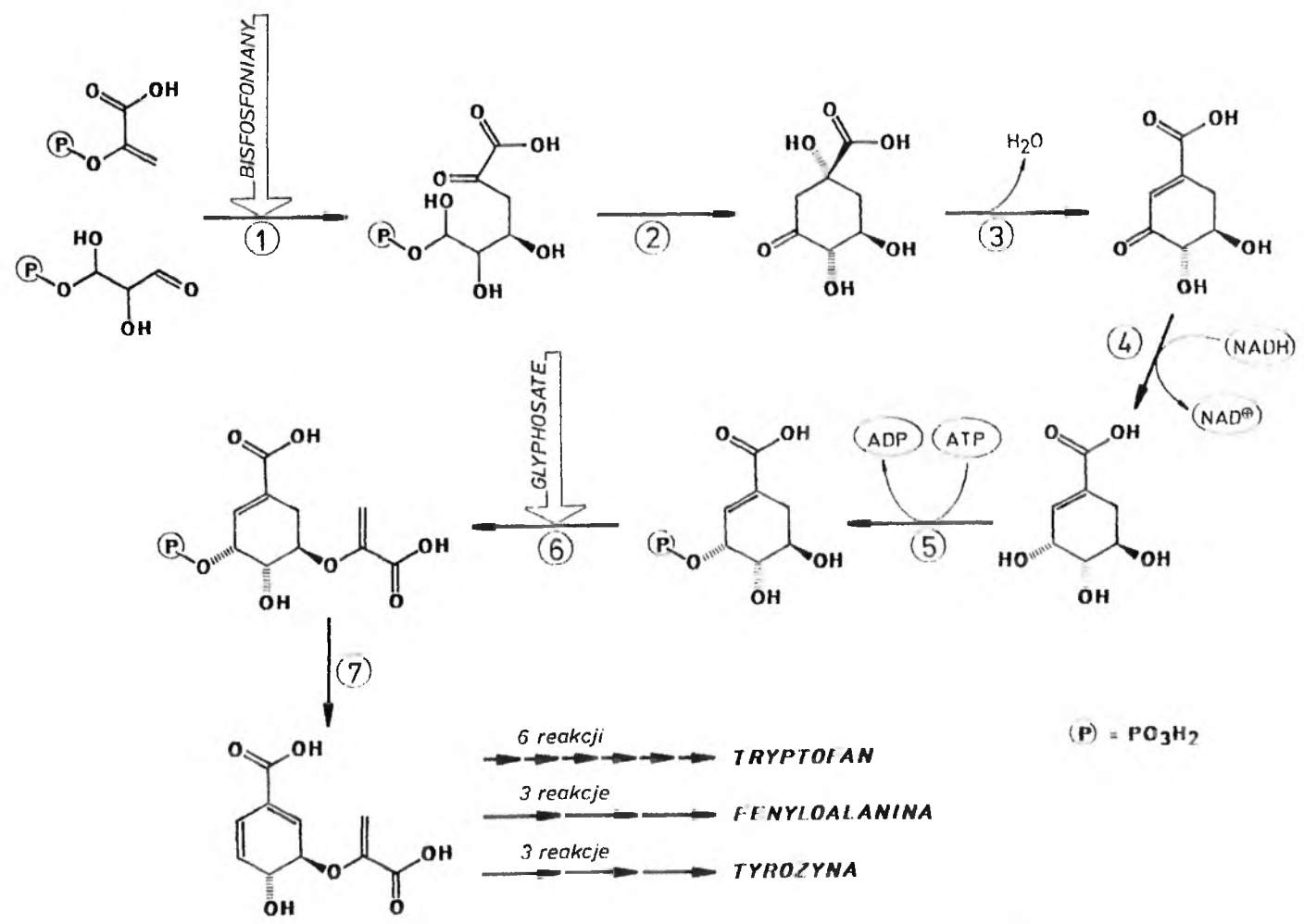
Schemat 4

wielu analogów tego herbicydu podjęto próby wyjaśnienia mechanizmu jego działania. Okazał się on inhibitorem biosyntezy aminokwasów aromatycznych [3, 4]. Biosynteza aminokwasów aromatycznych jest wieloetapowym procesem enzymatycznym (zaangażowanych jest tu ponad 20 enzymów), który daje fenyloalaninę, tyrozynę i tryptofan. Produkty metabolizmu tych aminokwasów, takie jak fenylopropanoidy, ligniny, alkaloidy, fitoaleksyny i barwniki roślinne są związkami niezbędnymi do rozwoju i życia roślin. Proces biosyntezy aminokwasów aromatycznych nazywany jest ścieżką szikimianową i pierwsze jego etapy zostały pokazane na rys. 1. Głównym produktem ścieżki szikimianowej jest kwas choryzmowy, który powstaje w siedmiu etapach z 4-fosfoerytrozy i fosfoenolopirogronianu.

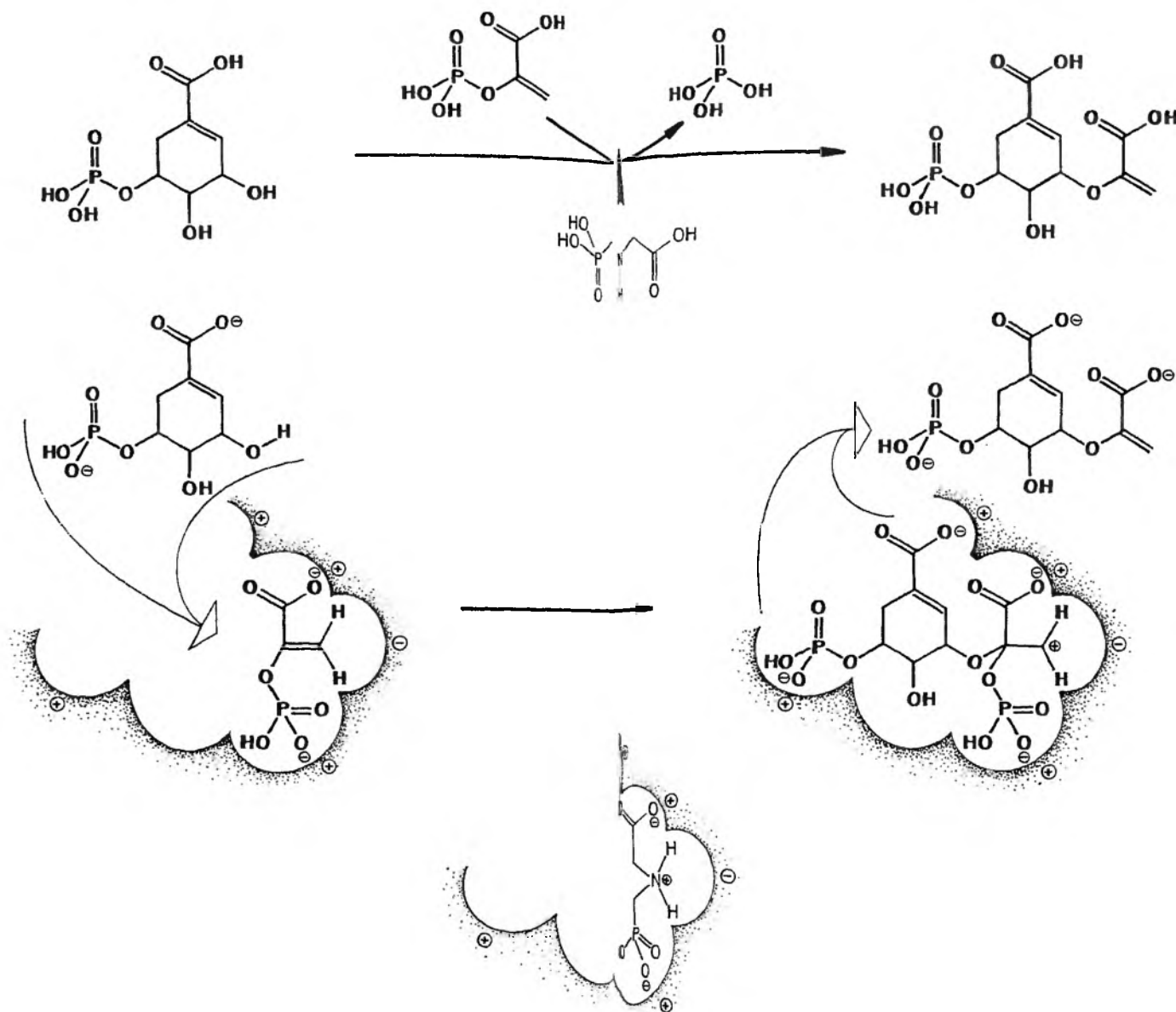
N-fosfonometryloglicyna hamuje szósty etap biosyntezy kwasu choryzowego – syntazę kwasu 3-fosfo-5-enolopirogronoszikimowego (EPSP, rys. 1). Poznanie molekularnego mechanizmu działania tego herbicydu pozwoliło zrozumieć, dlaczego każda z modyfikacji strukturalnych musi prowadzić do związku nieaktywnego. Herbicyd ten jest bowiem doskonale dopasowanym strukturalnie analogiem produktu pośredniego w reakcji enzymatycznej kondensacji kwasu 3-fosfoszikimowego z fosfoenolopirogronianem (rys. 2) [5–7]. Poznanie mechanizmu działania tego herbicydu zapoczątkowało też badania nad racjonalnym projektowaniem inhibitorów EPSP. Otrzymano szereg związków o coraz to bardziej skomplikowanej budowie, analogów substratu i produktu pośredniego reakcji katalizowanej przez ten enzym. Niektóre z nich okazały się nawet silniejszymi inhibitorami enzymu *in vitro* niż N-fosfonometryloglicyna, a mimo to żaden z nich nie jest dla niej konkurencyjny. Wynika to z faktu, iż złożona budowa chemiczna tych związków powoduje znaczny wzrost potencjalnych kosztów ich produkcji [8–12]. Nie jest zaskakujące, że trudno jest skonstruować herbicyd działający silniej, a do tego tak łatwy do otrzymania, jak zawierająca jedynie trzy atomy węgla N-fosfonometryloglicyna.

Badania struktury kompleksów enzym-substrat i enzym-produkt pośredni pokazały, że z EPSP związane są takie konformery tych związków, których fragment cykliczny ma budowę płaską (rys. 3) [13, 14]. Pozwoliło to sformułować hipotezę, że opatentowane w 1979 r. N-pirydylowe pochodne kwasu aminometylenobisfosfonowego (związki 5–7) [15] są także inhibitorami tego enzymu. Fragment pirydylowy tych związków przypomina bowiem płaski pierścień produktu pośredniego reakcji katalizowanej przez EPSP, kwas aminometylenobisfosfonowy zaś jest izoelektronowy z N-fosfonometryloglicyną (rys. 3).

Bardziej szczegółowe badania pokazały, że pochodne kwasu aminometylenobisfosfonowego są rzeczywiście inhibitorami biosyntezy aminokwasów aromatycznych, chociaż hamują najprawdopodobniej działanie innego enzymu ścieżki szikimianowej – syntazy kwasu 7-fosfo-2-keto-3-deoksyarabinoheptulozowego (rys. 1) [16]. Z drugiej strony, doniesienie patentowe z 1995 r. podaje, że mechanizm działania tych związków jest inny – są one inhibitorami syntazy



Rys. 1. Ścieżka kwasu szikimowego – pierwsze etapy biosyntezy aminokwasów aromatycznych



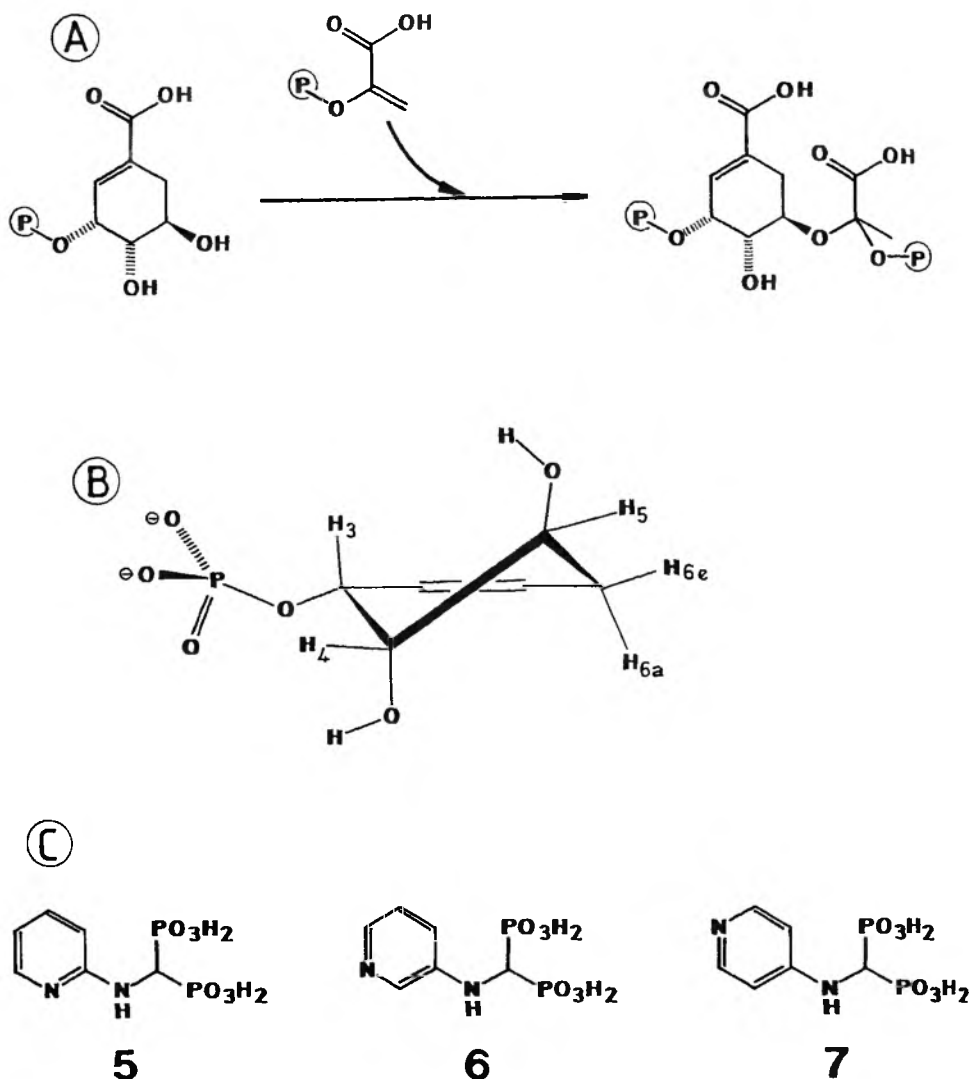
Rys. 2. Mechanizm kondensacji kwasu 3-fosfoszikimowego z fosfoenolpirogonianem.

N-fosfonometylicyna jako analog produktu pośredniego tej reakcji

pirofosforanu farnezyłu, a więc hamują biosyntezę terpenów [17]. Całkiem możliwe jest zatem, że związki te działają równocześnie na dwa kluczowe procesy metaboliczne roślin i dlatego są tak silnymi herbicydami.

Herbicydami, które zaprojektowano jako inhibitory biosyntezy histydyny, są analogi substratu reakcji katalizowanej przez dehydratazę fosforanu imida-

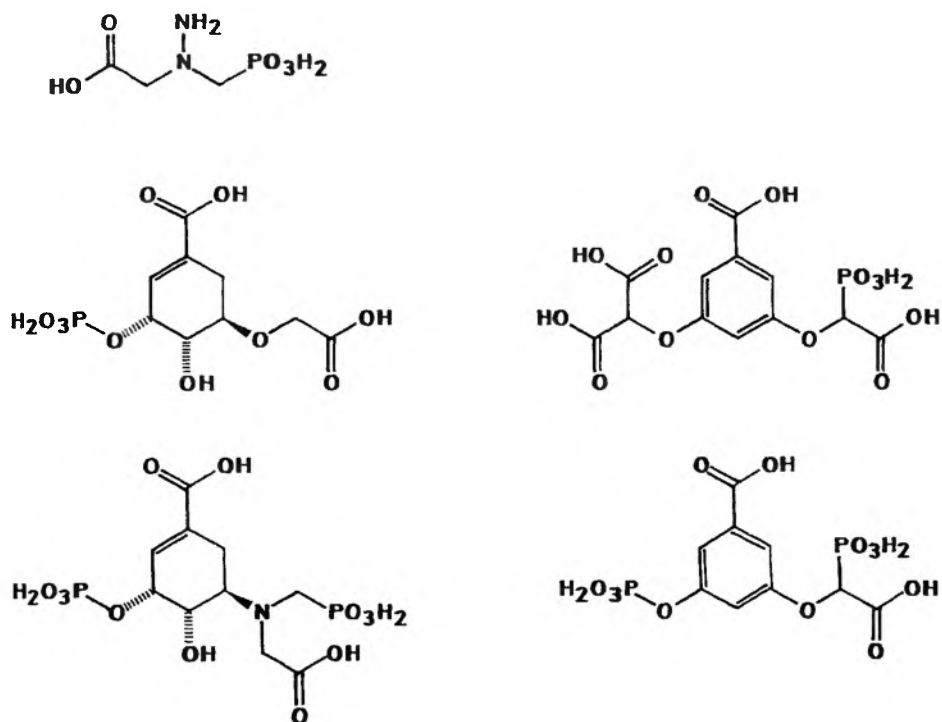
zologlicerolu [18, 19], szósty enzym szlaku biosyntezy tego aminokwasu. Histydyna to egzogeny aminokwas, który syntezowany jest z pirofosforanu 5-fosforybozy w bardzo specyficznym dziewięcioetapowym procesie. Cztery ostatnie reakcje enzymatyczne tego procesu stanowią idealny cel dla projektowania nowych herbicydów, gdyż katalizują one jednoetapowe, proste



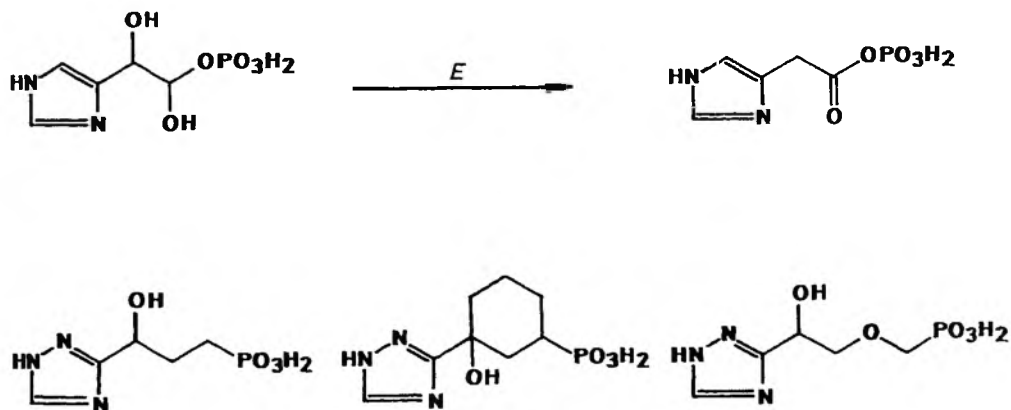
Rys. 3. (A) Substrat i produkt pośredni w reakcji katalizowanej przez EPSP;
 (B) budowa przestrzenna substratu związanego z enzymem;
 (C) N-pirydyloaminometylenobisfosfoniany

przemiany chemiczne substratów o nieskomplikowanej budowie. Pierwsza jest reakcja katalizowana przez dehydratazę fosforanu imidazologlicerolu.

Amoniakoliza L-fenylalaniny jest kluczowym enzymem metabolizmu fenylpropanoidów. Katalizuje ona reakcję deaminacji L-fenylalaniny, w wyniku której powstaje kwas *trans*-cynamonowy. Kwas ten jest prekursorem ważnych dla rozwoju roślin związków aromatycznych, takich jak: alkaloidy, lig-

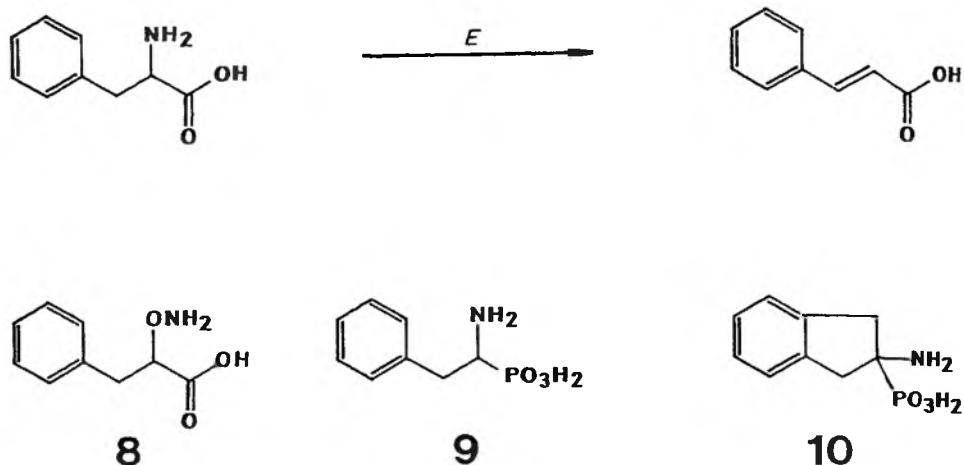


Schemat 5



Schemat 6

niny, antocyjany czy flawonoidy. Specyficznymi i silnymi inhibitorami tego enzymu są analogi substratu reakcji, kwasy: L-2-aminoksy-3-fenylpropionowy (8) [20], L-1-amino-2-fenyletylofosfonowy (9) [21, 22] i 2-aminoindano-2-fos-



Schemat 7

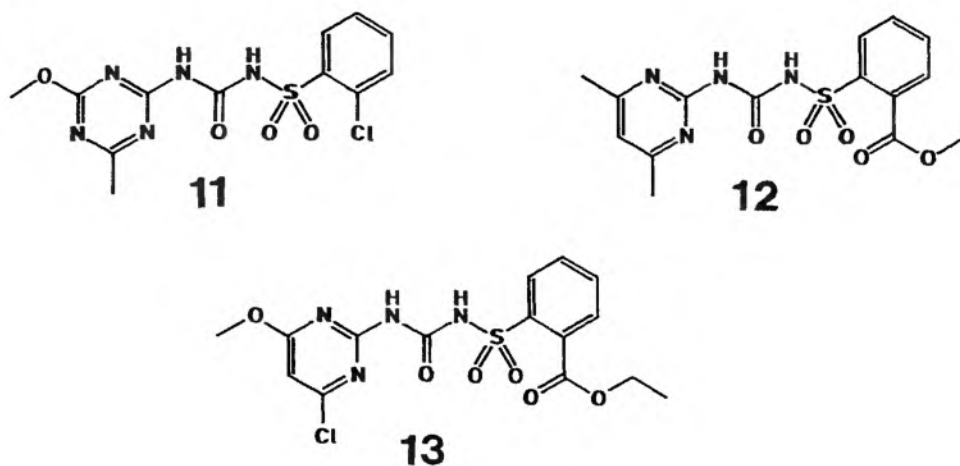
fonowy (**10**) [23]. Niestety, żaden z tych związków nie wykazuje dobrej aktywności herbicydowej. Rośliny potrafią bowiem syntezować niezbędny im kwas cynamonowy w procesie polikondensacji octanów, omijając w ten sposób ścieżkę szikimianową.

2. INHIBITORY METABOLIZMU AMINOKWASÓW ROZGAŁĘZIONYCH

Wprowadzone szeroko do rolnictwa w ostatnich 15 latach sulfonylomoczniki i imidazolinony to dwie grupy związków o zupełnie różnych strukturach chemicznych. Dlatego też zaskakujące było stwierdzenie, że są one inhibitorami tego samego enzymu – syntazy acetomleczanowej, kluczowego enzymu w procesie biosyntezy waliny, leucyny i izoleucyny [1].

Sulfonylomoczniki są niezwykle silnymi i szybko działającymi inhibitorami wzrostu roślin. Na przykład chlorosulfuron (związek **11**) daje całkowite zniszczenie chwastów, gdy zastosować go w dawce tak małej jak 10 gramów na hektar. Fizjologicznym efektem powodowanym przez tę grupę związków jest zahamowanie podziałów komórkowych. Najpopularniejszymi herbicydami są: chlorosulfuron, składnik preparatu Glean® metylosulfuron (**12**), składnik preparatu Oust®, oraz etylochlorimuron (**13**) aktywny składnik preparatu Classic®.

Imidazolinony, choć hamują aktywność tego samego enzymu, są odmienniejszej budowy chemicznej. Najpopularniejszymi herbicydami z tej grupy związków

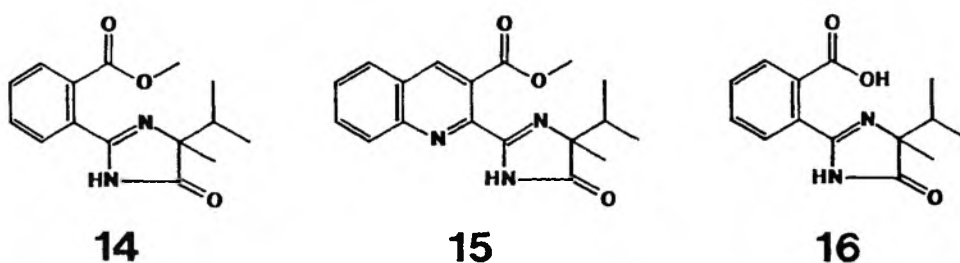


Schemat 8

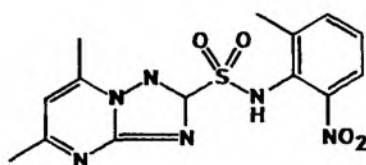
są: imazapyr (związek **14**), aktywny składnik preparatu Assert[®], imazakwina (**15**, Scepter[®]) oraz AC252,925 (**16**, Arsenal[®]).

Istnieje trzecia grupa herbicydów (nie wprowadzonych jeszcze do rolnictwa), które również silnie hamują aktywność syntazy acetomleczanowej, a mianowicie triazolopirymidyny. Ich przykładem jest związek **17** otrzymany w laboratoriach firmy Dow [24].

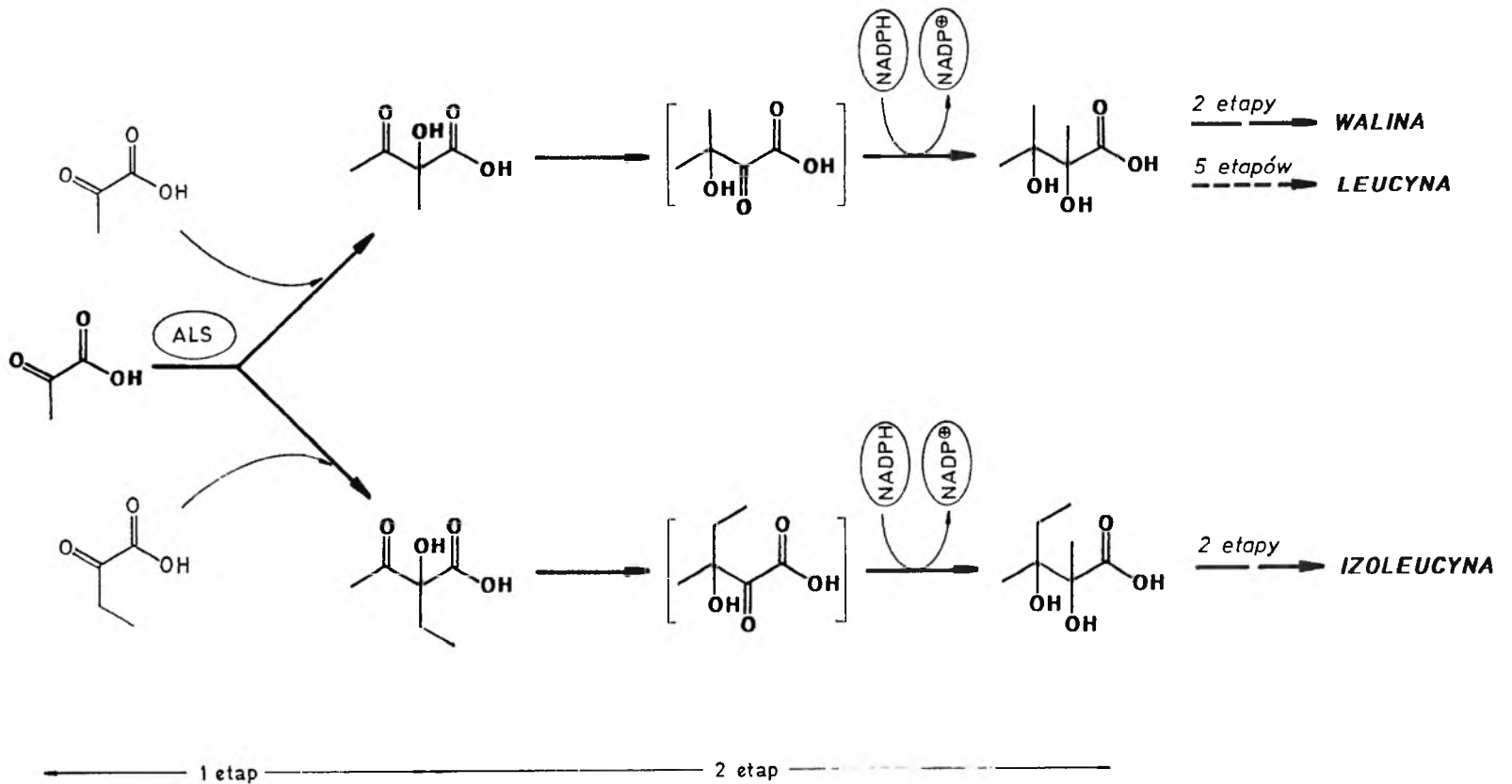
Pierwsze etapy biosyntezy aminokwasów rozgałęzionych pokazano na rys. 4. Syntaza acetomleczanowa (ALS) jest pierwszym enzymem tej ścieżki.



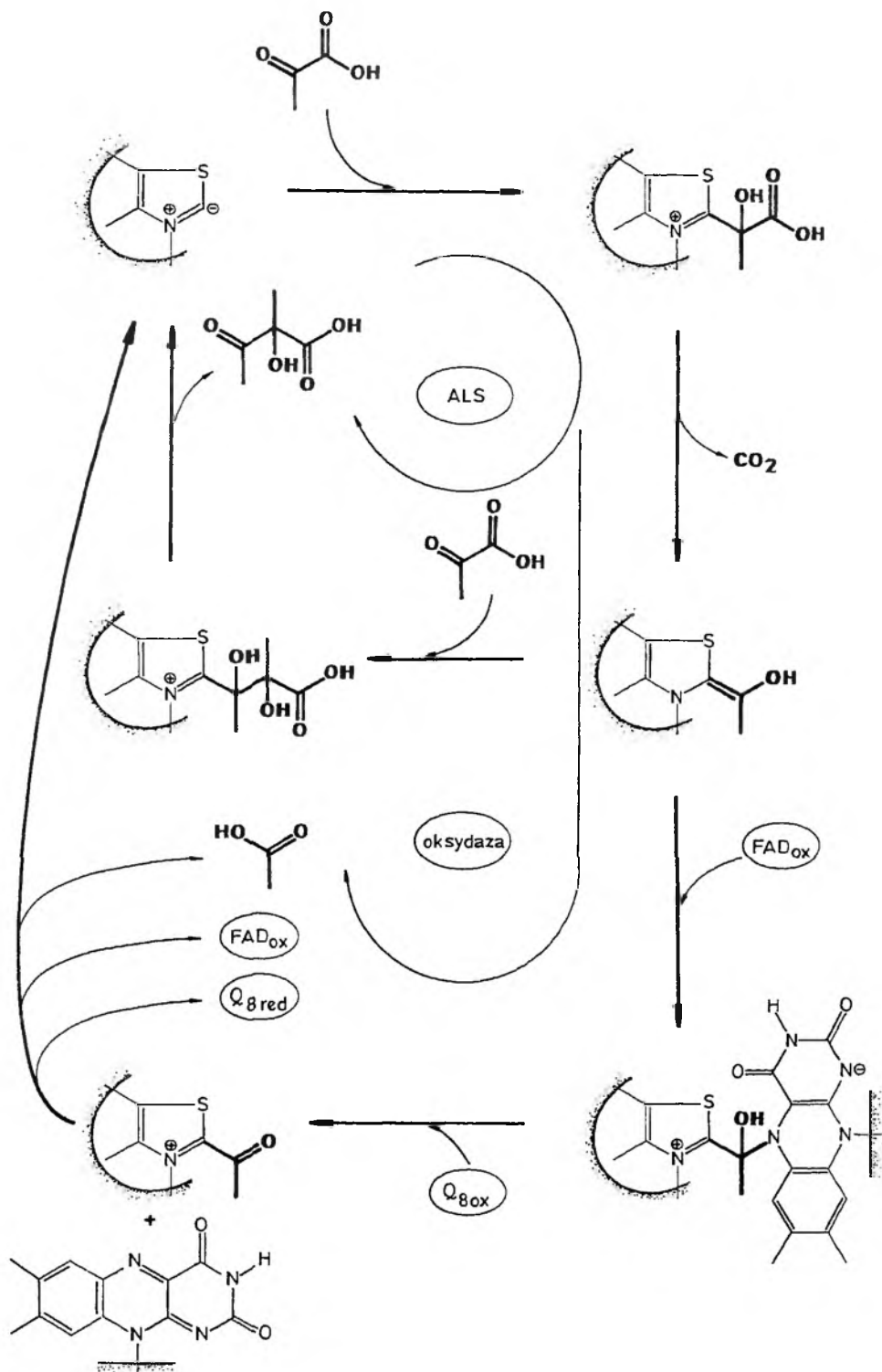
Schemat 9



Schemat 10



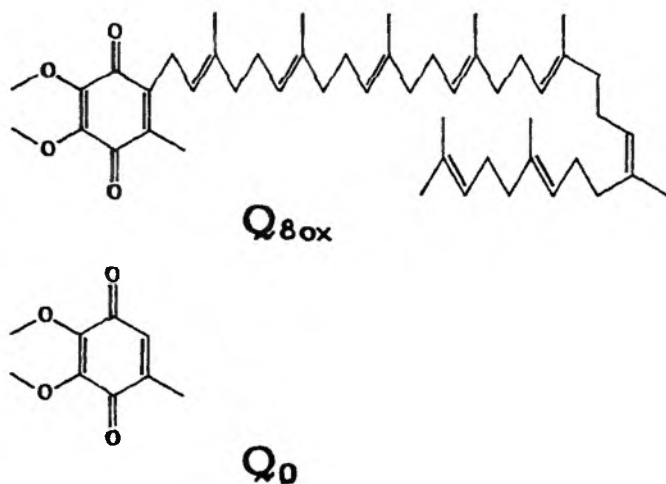
Rys. 4. Dwie pierwsze reakcje biosyntezy aminokwasów rozgałęzionych



Rys. 5. Mechanizmy reakcji katalizowanych przez syntazę acetomleczanu i oksydazę pirogallianową. Pierwsze dwie reakcje są jednakowe dla obu enzymów

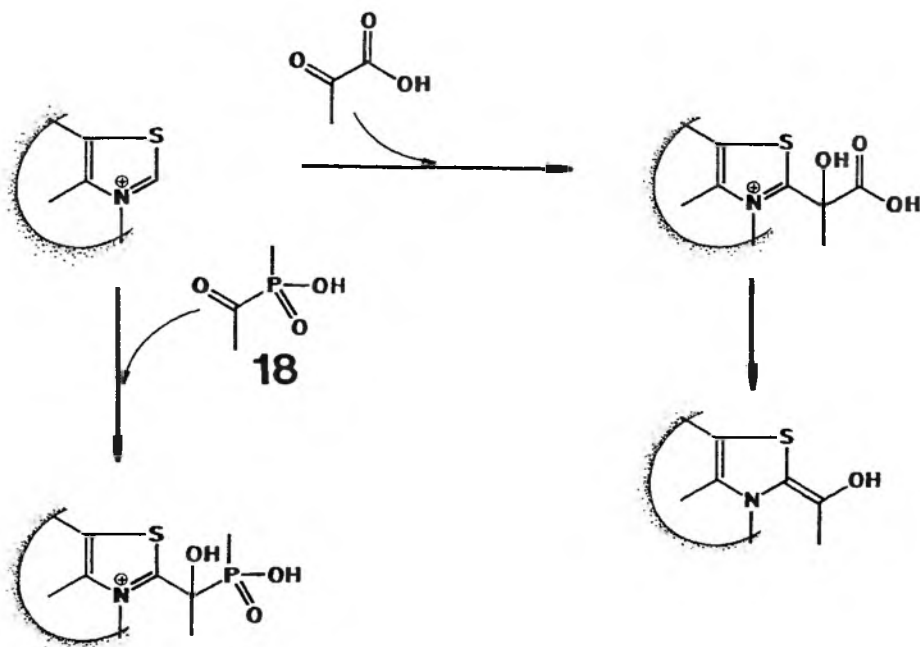
Pierwszym etapem reakcji katalizowanej przez ALS jest kondensacja pirofosforanu tiaminy z pirogronianem. Ten addukt ulega dekarboksylacji, a jej produkt reaguje z następną cząsteczką pirogronianu dając acetomleczan (rys. 5). Acetomleczan przekształcany jest w czterech reakcjach enzymatycznych w walinę, a w ośmiu w leucynę. Gdy w drugim etapie reakcji katalizowanej przez ten enzym weźmie udział kwas α -ketomasłowy zamiast pirogronianu, to powstaje α -aceto- α -ketomasłan, który przekształcany jest w izoleucynę. Niezwykłą cechą syntazy acetomleczanowej jest to, że do przebiegu katalizowanych reakcji wymaga ona współdziałania koenzymu, którym jest FAD. Co ciekawsze, żaden z etapów katalizowanej przez ten enzym reakcji nie jest procesem utleniania-redukcji, więc znaczenie tego koenzymu jest tajemnicze. Pierwszy etap reakcji katalizowanej przez ALS jest identyczny z pierwszym etapem reakcji katalizowanej przez oksydazę pirogronianową. Enzym ten również wymaga FAD do właściwego przebiegu reakcji, choć tym razem koenzym bierze udział w reakcji utlenienia adduktu (rys. 5). W procesie tym bierze również udział inny koenzym – ubichinon-40 (Q_8).

Porównanie mechanizmów katalizy tych dwóch enzymów pozwoliło sformułować hipotezę, że oksydaza pirogronianowa i syntaza acetomleczanowa pochodzą z jednego praenzymu i uległy różnicowaniu na drodze ewolucji, a wszystkie trzy grupy inhibitorów ALS wiążą się z enzymem we wnęce, która



Schemat 11

jest ewolucyjną pozostałością po wnęce wiążącej ubichinon [24]. Hipotezę tę potwierdza fakt, że ubichinony (ale tylko te, które pozbawione są fragmentu izoprenowego, jaki występuje w Q_8 , a więc takie, jak ubichinon Q_0) są silnymi inhibitorami wiązania herbicydów przez ten enzym [24].



Schemat 12

Sekwencje genów kodujących oba te enzymy wykazują duży stopień podobieństwa, potwierdzając hipotezę o ich wspólnym pochodzeniu [25]. Innymi słowy, sulfonilomoczniki, triazolo-pirymidyny oraz imidaziliny hamują działanie enzymu wiążąc się w innym miejscu niż to, w którym zachodzi katalizowana reakcja. Przy dzisiejszym poziomie wiedzy o budowie przestrzennej enzymów nie da się zaprojektować takich inhibitorów na podstawie racjonalnych przesłanek.

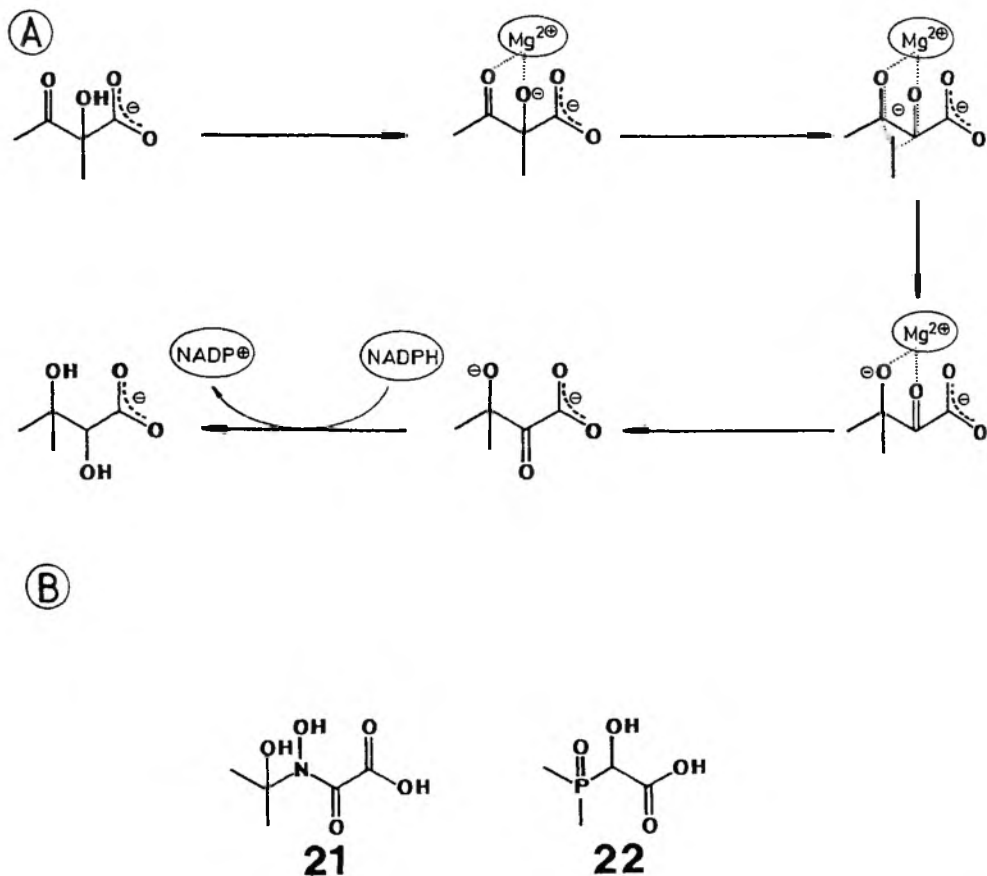
Pierwszy etap reakcji katalizowanej przez ALS, czyli wiązanie pirogronianu przez pirofosforan tiaminy i dekarboksylacja tego adduktu, ma także miejsce w reakcjach katalizowanych przez dwa inne enzymy, a mianowicie dekarboksylazę pirogronianową i dehydrogenazę pirogronianową. Ten drugi enzym jest odpowiedzialny za syntezę acetylokoenzymu A – substratu kluczowego w procesach biosyntezy kwasów tłuszczowych, izoprenoidów i rozgałęzionych aminokwasów. Silnym inhibitorem dehydrogenazy pirogronianowej jest kwas (P-metylo)acetylofosfinowy (**18**), który również tworzy addukt z pirofosforanem tiaminy, z tym że addukt ten jest trwały [26, 27].

Znaczącą aktywność herbicydową przejawia kwas 1-aminoetylofosfonawy (**19**) [28]. Okazało się, że kwas ten ulega w roślinach deaminacji i powstaje kwas acetylofosfonawy (**20**), który najprawdopodobniej w podobny sposób hamuje aktywność jednego z tych czterech enzymów przekształcających kwas pirogronowy [29].



Schemat 13

Reduktoizomeraza acetomleczanu jest drugim enzymem szlaku biosyntezy aminokwasów rozgałęzionych (rys. 4) i katalizuje dwie reakcje — izomeryzację acetomleczanu i redukcję grupy ketonowej powstającego α -ketokwasu (rys. 6). Reakcja izomeryzacji acetomleczanu katalizowana jest przez jon magnezowy, który deprotonuje alkohol i ułatwia migrację grupy metylowej w procesie podobnym do przegrupowania pinakolinowego. Spośród kilku inhibitorów tej reakcji, najsilniej działają związki **21** i **22**, które silnie kompleksują jon magnezu [30, 31] (rys. 6).

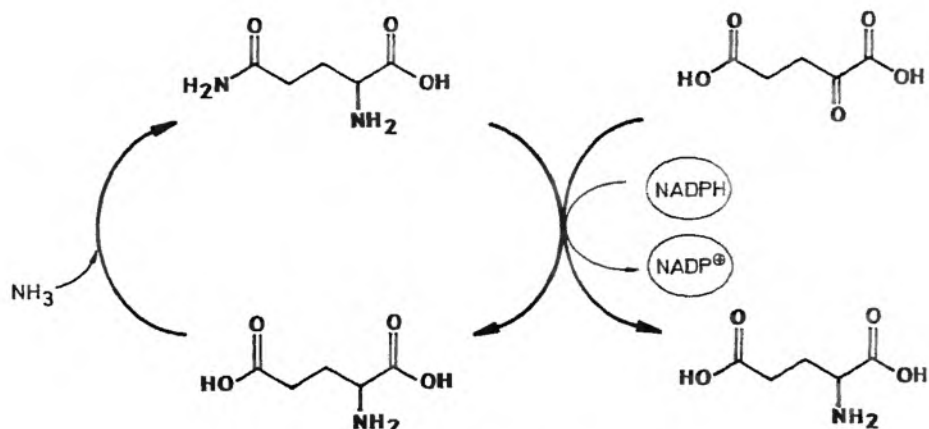


Rys. 6. (A) Mechanizm pierwszego etapu reakcji katalizowanej przez reduktoizomerazę acetomleczanową i (B) potencjalne herbicydy, inhibitory tego enzymu

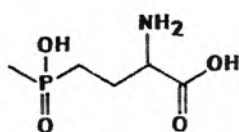
3. INHIBITORY ASYMLACJI AMONIAKU

Kwas glutaminowy i glutamina pełnią najważniejszą rolę w metabolizmie azotu w roślinach wyższych. W usuwaniu nadmiernych ilości amoniaku z tkanek roślinnych bierze udział kompleks enzymatyczny składający się z dwóch enzymów: syntetazy glutaminy i syntazy glutaminianowej.

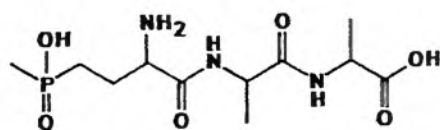
Spośród wielu inhibitorów syntetazy glutaminy zastosowanie praktyczne znalazła fosfotricyna (glufosinate, składnik preparatu Basta®, związek 23) [32]. Ten naturalny aminokwas wyizolowany został niezależnie w Niemczech [33] i w Japonii [34] jako składnik antybakteryjnego peptydu o nazwie bialaphos (związek 24) produkowanego przez *Streptomyces*. Sam peptyd również wykazuje aktywność herbicydową i wytwarzany jest w Japonii metodą fermentacyjną na skalę przemysłową (preparat Herbicae®) [35].



Schemat 14

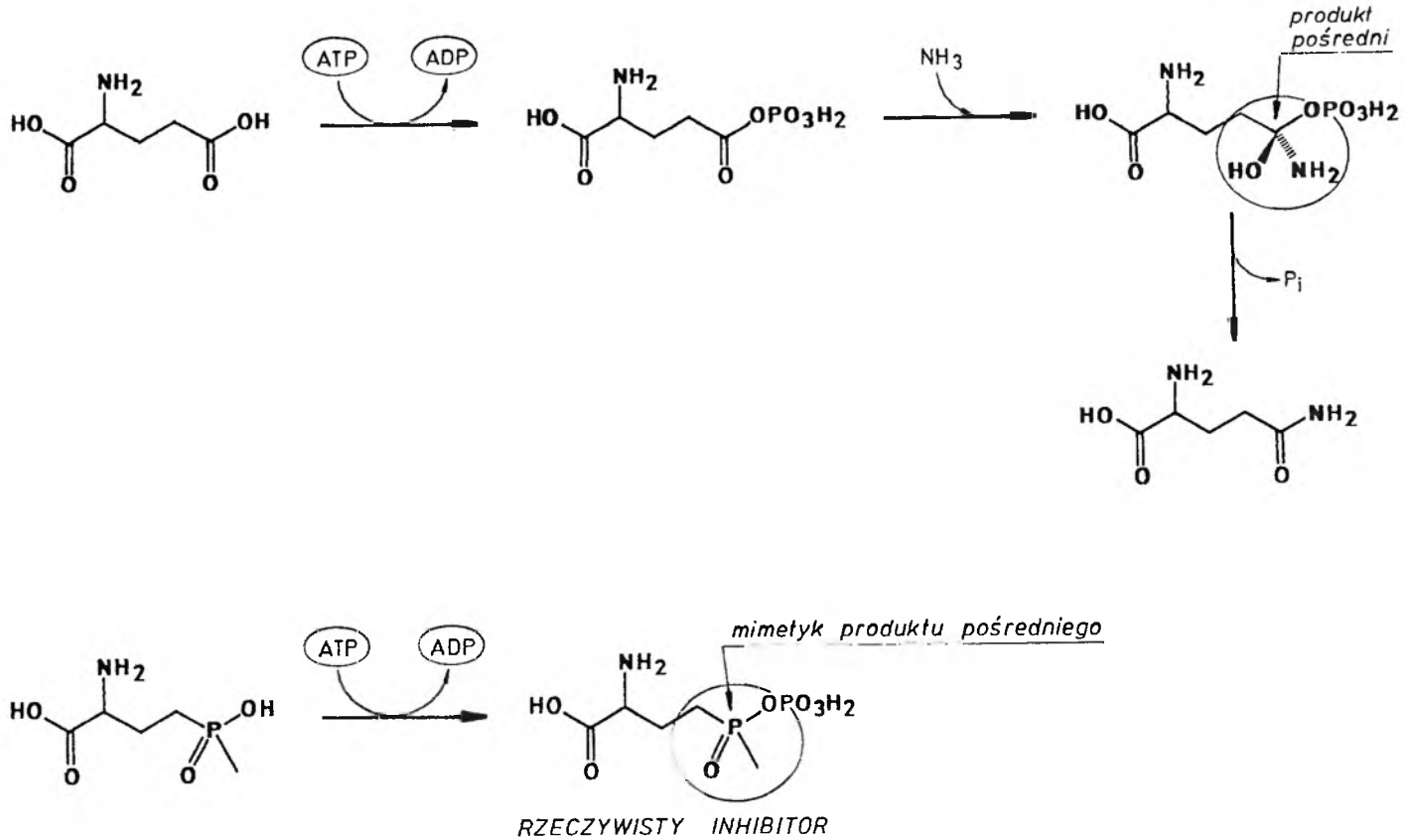


23



24

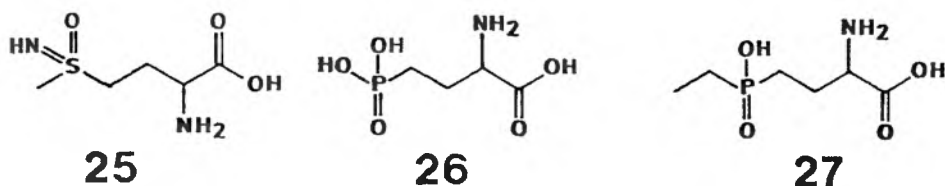
Schemat 15



Rys. 7. (A) Przebieg reakcji katalizowanej przez syntetazę glutaminy i (B) mechanizm inhibitorowego działania fosfinotricyny

Fosfinitricyna, podobnie jak wcześniej znaleziony i strukturalnie podobny związek – sulfoksymina metioniny (25), jest inhibitorem syntetazy glutaminy. Jest ona inhibitorem samobójczym tego enzymu. Oznacza to, że pod wpływem enzymu inhibitor, podobnie jak substrat, ulega fosforylacji z udziałem ATP i dopiero utworzony w tej reakcji związek jest prawdziwym inhibitorem reakcji enzymatycznej (rys. 7). Silne wiązanie przekształconej fosfinitricyny z enzymem wynika z podobieństwa tego związku do tetraedrycznego produktu pośredniego reakcji amonolizy fosforanu glutamylu.

Pierwsze, podobne do fosfinitricyny, silne inhibitory syntetazy glutaminy (związki 26 i 27) otrzymano już w roku 1959 we Wrocławiu [36]. Nie otrzymano wówczas fosfinitricyny, gdyż nie znana była wówczas metoda wytwarzania metyldichlorofosfiny, kluczowego substratu dla jej syntezy.



Schemat 16

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] *Target Sites of Herbicide Action*, P. Boger P., G. Sandmann (red.), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida 1989.
- [2] *The Herbicide Glyphosate*, E. Grossbard, D. Atkinson (red.), Butterworth, London 1985.
- [3] E. G. Jaworski, *J. Agric. Food Chem.*, 1972, **20**, 1195.
- [4] U. Roisch, F. Lingens, *Angew. Chem.*, 1974, **23**, 400.
- [5] N. Amrhein, B. Deus, P. Gehrke, H. C. Steinrucken, *Plant Physiol.*, 1980, **66**, 830.
- [6] H. C. Steinrucken, N. Amrhein, *Eur. J. Biochem.*, 1984, **143**, 352.
- [7] R. D. Sammons, K. J. Gruys, K. S. Anderson, K. A. Johnson, J. A. Sikorski, *Biochemistry*, 1995, **34**, 6433.
- [8] M. R. Marzabadi, J. L. Font, K. J. Gruys, P. D. Pasengrau, J. A. Sikorski, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1992, **2**, 1435.
- [9] W. S. Knowles, K. S. Anderson, S. S. Andrew, D. P. Phillion, J. E. Ream, K. A. Anderson, J. A. Sikorski, *ibid.*, 1993, **3**, 2857.
- [10] S. D. Corey, P. D. Pasengrau, M. C. Walker, J. A. Sikorski, *ibid.*, 1993, **3**, 2863.
- [11] M. J. Miller, D. G. Cleary, J. E. Ream, K. R. Snyder, J. A. Sikorski, *Bioorg. Med. Chem.*, 1994, **3**, 331.
- [12] M. J. Miller, D. G. Cleary, J. E. Ream, K. R. Snyder, J. A. Sikorski, *ibid.*, 1995, **3**, 1685.
- [13] G. C. Leo, S. Castellino, R. D. Sammons, J. A. Sikorski, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1992, **2**, 151.
- [14] S. Castellino, G. C. Leo, R. D. Sammons, J. A. Sikorski, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 5176.
- [15] F. Suzuki, F. Yoshihiro, S. Yamamoto, H. Mizutani, C. Funabashi, T. Ohya, T. Ikai, T. Oguchi, *Ger. Offen.* 2.831.578, 1979.
- [16] P. Kafarski, B. Lejczak, B. Boduszek, R. Gancarz, Ch. Torreilles, J. Sołoducho,

- G. Forlani, H. Wojtasek, J. Haffner, J. Korf, P. Wieczorek, *Phosphorus, Sulfur and Silicon* 1996, **109/110**, 353.
- [17] T. H. Cromartie, K. J. Fisher, *PCT Int. Appl.*, WO/95/34207, 1995.
- [18] I. Mori, R. Fonne-Pfister, S. Matsunaga, S. Tada, Y. Kimura, G. Iwasaki, J. Mano, M. Hatano, T. Nakano, S. Koizumi, A. Scheidegger, K. Hayakawa, D. Ohta, *Plant Physiol.*, 1995, **107**, 719.
- [19] S. D. Lindell, C. G. Earnshaw, B. J. Wright, D. S. Laver, M. J. O'Mahony, E. A. Saville-Stones, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1996, **6**, 547.
- [20] N. Amrhein, K. H. Godecke, *Plant. Sci. Lett.*, 1977, **8**, 313.
- [21] K. M. Janas, A. Filipiak, J. Kowalik, P. Mastalerz, J. S. Knypl, *Acta Biochim. Polon.*, 1985, **32**, 131.
- [22] A. Laber, H. Kilz, N. Amrhein, *Z. Naturforsch.*, 1986, **41c**, 49.
- [23] J. Zoń, N. Amrhein, *Liebigs Ann. Chem.*, 1992, 625.
- [24] J. V. Schlos, L. M. Ciskanik, D. E. van Dyk, *Nature* 1988, **331**, 360.
- [25] C. Grabau, J. E. Cronan Jr., *Nucleic Acid Res.*, 1986, **13**, 3995.
- [26] A. C. Baillie, K. Wright, B. J. Wright, C. G. Earnshaw, *Pesticide Biochem. Physiol.*, 1988, **30**, 103.
- [27] A. Golz, M. Focke, H. K. Lichtenthaler, *J. Plant Physiol.*, 1994, **143**, 426.
- [28] E. K. Baylis, C. D. Campbell, J. G. Dingwall, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1984, 2845.
- [29] B. Laber, N. Amrhein, *Biochem. J.*, 1987, **248**, 351.
- [30] A. Aulabaugh, J. V. Schlos, *Biochemistry*, 1990, **29**, 2824.
- [31] A. Schulz, P. Sponeman, H. Kocher, F. Wegenmayer, *FEBS Lett.*, 1988, **238**, 375.
- [32] P. Langeluddeke, D. Kausse, E. Rose, F. Wallmuller, K. H. Walther, *Bundestalt Land Forst. Wirtsch.*, 1981, **203**, 256.
- [33] E. Bayer, K. H. Gugel, K. Hagele, H. Hagenmeier, S. Jessipow, W. A. Konig, H. Zahner, *Helv. Chim. Acta*, 1972, **55**, 224.
- [34] Y. Ogawa, T. Tsuruoka, S. Inoue, T. Niida, *Meiji Seika Kenkyu Nempo*, 1973, **13**, 42.
- [35] K. Tachibana, [w:] *Pesticide Science and Biology*, Blackwell Sci. Publ. London 1987.
- [36] P. Mastalerz, *Arch. Immun. Ter. Dośw.*, 1959, **7**, 201.

Praca wpłynęła do Redakcji 14 czerwca 1996

PROKTOLINA – NEUROPEPTYD OWADÓW PROCTOLIN – A NATURAL INSECT NEUROPEPTIDE

Danuta Konopińska

Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

In the present paper the literature data on the synthetic, biological, and conformational studies on insect neuropeptide proctolin (Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr) and its analogues are summarized. The paper covers proctolin and its 80 analogues modified in positions 1–5, cycloanalogue as well as analogues with the truncated or elongated peptide chain. The presented peptides were bioassayed by different methods, e.g. by studies of myotropic activities in several insect species *in vitro* and by behaviour in rats *in vivo*. Basing on these data structure-activity relationship is discussed.

WSTĘP

Proktolina, L-arginylo-L-tyrozylo-L-leucylo-L-prolylo-L-treonina (Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr), pierwszy strukturalnie scharakteryzowany miotropowy neuro-modulator owadów został wyizolowany w 1975 r. przez Browna i Starratta [1] z jelita tylnego (*proctodeum*) amerykańskiego karaczana *Periplaneta americana*, a następnie z owadów należących do innych sześciu rzędów [2–4] i innych bezkręgowców [5–7]. W kolejnych badaniach udowodniono obecność proktoliny w przewodzie pokarmowym, tkance nerwowej i mózgu owadów, jak również innych bezkręgowców [5–7]. Na podstawie właściwości stymulujących skurcze mięśni gładkich, szkieletowych [7–10, 39], serca [10] i mięśni jajowodu [4] owadów i innych bezkręgowców [11] proktolina została zaliczona do grupy neurotransmiterów owadów. Po zgromadzeniu większej ilości danych dotyczących właściwości biologicznych proktoliny Orchard [4] wyraził pogląd, że spełnia ona raczej funkcję neuromodulatora u owadów.

Poszukiwanie proktolinopodobnych (*proctolin-like*) peptydów u owadów jest interesującym kierunkiem badań. Peptyd o właściwościach miotropowych (czynnik działający na skurcze mięśni), pochodzący z mózgu karaczana *Leucophaea maderae* opisany w 1986 r. przez Nachmana i wsp. [15] Glp-Thr-Ser-Phe-Thr-Pro-Arg-Leu-NH₂ (leukopirokinina = Lem-LPK) został zaliczony w po-

czet substancji proktolinopodobnych. Lem-LPK oraz jego krótsze fragmenty peptydowe [des-Glp]-Lem-LPK i C-końcowy pentapeptyd Phe-Thr-Pro-Arg-Leu-NH₂ wykazywały działanie miotropowe na *proctodeum L. maderae*. W 1995 r. wyizolowano dwa kolejne proktolinopodobne oligopeptydy.

Pierwszy z nich, znaleziony przez Spitalesa i wsp. [12] w mózgu stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata*), okazał się analogiem proktoliny o sekwencji Ala-Tyr-Leu-Pro-Thr. Peptyd ten wykazywał słabe działanie miotropowe, gdyż stymulował skurcze jajowodu szarańczy (*Locusta migratoria*) przy stężeniu 10⁻⁷ M, podczas gdy proktolina działa w zakresie stężenia od 10⁻¹⁰ do 10⁻⁸ M [1]. Na uwagę zasługuje fakt, że [Ala¹]-proktolina, wcześniej otrzymana syntetycznie przez Starratta i Browna [13], była nieaktywna w teście miotropowym u *P. americana* [13] (tab. 1).

Tabela 1. Analogi proktoliny modyfikowane w pozycji 1 łańcucha peptydowego i ich efekt miotropowy u owadów

Peptyd typu X ¹ -Tyr-Leu-Pro-Thr*	Efekt miotropowy u owadów			
	<i>P. americana</i> jelito tylne	<i>P. americana</i> serce	<i>T. molitor</i> serce	<i>L. migratoria</i> jajowód
X ¹ =				
Arg-Arg-	ag [33]	nb	nb	nb
homo-Arg	nb	ag [21]	ag [21]	ag [42, 45]
Lys	ag [33]	ag [20]	ag [20]	ag [42, 45]
Ala	nakt [13]	nb	nb	ag [12*]
D-Arg; Ac-Arg	nakt [13, 33]	nb	nb	nb
Glu; Glp; Gly	nakt [33]	nb	nb	nb
Gac; Gav; Gap	nb	nakt [21]	nakt [21]	nb
Arg (NO ₂)	nb	nb	nakt [35]	nb
Cit; His; γ-Abu; Phe (p-NH ₂)	nb	nakt [20]	nakt [20]	nb
Can	nb	ag [45]	ag [45]	nb

* Izolowany z mózgu stonki ziemniaczanej (*L. decemlineata*).

ag – agonista, efekt podobny do proktoliny; sag – superagonista, działający silniej niż proktolina; nakt – nieaktywny; nb – nie badano.

Również w 1995 r. Yi i wsp. [14] wyizolowali amid pentapeptydowy o sekwencji Ala-Glu-Pro-Tyr-Thr-NH₂ z jelita środkowego larwy *Manduca sexta* w okresie między linieniem owada. Peptyd ten stymulował skurcze mięśni jajowodów u szarańczy *L. migratoria* podobnie do proktoliny.

Proktolina była obiektem wielu badań, których celem było: 1) określenie miejsca jej występowania w ciele owadów; 2) ocena stabilności w układach *in vivo* oraz *in vitro*; 3) sprawdzenie możliwości praktycznego wykorzystania tego peptydu jako czynnika insektotoksycznego; 4) wyjaśnienie mechanizmu jej miotropowego działania u owadów; 5) poszukiwanie efektów biologicznych u kręgowców oraz 6) ocena zależności między strukturą a funkcją biologiczną omawianego peptydu. Rezultatem badań dotyczących zależności między strukturą a funkcją biologiczną proktoliny było opracowanie syntezy ponad 80 jej analo-

gów, ocenienie właściwości miotropowych u kilku gatunków owadów oraz podjęcie studiów stereochemicznych.

Stabilność proktoliny w układzie *in vitro* oraz *in vivo* u owadów [9, 16] testowano stosując ^3H lub ^{14}C znakowaną proktolinę przy reszcie Tyr w pozycji 2 łańcucha peptydowego. Stwierdzono, że proktolina wstrzyknięta *in vivo* owadom ulega szybkiej degradacji enzymatycznej, w wyniku czego powstaje tetrapeptyd Tyr-Leu-Pro-Thr, dipeptyd Arg-Tyr oraz aminokwas Tyr [9, 16]. Podczas inkubacji znakowanej proktoliny z różnymi tkankami owadów uzyskano podobne efekty [16]. Kontynuując te badania Issac [17] udowodnił, że istniejące w tkance nerwowej szarańczy *Schistocerca gregaria* peptydazy membranowe powodują hydrolizę wiązań amidowych proktoliny do dipeptydów Tyr-Leu i Arg-Tyr oraz wolnych aminokwasów Arg i Tyr. Według Puiroux i Loughtona [18] proteazy membranowe znajdujące się w jajowodach i jelicie tylnym szarańczy *L. migratoria* degradują proktolinę w sposób podobny do opisanego przez Issaca [17].

Próby użycia proktoliny jako czynnika owadobójczego przeprowadzone metodą opryskiwania larw owadów roztworami tego peptydu lub podania go w pokarmie zakończyły się niepowodzeniem [16], gdyż proktolina nie przenikała przez kutikulę owadów, a w przewodzie pokarmowym ulegała szybkiej degradacji enzymatycznej.

Aktywność miotropową proktoliny i jej analogów oceniano na owadach *in vitro*, badając jej wpływ na skurcze mięśni jelita tylnego karaczana *P. americana* [1], na akcję serca *P. americana* i *T. molitor* [11, 19–23], skurcze jajowodów *L. migratoria* [4] i jelito przednie *S. gregaria* [25]. Niedawno Loughton i wsp. [26] scharakteryzowali receptor proktoliny w jajowodach *L. migratoria*. Otwiera to w przyszłości nowe możliwości testowania aktywności biologicznej proktoliny i jej analogów u owadów. Nie znane dotąd właściwości biologiczne proktoliny odkryli Goudey-Perriere i wsp. [27]. Okazało się, że proktolina wspomaga witellogenezę u samic karaczana – *Blaberus cranifer*.

Nowy kierunek badań wyznacza poszukiwanie efektów biologicznych proktoliny u kręgowców *in vitro* oraz *in vivo*. W rezultacie tych poszukiwań stwierdzono, że proktolina wstrzyknięta szczurom do komory bocznej mózgu wywołuje efekt analgetyczny i podnosi ciśnienie krwi oraz przyspiesza akcję serca [28, 29]. W biotestach *in vitro* odkryto natomiast, że proktolina wykazywała właściwości immunomodulujące. Przywracała ona naturalny poziom fagocytozy granulocytom ludzkim i zdolność namnażania się limfocytom ludzkim uszkodzonym przez leukemię limfoblastyczną (ALL) [30, 31].

BADANIA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY STRUKTURĄ A FUNKCJĄ BIOLOGICZNĄ U OWADÓW

Opracowanie kilku metod syntezy proktoliny oraz ponad 80 jej analogów jest rezultatem badań zależności między strukturą a funkcją biologiczną tego peptydu [13, 19, 20, 24–26, 30, 32–38].

Modyfikacje łańcucha peptydowego proktoliny polegały na kolejnej wymianie reszt naturalnych aminokwasów występujących w pozycjach od 1 do 5 na inne naturalne lub nienaturalne aminokwasy, na skróceniu lub przedłużeniu łańcucha peptydowego [13, 25, 26, 33, 36, 40], na cyklizacji proktoliny [25, 26, 38] lub wprowadzeniu wiązania $-\text{CH}_2-\text{O}-$ w miejsce układu peptydowego pomiędzy Tyr² a Leu³ cząsteczki [41] proktoliny.

Właściwości biologiczne analogów proktoliny były oceniane biotestami miotropowymi u owadów w identyczny sposób jak w przypadku proktoliny [4, 13, 23–26, 33, 38, 42, 43, 44].

ZNACZENIE POSZCZEGÓLNYCH RESZT AMINOKWASOWYCH ŁAŃCUCHA PROKTOLINY DLA JEJ FUNKCJI MIOTROPOWEJ U OWADÓW

L-Arginina¹

Wyjaśnienie roli N-terminalnej reszty Arg łańcucha peptydowego proktoliny było przedmiotem kilku publikacji [13, 20–22, 33]. W pracach tych podjęto syntezę serii analogów proktoliny, gdzie wymieniono resztę Arg¹ na reszty innych naturalnych lub nienaturalnych aminokwasów (tab. 1). Efekty miotropowe N-terminalnie modyfikowanych pochodnych proktoliny zostały ocenione *in vitro* w odniesieniu do jelita tylnego karaczana [13, 33], serca karaczana i mącznika [20–22] oraz jajowodu szarańczy (*L. migratoria*) [42, 45]. We wcześniejszych pracach wykazano, że tylko analogi proktoliny zawierające dwa obszary zasadowe przy N-końcowej reszcie łańcucha peptydowego, na przykład [Lys¹]- [13, 33] i Arg⁰-proktolina (Arg-Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr) [33] zachowywały pełną aktywność miotropową proktoliny przy stężeniu 10^{-8} M w odniesieniu do *proctodeum* amerykańskiego karaczana.

Wprowadzenie natomiast reszt Ac-Arg, Gly, Glu, Gln lub Ala w miejsce Arg¹ prowadziło do utraty właściwości miotropowych proktoliny [13, 33] (tab. 1). Na tej podstawie Sullivan i Newcomb [33] wyrazili pogląd, że funkcja miotropowa proktoliny zależna jest od obecności dwu obszarów zasadowych przy N-końcowym aminokwasie jej łańcucha peptydowego, co ich zdaniem ma ułatwiać oddziaływanie proktoliny z jej miejscem receptorowym w komórkach owadów. Hipotezę tę podważa fakt, którego oni nie rozpatrywali, a mianowicie to, że [Orn¹]-proktolina, pochodna z dwoma obszarami zasadowymi przy N-końcowym aminokwasie, była biologicznie nieaktywna [13].

Kolejne badania [20, 21] dotyczące analogów proktoliny modyfikowanych w pozycji 1 również zdają się przeczyć tej hipotezie [20, 21], gdyż zamiana Arg¹ na reszty aminokwasów zasadowych, takich jak His, Phe(*p*-NH₂), Gac, Gav lub Gap prowadziło do analogów, które traciły właściwości miotropowe u *P. americana* i *T. molitor*. Analogi, które uzyskano przez wprowadzenie w miejsce Arg¹ aminokwasów zasadowych z układem ω-guanidynowym,

jak w przypadku [*homo-Arg*¹]- i [*Can*¹]-proktoliny, zachowywały pełną aktywność miotropową u owadów [20, 21, 42, 45].

Opisane efekty biologiczne świadczą o tym, że obecność aminokwasu z grupą ω-guanidynową łańcucha w pozycji 1 cząsteczki proktoliny jest ważnym elementem strukturalnym dla jej funkcji miotropowej u owadów.

L-Tyrozyna²

Wpływ L-tyrozyny w pozycji 2 łańcucha proktoliny na jej aktywność biologiczną był przedmiotem szerszych badań [13, 22, 24, 25, 33, 37]. We wcześniejszych pracach [13, 33] stwierdzono, że wymiana Tyr² na reszty innych aminokwasów aromatycznych, takich jak: Phe, D-Tyr [13], His lub Trp [33] w łańcuchu proktoliny prowadziła do utraty właściwości miotropowych u *P. americana* [13, 33]. [Phe(*p*-OMe)²]-proktolina natomiast, otrzymana przez zmetylowanie grupy —OH w pozycji *para* Tyr², była 3-krotnie bardziej aktywna od proktoliny [13, 33] (tab. 2).

Na podstawie tych danych Sullivan i Newcomb [33] sformułowali hipotezę, w myśl której obecność atomu tlenu w położeniu *para* pierścienia fenylowego aminokwasu w pozycji 2 łańcucha peptydowego proktoliny jest ważnym elementem strukturalnym dla jej funkcji miotropowej. Weryfikacji tej hipotezy dokonano na podstawie rezultatów badań dalszych analogów proktoliny modyfikowanych w pozycji 2 łańcucha peptydowego [19, 20, 22, 34, 37]. Wśród tych analogów miejsce Tyr² zajęły reszty niebiałkowych aminokwasów aromatycznych, takich jak: Phe(*p*-NH₂), Phe(*p*-NMe₂), (Phe(*p*-NO₂), Phe(*p*-OMe) [19], Phe(*p*-OEt), Phe(*p*-Gn), Afb(*p*-OH), Afb(*p*-NH₂), Afb(*p*-NO₂) [22, 37] L-Dopa [34], Tyr(3'-NH₂) i Tyr(3'-NO₂) [22, 37] oraz Cha(4-OMe), aminokwas zawierający układ 4'-OMe-cykloheksylowy w miejscu układu aromatycznego [19] (tab. 2). Większość z nich przyspieszała akcję serca u *T. molitor* w testach wykonanych metodą Millera [10] lub Rosińskiego i Gädego [23]. Efekty te były porównywalne lub kilkakrotnie silniejsze od proktoliny. Pięciokrotnie wyższą aktywność kardiotropową u *P. americana* w porównaniu z proktoliną wykazywała [L-Dopa²]-proktolina, podczas gdy efekt ten był znacznie obniżony u *T. molitor* [34]. Podobne efekty odnotowano dla [Tyr(3'-NO₂)²]- i [Phe(*p*-OEt)²]-proktoliny [37] (tab. 2). W testach miotropowych wykonanych na jajowodach szarańczy *L. migratoria* [42] (tab. 2) stwierdzono, że Phe(*p*-NO₂)²-, Phe(*p*-NH₂)²- i [L-Dopa²]-proktolina wykazywały właściwości agonistyczne, podczas gdy [Phe(*p*-OMe)²]-proktolina miała właściwości superagonistyczne [24] podobne do efektów wcześniej opisanych [22] w testach kardiotropowych u owadów.

Peptyd pozbawiony pierścienia aromatycznego w pozycji 2 łańcucha peptydowego ([Cha{4-OMe}²]-proktolina) [19], jak również proktolina z przedłużonym łańcuchem peptydowym uzyskana przez wbudowanie grupy —CH₂— w pozycję 2 — [Afb(*p*-X)²]-proktolina (gdzie X = —OH, NH₂ i NO₂) nie

Tabela 2. Analogi proktoliny modyfikowane w pozycji 2 łańcucha peptydowego i ich aktywność biologiczna (*in vitro*) u owadów

Peptyd typu: Arg-X ² -Leu-Pro-Thr	Efekt miotropowy u owadów				
	<i>P. americana</i> jelito tylne	<i>P. americana</i> serce	<i>T. molitor</i> serce	<i>L. migratoria</i> jajowód	<i>S. gregaria</i> jelito przednie
X ² =					
Phe(OMe)	sag [13]	sag [19]	sag [19]	sag [24]	ag [46]
Phe(OEt)	nb	ag [37]	nakt [17]	nb	sag [46]
D-Tyr; Ala; Phe;	nakt [13]	nb	nb	nb	nb
His; Trp	nakt [33]	nb	nb	nb	nb
Cha(4-OMe)	nb	nakt [19]	nakt [19]	nb	nb
Phe(<i>p</i> -NH ₂)	nb	sag [19]	sag [19]	ag [42]	sag [46]
Phe(<i>p</i> -NO ₂)	nb	sag [19]	sag [19]	ag [42]	ag [46]
Phe(<i>p</i> -N, NMe ₂)	nb	sag [19]	sag [19]	nb	ag [46]
L-Dopa	nb	sag [29, 34]	ag [29, 34]	ag [42]	słaby ag [46]
Tyr(3'-NH ₂)	nb	ag [37]	ag [37]	nb	sag [48]
Tyr(3'-NO ₂)	nb	ag [37]	ag [37]	nb	nb
Tyr(3'-I); Tyr(3', 5'-di-I)	nb	nb	nb	nb	ag [25]
Phe(<i>p</i> -F)	nb	nb	nb	nb	sag [25]
N-Me-Tyr	nb	nb	nb	nb	nakt [25, 46]
Afb(<i>p</i> -OH); Afb(<i>p</i> -NH ₂)	nb	nakt [19]	nakt [19]	nb	nb
Afb(<i>p</i> -NO ₂)	nb	nakt [19]	nakt [19]	nb	ag [46]
Tyr(α-Me)	nb	nb	nb	nb	ag [25, 46]
analog izosteryczny Tyr ψ Leu	nb	nb	nb	nb	nakt [41]
Ser; Tyr(<i>p</i> -Phos)	nb	nb	nb	nakt [26]	nb

Skróty — zob. objaśnienia do tab. 1.

miały wpływu na akcję serca *P. americana* i *T. molitor* [19, 22]. W biotestach wykonanych *in vitro* na jelicie przednim szarańczy (*S. gregaria*) [46] odkryto, że [Afb(*p*-NO₂)²]-proktolina wykazuje efekt antagonistyczny w odniesieniu do proktoliny. Nowe analogi proktoliny modyfikowane w pozycji 2 łańcucha, takie jak: [N-Me-Tyr²]-, [Phe(*p*-F)²]-, Tyr(3'-I)²]-, [Tyr(3',5'-di-I)²]- i [α-Me-Tyr²]-proktolina, zostały niedawno opisane przez grupę Osborne'a [25, 43, 44, 46] oraz [Ser²]- i [Tyr(O-Phosph)-proktolina przez grupę Lough-tona [24, 26]. Efekty miotropowe tych pochodnych oceniono *in vitro* w bioteście na jelicie przednim *S. gregaria*. Większość analogów wykazywała efekty agonistyczne w stosunku do proktoliny. Brak aktywności miotropowej stwierdzono tylko w przypadku [N-Me-Tyr²]-proktoliny, [α-Me-Tyr²]-proktolina natomiast, w odróżnieniu od pozostałych analogów, okazała się silnie działającym antagonistą proktoliny, był to po raz pierwszy opisany w literaturze antagonistą proktoliny [25]. W kolejnej pracy Osborne i wsp. [38] stwierdzili, że nieaktywna w testach kardiotropowych [Afb(*p*-NO₂)²]-proktolina [22, 37] wykazała właściwości antagonistyczne [38].

Odkrycie właściwości agonistycznych dla analogów jodowanych przy pierścieniu fenyłowym reszty Tyr², takich jak Tyr(3'-I)²- i [Tyr(3', 5'-di-I)²]-proktolina dają praktyczne możliwości wykorzystania znakowanych przez ¹²⁵I pochodnych proktoliny do identyfikacji i charakterystyki jej receptora [25]. Ten punkt widzenia znajduje potwierdzenie w badaniach Puiroux i wsp., którzy zastosowali jodowane pochodne proktoliny do charakterystyki jej receptorów w jajowodach *L. migratoria* [24]. Dalsze analogi [Ser²]- i [Tyr(O-Phosph)²]-proktoliny [24, 26] były praktycznie nieaktywne w odniesieniu do jajowodu *L. migratoria* [24].

Ciekawej modyfikacji proktoliny w pozycji 2 łańcucha peptydowego dokonali Cameron i Khambay [41]. Wymienili oni układ amidowy między Tyr² i Leu³ na wiązanie —CH₂—O—. Analog ten był pozbawiony aktywności miotropowej proktoliny u *S. gregaria*. W podsumowaniu tej części badań należy podkreślić, że efekt miotropowy proktoliny u owadów zależy od obecności podstawnika polarnego w pozycji *para* pierścienia aromatycznego aminokwasu w pozycji 2. Wolne pary elektronowe występujące przy atomach jodu, fluoru, tlenu lub azotu, które są bezpośrednio związane z pierścieniem aromatycznym, ułatwiają oddziaływanie peptydu z miejscem receptorowym u owadów. Obecność dodatkowego podstawnika polarnego w pozycji 3' układu fenyłowego reszty Tyr² powoduje wyraźny wzrost efektu miotropowego u karaczana i szarańczy.

Interesujące właściwości biologiczne obserwowano w odniesieniu do różnych gatunków owadów w przypadku [Afb(*p*-NO₂)²]-proktoliny, analogu z przedłużonym łańcuchem peptydowym przez grupę metylenową przy α-C reszty Tyr², który tracił aktywność kardiotropową u karaczana i mącznika [37], podczas gdy w odniesieniu do jelita przedniego szarańczy był antagonistą proktoliny [46]. Antagonistyczne właściwości dwu peptydów [α-Me-Tyr²]-

i [Afb(*p*-NO₂)]²-proktoliny są prawdopodobnie wynikiem obecności grupy metylowej lub metylenowej przy α-C reszty Tyr². Dane te wskazują, że antagonistów proktoliny należy poszukiwać wśród jej analogów modyfikowanych w pozycji 2 łańcucha peptydowego. Istotnym warunkiem jest, jak się zdaje, zachowanie wiązania peptydowego między Tyr² i Leu³. Bezpośrednim tego dowodem jest eksperyment Camerona i Khambaya [41], w którym wykazali, że wymiana wiązania amidowego między Tyr² i Leu³ na układ —CH₂—O— w cząsteczce proktoliny prowadzi do kompletnie nieaktywnego połączenia u *S. gregaria*.

L-Leucyna³

Hydrofobowa reszta L-leucyny jest usytuowana w szczególnym miejscu łańcucha peptydowego proktoliny pomiędzy resztą Tyr, która, jak wykazano, odgrywa ważną rolę w kreowaniu funkcji miotropowej u owadów [22, 25, 47], a resztą Pro, która jest odpowiedzialna za stabilizację biologicznie czynnej konformacji tego peptydu [48]. Rola tego aminokwasu była przedmiotem kilku publikacji [13, 23, 25]. Początkowo zbadano dwa jej analogi [D-Leu³]- i [Ala³]-proktolinę, które były nieaktywne w teście na skurcze jelita tylnego *P. americana* [13]. W dalszych badaniach [23, 25, 47] przeprowadzono syntezę analogów proktoliny modyfikowanych w pozycji 3 łańcucha peptydowego przez reszty Val, Thr, Gly, Pro, Acp, Ach [47] i N-Me-Leu [25] (tab. 3).

Efekty biologiczne oceniono testami miotropowymi na sercu *P. americana* i *T. molitor* oraz jelicie przednim *S. gregaria* [25, 47]. [Val³]- i [Gly³]-proktolina zachowywały odpowiednio 55 i 30% aktywności biologicznej u *T. molitor*. W przypadku *P. americana* tylko [Val³]-proktolina wykazywała 25% aktywności proktoliny. [N-Me-Leu³]-proktolina miała działanie agonistyczne w odniesieniu do jelita przedniego *S. gregaria* [25] w stopniu porównywalnym z proktoliną. Dane te dowodzą, że obecność reszty Leu w pozycji 3 łańcucha peptydowego ma istotne znaczenie w oddziaływaniu proktoliny z miejscem receptorowym u owadów. Problem ten jednakże wymaga jeszcze dalszych badań.

L-Prolina⁴ i L-treonina⁵

Znaczenie reszty Pro⁴ i Thr⁵ dla właściwości miotropowych proktoliny owadów również było przedmiotem kilku publikacji [13, 40, 48]. Starratt i Brown [13] najwcześniej opisali dwa analogi proktoliny, modyfikowane w pozycji 4 przez reszty Ala i D-Pro, oraz trzy pochodne, w których Thr⁵ została zamieniona na Ala, D-Thr i Thr-NH₂. Wszystkie analogi były pozbawione aktywności miotropowej w odniesieniu do *proctodeum* karaczana [13] (tab. 4).

Tabela 3. Analogi proktoliny modyfikowane w pozycji 3 łańcucha peptydowego proktoliny i ich własności biologiczne u owadów

Peptyd Arg-Tyr-X ³ -Pro-Thr	Właściwości miotropowe u owadów				
	<i>P. americana</i> jelito tylne	serce	<i>T. molitor</i> serce	<i>L. migratoria</i> jajowód	<i>S. gregaria</i> jelito przednie
X ³ =					
D-Leu; Ala	nakt [13]	nb	nb	nb	nb
Val	nb	ag [22]	ag [22]	nb	nb
N-Me-Leu	nb	nb	nb	nb	ag [25]
Gly	nb	słaby ag [22]	słaby ag [25]	nakt [24]	nb
Ser	nb	nb	nb	nakt [24]	nb
Acp; Ach; Pro; Thr	nb	nakt [22]	nakt [22]	nb	nb

Skróty – zob. objaśnienia do tab. 1.

Tabela 4. Analogi proktoliny modyfikowane w pozycji 4 i 5 łańcucha peptydowego i ich własności biologiczne u owadów

Peptyd	Właściwości miotropowe u owadów				
	<i>P. americana</i> jelito tylne	serce	<i>T. molitor</i> serce	<i>L. migratoria</i> jajowód	<i>S. gregaria</i> jelito przednie
Arg-Tyr-Leu-X ⁴ -Thr					
X ⁴ =					
D-Pro	nakt [13]	nb	nb	nb	nb
Ala	nakt [14]	nb	nb	ag [24]	nb
Hyp	nb	ag [40]	nb	nb	nb
Pro (4-OMe); Thz; <i>homo</i> -Pro; Ach; Sar	nb	nakt [40]	nakt [40]	nb	nb
Arg-Tyr-Leu-Pro-X ⁵					
X ⁵ =					
D-Thr; Ser; Thr-NH ₂	nakt [13]	nb	nb	nakt [24]	nb
Ala	nakt [13]	nb	nb	ag [24]	nb
N-Me-Thr	nb	nb	nb	nb	ag [25]
Thr-Ala	nb	nb	nb	ag [24]	nb

Skróty – zob. objaśnienia do tab. 1.

W kolejnych badaniach otrzymano analogi proktoliny, w których resztę Pro⁴ wymieniono na aminokwasy zawierające pierścień piperolidynowy: *homo*-Pro, Hyp (Pro(4'-OH) i Pro(4'-OMe) oraz reszty innych aminokwasów, jak: Thz, Ach i Sar. Wśród tych pochodnych tylko [Hyp⁴]-pochodna zachowywała około 50% aktywności proktoliny w bioassaju kardiotropowym, podczas gdy pozostałe analogi były nieaktywne [40] (tab. 4). Rezultaty te są dowodem na to, że obecność Pro⁴ w łańcuchu proktoliny jest istotna dla jej funkcji kardiotropowej u owadów.

Wśród analogów proktoliny modyfikowanych w pozycji 5 (tab. 4) tylko dwa analogi, [Ala⁵]- i [N-Me-Thr⁵]-proktolina, wykazywały efekt agonistyczny w odniesieniu do jajowodu *L. migratoria* [39] i jelita przedniego *S. gregaria* [25]. Jednak na tej podstawie niewiele można powiedzieć o roli Thr⁵ w łańcuchu proktoliny. Zagadnienie to jest nadal otwarte.

Inne analogi proktoliny

W tab. 5 zostały przedstawione analogi proktoliny z przedłużoną lub skróconą sekwencją peptydową, cykliczne pochodne oraz peptydy modyfikowane przez reszty D-aminokwasów. Wśród nich przedłużony analog [Arg⁰]-proktolina [33] wykazywała właściwości agonistyczne w odniesieniu do *proctodeum P. americana*. Analogi proktoliny ze skróconą sekwencją aminokwasową, jak: Arg-Tyr-Thr [25] i Tyr(3'-NH₂)-Leu-Pro-Thr [22] wykazywały słaby efekt inhibitorowy skierowany na jelito przednie szarańczy [25], a także na serce karaczana i mącznika [22].

Synteza analogów proktoliny modyfikowanych przez reszty D-aminokwasów miała na celu poszukiwanie peptydowego antagonisty proktoliny. Wykorzystano tu znane z literatury dane, że zamiana tylko jednej reszty L-aminokwasu na D-izomer w biologicznie czynnych hormonach peptydowych kręgowców jest wystarczającą modyfikacją do otrzymania antagonisty [35].

Na podstawie tych stwierdzeń podjęto więc syntezę serii pochodnych proktoliny, w których wymieniono jedną, dwie lub wszystkie reszty L-aminokwasów na ich D-izomery. Spośród serii kilkunastu pochodnych D-Arg-D-Tyr-D-Leu-D-Pro-D-Thr-, [D-Arg¹,D-Leu³]-, [D-Arg(NO₂)¹,D-Leu³]- i [D-Tyr²,D-Thr⁵]-proktolina niespodziewanie wykazywały działanie superagonistyczne w testach kardiotropowych u mącznika *T. molitor* [35].

Cykloproktolina, peptyd z usztywnioną cząsteczką proktoliny [25, 43], miała słabe właściwości antagonistyczne proktoliny w odniesieniu do jelita przedniego *S. gregaria*. Peptyd ten redukował w 37% odpowiedź miotropową proktoliny. Cykloproktolina typu H-Cys-proktolinylo-Cys-OH była biologicznie nieaktywna [26].

BADANIA KONFORMACYJNE PROKTOLINY

Studia stereochemiczne dotyczące proktoliny miały na celu ustalenie jej konformacji, a zwłaszcza wyjaśnienie, jaka konformacja jest odpowiedzialna za funkcję miotropową u owadów.

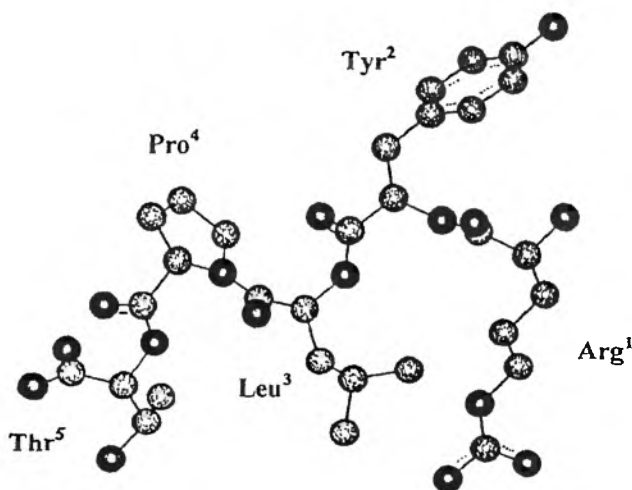
W 1979 r. Bertins i Nikiforovich [48] przedstawili rezultaty teoretycznej analizy konformacyjnej proktoliny. Na podstawie swoich obliczeń sugerowali oni, że za właściwości biologiczne proktoliny jest odpowiedzialna, występująca w przewodzie, konformacja zgięta, stabilizowana przez mostek jonowy pomiędzy grupą —COOH reszty Thr⁵ a układem ω -guanidynowym Arg¹. Pragnąc udowodnić swoją hipotezę, Nikiforovich [49] przeprowadził syntezę cyklicznego analogu proktoliny o usztywnionej konformacji zgiętej, co postulował w swojej pracy [48]. Usztywnienia cząsteczki proktoliny dokonał przez kondensację grupy ϵ -aminowej reszty Lys¹ (która była wprowadzona w miejsce Arg¹) i grupy α -karboksylowej reszty Thr⁵. Analog ten był pozbawiony właściwości miotropowych u owadów [49], co przeczyło hipotezie, że ten typ konformacji zgiętej proktoliny jest odpowiedzialny za jej funkcję biologiczną.

W 1994 r. Angielski i wsp. [50] przeprowadzili analizę konformacyjną proktoliny i serii jej biologicznie aktywnych analogów modyfikowanych w pozycji 1 i 2. Z analizy tej wynikało, że konformacja proktoliny i większości analogów wykazuje podobieństwo do innych biologicznie czynnych liniowych krótkich peptydów, na przykład enkefaliny. Dla proktoliny i jej pochodnych znaleziono 5 rodzin niskoenergetycznych konformacji [50]. Zdaniem autorów jednakże trudno było na tej podstawie ocenić, która konformacja tego małego, elastycznego peptydu jest odpowiedzialna za aktywność biologiczną.

Dalsze badania konformacyjne proktoliny i jej wybranych analogów zostały wykonane metodami spektroskopowymi, NMR [35, 38, 43] i CD [35]. Obiektem wstępnych badań konformacyjnych [35] była proktolina i jej analogi zawierające reszty D-aminokwasów, takie jak: D-Arg-D-Tyr-D-Leu-D-Pro-D-Thr, [D-Arg¹,D-Leu³]-, [D-Arg(NO₂)¹]-, [D-Arg¹, Pro⁴- i [D-Tyr², D-Thr⁵]-proktolina metodą NMR i CD w D₂O. Podstawowym powodem podjęcia studiów konformacyjnych tych właśnie analogów proktoliny była ich aktywność superagonistyczna w testach kardiotropowych u mącznika młynarka. Badania wykonane metodą NMR i CD wykazały, że cząsteczka proktoliny ma tendencję do tworzenia konformacji β -zgiętej (rys. 1) [35].

Przy zastosowaniu techniki NMR i CD odnotowano, że analog proktoliny zawierający wyłącznie reszty D-aminokwasów jest odbiciem lustrzanym proktoliny. Konformacja innych analogów proktoliny zawierających po dwie reszty D-aminokwasów podobnie do proktoliny jest zdominowana przez formę typu β -zgięcia.

Przedmiotem studiów konformacyjnych Osborne'a i wsp. [43], podjętych metodą NOE w roztworze w *d*⁶-DMSO i CD₃OH również była proktolina, jej

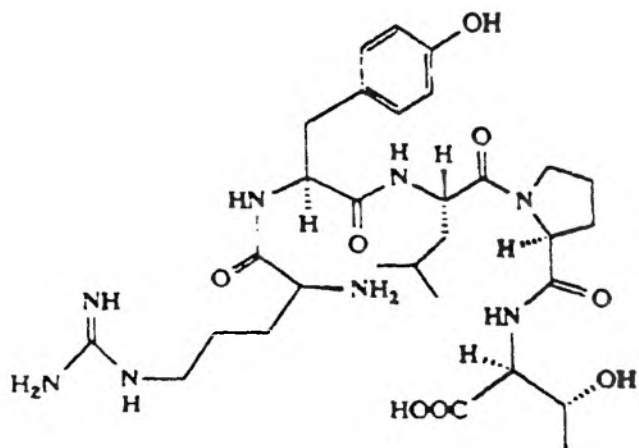


Rys. 1. Konformacja proktoliny wg [35]

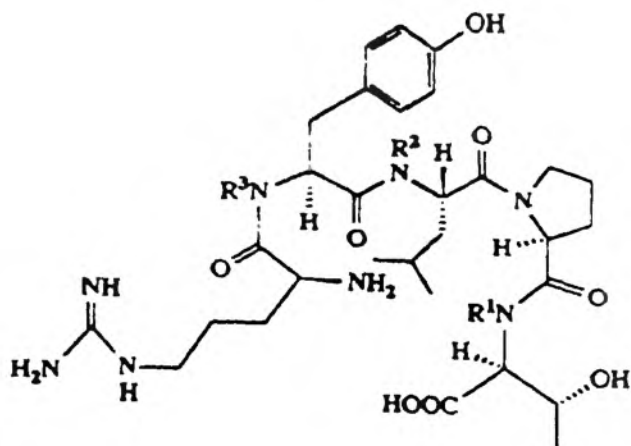
N-metylowane pochodne, jak: [N-Me-Tyr²]-, [N-Me-Leu³]-, [N-Me-Thr⁵]-proktolina oraz cykloproktolina. Na podstawie danych uzyskanych metodą NOE autorzy postulują, że w cząsteczce proktoliny przeważa (w 90%) konformacja zgięta stabilizowana oddziaływaniem jonowym między α -NH₂ Arg¹ i —COOH reszty Thr⁵ z wyraźną *trans*-geometrią wiązania amidowego przy reszcie Pro⁴. Zdaniem Osborne'a [43] istnienie *trans*-konformacji Pro jest ważnym elementem strukturalnym proktoliny dla jej funkcji miotropowej u owadów (rys. 2). Cykloproktolina (peptyd o usztywnionej strukturze uzyskanej przez wytworzenie wiązania amidowego między α -NH₂ Arg¹ i α -COOH reszty Thr⁵) istnieje w konformacji β -zgiętej i wykazuje geometrię *cis* przy reszcie Pro⁴ [38]. Geometria *trans* lub *cis* przy reszcie Pro⁴ w cząsteczce proktoliny być może ma wpływ na jej własności agonistyczne lub antagonistyczne. Badania te, jak się zdaje, mogą być bardzo pomocne w wyjaśnieniu mechanizmu oddziaływania proktoliny z jej miejscem receptorowym u owadów. Problem ten wymaga jednakże dalszych studiów, które powinny w bliskiej przyszłości dać ostateczną odpowiedź.

EFEKTY BIOLOGICZNE U SZCZURÓW

Poszukiwanie efektów biologicznych dla proktoliny i jej analogów u kręgowców stało się nowym interesującym kierunkiem badań [22]. Stosując metody behawioralne *in vivo*, ocenione zostały efekty naczyniowe i analgetyczne u szczurów po podaniu badanych związków do komory bocznej mózgu [51, 52]. Efekty naczyniowe badano dla proktoliny i jej analogów modyfikowanych w pozycji 1 i 2 łańcucha peptydowego, jak: [Lys¹]-, [Phe(*p*-NH₂)²]-, [Cha(4-OMe)²]- i [L-Dopa²]-proktoliny, w dawkach 10 i 100 nmoli każdego



A



B

Rys. 2. Konformacja proktoliny i jej N-metylowanych analogów:

A) Proktolina H-Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr.

B) [N-Me-Thr⁵]-proktolina R¹ = Me; R² = R³ = H. [N-Me-Leu³]-proktolina R² = Me; R¹ = R³ = H. [N-Me-Tyr²]-proktolina R³ = Me; R¹ = R² = H (Osborne i wsp. [44])

peptydu. Ciśnienie naczyniowe krwi i bicie serca określano metodą Jędrusiaka i wsp. [53]. Wśród testowanych peptydów proktolina, $[\text{Phe}(p\text{-NH}_2)^2]$ - i $[\text{Cha}(4\text{-OMe})^2]$ -proktolina (w dawce 10 lub 100 nmoli) powodowały znaczący wzrost ciśnienia i przyspieszenie akcji serca u szczurów, a proktolina i pozostałe peptydy były nieaktywne. Efekty te były blokowane przez podanie naloksonu [52].

Efekty analgetyczne u szczurów badano również dla proktoliny i jej pochodnych $[\text{Lys}^1]$ -, $[\text{Phe}(p\text{-NH}_2)^2]$ -, $[\text{Cha}(4\text{-OMe})^2]$ - i $[\text{L-Dopa}^2]$ - proktoliny w dawkach 10 i 100 nmoli po podaniu domózgowym (icv) metodą O'Callaghana i Holtzman [53]. Proktolina, $[\text{Phe}(p\text{-NH}_2)^2]$ - i $[\text{Cha}(4\text{-OMe})^2]$ -pochodna wykazywały aktywność analgetyczną, która była blokowana naloksonem. Szczególnie silny efekt przeciwbólowy utrzymujący się przez 60 minut dawała $[\text{Cha}(4\text{-OMe})^2]$ -proktolina.

Rezultaty tych badań wskazują, że efekt naczyniowy i analgetyczny obserwowany dla proktoliny i jej niektórych analogów jest związany z oddziaływaniem tych peptydów z receptorem opiatowym, zlokalizowanym w centralnym systemie nerwowym szczurów. Na podstawie zbadanych efektów dla kilku analogów proktoliny trudno wysnuć wnioski dotyczące zależności między strukturą a efektami uzyskanymi w testach behawioralnych u szczura. Niedawno [35, 54] w dalszych badaniach behawioralnych *in vivo* wykonanych dla D-Arg-D-Tyr-D-Leu-D-Pro-D-Thr- i $[\text{D-Tyr}^2, \text{D-Thr}^5]$ -proktoliny odnotowano, że peptydy te blokują efekt analgetyczny proktoliny [35] i obydwu enkefalin [54] w stopniu porównywalnym do naloksonu. Wskazuje to, że analogi zawierające więcej niż jedną resztę D-aminokwasów w łańcuchu proktoliny mają działanie antagonistyczne w stosunku do receptorów opiatowych zlokalizowanych w mózgu szczurów.

WNIOSKI

Na podstawie analizy efektów biologicznych proktoliny i jej analogów (tab. 1–5) uzyskanych w różnych biotestach można wyciągnąć następujące wnioski:

1) wśród 80 zbadanych analogów proktoliny 29 miało aktywność miotropową u owadów, z czego 25 było agonistami lub superagonistami, a 4 antagonistami proktoliny, szczególnie wysoką aktywność antagonistyczną wykazywały zaś $[\alpha\text{-Me-Tyr}^2]$ - i $[\text{Afb}(p\text{-NO}_2)^2]$ -proktolina;

2) efekt miostymulujący u owadów jest zależny od obecności podstawnika polarnego w położeniu *para* pierścienia aromatycznego aminokwasu w pozycji 2 łańcucha proktoliny [22] oraz od obecności atomu wodoru w wiązaniu peptydowym między resztami Arg¹ i Tyr², czego dowodem był brak aktywności biologicznej $[\text{N-Me-Tyr}^2]$ -proktoliny [45]; wiązania peptydowego między Tyr² a Leu³ [41];

3) istnienie dodatkowego podstawnika w położeniu 3' przy pierścieniu fenylowym Tyr² ułatwia prawdopodobnie oddziaływanie z miejscem receptorowym u owadów;

Tabela 5. Inne analogi proktoliny i ich właściwości biologiczne

Peptydy	Właściwości miotropowe u owadów				
	<i>P. americana</i> jelito tylne	<i>P. americana</i> serce	<i>T. molitor</i> serce	<i>L. migratoria</i> jajowód	<i>S. gregaria</i> jelito przednie
Arg-Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr	ag [33]	nb	nb	nb	nb
Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr-NH ₂	nakt [13]	nb	nb	nb	nb
Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr-Ala	nb	nb	nb	nakt [24]	nb
Tyr-Leu-Pro-Thr	nakt [13]	nb	nb	nakt [24]	nb
Leu-Pro-Thr	nakt [13]	nb	nb	nakt [24]	nakt [25]
Arg-Tyr-Thr	nakt	nb	nb	nb	antag [25]
Tyr-Arg-Tyr	nakt	nb	nb	nb	nakt [25]
Leu-Pro-Thr	nakt	nb	nb	nb	nakt [25]
Tyr-Leu	nakt	nb	nb	nb	nb
H-Cys-Arg-Tyr-Leu-					
OH-Cys-Thr-Pro	nb	nb	nb	nakt [24]	nb
HN-Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr-CO	nb	nb	nb	nb	antag [25]
Arg-Tyr-Leu-Pro	nb	nb	nb	nakt [24]	nb
Tyr(3'-NH ₂)-Leu-Pro-Thr	nb	antag [22]	antag [22]	nb	nb
Phe(<i>p</i> -NH ₂)-Leu-Pro-Thr	nb	nakt [22]	nakt [22]	nb	nb
Phe(<i>p</i> -NO ₂)-Leu-Pro-Thr	nb	nakt [22]	nakt [22]	nb	nb
Phe(3'-CO ₂ Et, 4'-OMe)-Leu-Pro-Thr	nb	nakt [22]	nakt [22]	nb	nb
D-Arg-D-Tyr-D-Leu-D-Pro-D-Thr	nb	nb	sag [35]	nb	nb
D-Arg(NO ₂)-Tyr-D-Leu-Pro-Thr	nb	nb	sag [35]	nb	nb
D-Arg-Tyr-Leu-D-Pro-Thr	nb	nb	nakt [35]	nb	nb
Arg-D-Tyr-Leu-Pro-D-Thr	nb	nb	ag [35]	nb	nb
Arg-D-Tyr-Leu-D-Pro-Thr	nb	nb	nakt [35]	nb	nb
Arg-Tyr-D-Leu-D-Pro-Thr	nb	nb	nakt [35]	nb	nb

Skróty — zob. objaśnienia do tab. 1.

4) obecność reszt Arg¹, Leu³ i Pro⁴ w cząsteczce proktoliny jest ważna dla jej funkcji miotropowej u owadów;

5) efekt miotropowy wybranych analogów proktoliny w odniesieniu do jajowodów i jelita przedniego szarańczy sugeruje istnienie sub-receptorów proktoliny u owadów;

6) właściwości antagonistyczne analogów proktoliny zależą prawdopodobnie od obecności grupy CH₃— lub —CH₂— przy C-α reszty Tyr²;

7) cyklizacja proktoliny (przez sprzężenie między α-NH₂ Arg¹ i α-COOH Thr⁵) lub skrócenie jej łańcucha (jak w przypadku analogów Arg-Tyr-Leu i Tyr(3'-NH₂)-Leu-Pro-Thr) prowadzi do uzyskania słabych antagonistów;

8) dotychczasowe badania stereochemiczne nie pozwalają na kategoryczne stwierdzenie, jaki typ konformacji proktoliny jest odpowiedzialny za jej aktywność biologiczną u owadów;

9) niektóre analogi proktoliny modyfikowane przez reszty D-aminokwasowe wykazały niespodziewanie aktywność supragonistyczną w odniesieniu do serca owadów, ale były antagonistami w stosunku do receptorów opiatowych u kręgowców;

10) proktolina i jej niektóre analogi, zawierające wyłącznie reszty L-aminokwasów wykazują znaczące działanie analgetyczne u kręgowców jako wyraz oddziaływania peptydów z receptorami opiatowymi zlokalizowanymi w mózgu.

Podziękowanie

W przygotowaniu pracy wykorzystano pomoc finansową KBN.

SKRÓTY

Nomenklatura aminokwasów i peptydów zgodnie z zaleceniami z 1983 r. wg IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature [Eur. J. Biochem. 13, 9 (1984)].

Ach	kw. 1-amino-1-karboksycyklopentanowy
Acp	kw. 1-amino-1-karboksycykloheksanowy
Afb(p-NH ₂)	kw. β-amino-γ-fenylo-p-amino-L-masłowy
Afb(p-NO ₂)	kw. β-amino-γ-fenylo-p-nitro-L-masłowy
Afb(p-OH)	kw. β-amino-γ-fenylo-p-hydroksy-L-masłowy
Can	L-canawanina
Cha(4-OMe)	β-cykloheksylo(4'-metoksylo)-L-alanina
Cit	L-cytrulina
L-Dopa	3',4'-dihydroksy-L-fenyloalanina
Gac	kw. 2-guanidyno-6-amino-L-n-kaptonowy
Gap	kw. 2-guanidyno-3-fenylo-p-amino-L-propionowy
Gav	kw. 2-guanidyno-5-amino-L-n-walerianowy
Hyp	L-4-hydroksyprolina
Me	metyl
NOE	<i>Nuclear Overhauser Effect</i> , jądrowy efekt Overhausera
Orn	L-ornityna
Phe(p-OEt)	p-etoksylo-L-fenyloalanina

Phe(<i>p</i> -Gn)	<i>p</i> -guanidyno-L-fenylalanina
Phe(<i>p</i> -NH ₂)	<i>p</i> -amino-L-fenylalanina
Phe(<i>p</i> -NMe ₂)	<i>p</i> -N,N-dimetyloamino-L-fenylalanina
Phe(<i>p</i> -OMe)	<i>p</i> -metoksylo-L-fenylalanina
Phe(<i>p</i> -NO ₂)	<i>p</i> -nitro-L-fenylalanina
Phosph	reszta H ₃ PO ₄
Pro(4'-OMe)	4'-metoksylo-L-prolina
Tyr(3'-NH ₂)	3'-amino-L-tyrozyna
Tyr(3'-NO ₂)	3'-nitro-L-tyrozyna
Thz	kwas-4-tiazolidyno-2-karboksylowy

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] B. E. Brown, A. N. Starratt, J. *Insect Physiology*, 1975, **21**, 1879.
- [2] B. E. Brown, *ibid.*, 1977, **23**, 861.
- [3] G. M. Holman, B. J. Cook, *Comp. Biochem. and Physiology*, 1979, **62C**, 231.
- [4] I. Orchard, J. H. Balanger, A. B. Lange, *J. Neurobiology*, 1989, **20**, 470.
- [5] B. E. Brown, *Life Sci.*, 1977, **17**, 1241.
- [6] E. A. Krawitz, B. Beltz, S. G. Glasman, M. Gay, R. Harris-Warwick, M. Johnson, M. Livingston, T. Schwartz, *Pesticide Biochem.*, 1984, **22**, 133.
- [7] M. E. Adams, M. O'Shea, *Science*, 1983, **221**, 286.
- [8] M. O'Shea, M. E. Adams, *ibid.*, 1981, **231**, 567.
- [9] A. N. Starratt, R. W. Steele, *Insect Biochem*, 1984, **14**, 97.
- [10] T. A. Miller, *Annals of Zoology*, 1979, **191**, 77.
- [11] T. A. Miller, R. E. Sullivan, *J. Neuroscience*, 1981, **12**, 629.
- [12] K. Spitala, A. Vankeerberghen, S. Torrekens, B. Devreese, L. Grauwels, F. Van Leuven, D. Hunt, J. Shabanowitz, L. Schoofs, J. Van Becumen, A. De Loof, *Mol. Cellular Endocrinol.*, 1996, **110**, 119.
- [13] A. N. Starratt, B. E. Brown, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1979, **90**, 1125.
- [14] S. X. Yi, L. Tirry, C. Bai, B. Devereese, D. Vanbeeumen, D. Dagheele, *Archiv. Insect. Biochem. Physiol.*, 1995, **28**, 159.
- [15] R. J. Nachman, G. M. Holman, B. J. Cook, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, **137**, 936.
- [16] R. B. Quistad, M. E. Adams, R. M. Scarborough, R. L. Carney, D. A. Schooley, *Insect. Life Sci.*, 1984, **34**, 569.
- [17] R. E. Issac, *Biochem. J.*, 1987, **245**, 365.
- [18] J. Puiroux, B. G. Loughton, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 1992, **19**, 193.
- [19] D. Konopińska, W. Sobótka, A. Lesicki, G. Rosiński, P. Sujak, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1986, **27**, 597.
- [20] D. Konopińska, A. Lesicki, P. Sujak, W. Sobótka, H. Bartosz-Bechowski, *ibid.*, 1988, **31**, 463.
- [21] D. Konopińska, H. Bartosz-Bechowski, G. Rosiński, A. Lesicki, P. Sujak, W. Sobótka, *ibid.*, 1990, **35**, 12.
- [22] D. Konopińska, G. Rosiński, W. Sobótka, *ibid.*, 1992, **39**, 1.
- [23] G. Rosiński, G. Gäde, *J. Insect Physiology*, 1988, **33**, 451.
- [24] J. Puiroux, A. Pedelaborde, B. G. Loughton, *Peptides*, 1993, **14**, 1103.
- [25] A. S. Gray, R. H. Osborne, P. J. Jewess, *J. Insect Physiol.*, 1994, **40**, 595.
- [26] V. M. Sevala, L. King, J. Puiroux, A. Pedelaborde, B. G. Loughton, [w:] *Insect Neurochemistry and Neurophysiology*, 1994, Proc. ICINN'93, Mariánské Lázně, Czech. Rep., A. B. Borkovets and M. J. Loeb (red.), CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1994, s. 233–236.

- [27] F. Goudey-Perriere, C. Perriere, P. Brousse-Gaury, *Comp. Bioch. Physiol.*, 1994, **108A**, 533.
- [28] H. Schultz, H. Schwartzberg, H. Penzlin, *Acta Biol. Germanica*, 1981, **40**, K1-K5.
- [29] D. Konopińska, G. Rosiński, A. Lesicki, P. Sujak, H. Bartosz-Bechowski, *Insecticide Mechanism of Action and Resistance*, Akademie der Landwirtschaftswissenschaften DDR, Berlin, Tagungsberichte, 1989, **274**, 105.
- [30] D. Konopińska, B. Kazanowska, W. Sobótka, J. Bogusławska-Jaworska, *Bull. Polish Acad. Sci. Chem.*, 1986, **34**, 327.
- [31] B. Kazanowska, J. Bogusławska-Jaworska, D. Konopińska, *Modern Trends in Human Leukemia VIII*, Neth R. (red.), Springer Verlag, 1989, p. 223.
- [32] A. N. Starratt, B. E. Brown, *Can. J. Chem.* 1977, **55**, 4238.
- [33] R. E. Sullivan, R. W. Newcomb, *Peptides*, 1982, **3**, 337.
- [34] D. Konopińska, G. Rosiński, A. Lesicki, P. Sujak, W. Sobótka, *Bull. Pol. Acad. Sci. Chem.*, 1988, **36**, 17.
- [35] D. Konopińska, M. Kuczer, G. Rosiński, A. Plech, M. Lisowski, B. Picur, *Insects: Chemical, Physiological and Environmental Aspects*, Proc. 1st Intern. Conference on Insects, Łądek-Zdrój 1994, Poland, D. Konopińska, et al. (red.), Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego, Wrocław 1995, s. 220.
- [36] D. Konopińska, G. Rosiński, W. Sobótka, *Pol. J. Chem.* 1994, **68**, 1437.
- [37] H. Bartosz-Bechowski, G. Rosiński, D. Konopińska, P. Sujak, W. Sobótka, *Int. J. Pept. Protein Res.* 1990, **36**, 450.
- [38] J. M. Hinton, R. H. Osborne, B. Odell, S. J. Hammond, I. S. Blagbbrough, *Bioorg. & Medicinal Chem. Letters*, 1995, **24**, 3007.
- [39] G. M. Holman, B. J. Cook, *Insect Biochem.*, 1979, **9**, 149.
- [40] D. Konopińska, H. Bartosz-Bechowski, G. Rosiński, W. Sobótka, *Bull. Pol. Acad. Sci. Chem.*, 1993, **41**, 27.
- [41] S. Cameron, B. P. S. Khambay [w:] *Insects: Chemical, Physiological and Environmental Aspects*, D. Konopińska et al. (red.), s. 209.
- [42] A. B. Lange, I. Orchard, D. Konopińska, *J. Insect Physiol.*, 1993 **39**, 347.
- [43] R. H. Osborne, A. S. Gray, J. M. Hinton, [w:] *Insects: Chemical, Physiological and Environmental Aspects*, D. Konopińska et al. (red.), s. 213.
- [44] R. H. Osborne, B. Odell, I. S. Blagbbrough, *I. S. Bioorgan. Med. Chem. Letters*, 1995, **5**, 2085.
- [45] G. Rosiński, A. Plech, A. B. Lange, I. Orchard, H. Bartosz-Bechowski, W. Sobótka, D. Konopińska, [w:] *Insect Neurochemistry and Neurophysiology*, A. B. Borkovets, M. J. Loeb (red.), s. 221.
- [46] J. M. Hinton, R. H. Osborne, H. Bartosz-Bechowski, D. Konopińska, *J. Insect Physiol.* 1996, **42**, 449.
- [47] D. Konopińska, G. Rosiński, W. Sobótka, *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, 1992, **44**, 505.
- [48] J. R. Bertins, G. V. Nikiforovich, *Bioorg. Chimia*, 1979, **5**, 1581.
- [49] G. V. Nikiforovich, 1992, informacja osobista.
- [50] A. Angielski, J. A. Liwo, D. Konopińska, J. Ciarkowski, *Bull. Pol. Acad. Sci. Chem.*, 1994, **42**, 277.
- [51] J. Jędrusiak, A. Plech, R. Brus, W. Sobótka, D. Konopińska, *Bull. Pol. Acad. Sci. Biol. Sci.*, 1991, **39**, 133.
- [52] J. Jędrusiak, A. Plech, R. Brus, D. Konopińska, W. Sobótka, dane nie opublikowane.
- [53] J. P. O'Callaghan, S. G. Holtzman, S. G. (1975). *J. Pharm. Exp. Therapy*, 1975, **192**, 497.
- [54] A. Plech, 1996, praca w przygotowaniu.

WYBRANE ASPEKTY CHEMII I BIOCHEMII TLENKU AZOTU

SOME ASPECTS OF NITRIC OXIDE CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY

Grażyna Stochel, Marek Pawelec, Zofia Stasicka

*Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński,
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków*

One of the most exciting findings in biological chemistry during last few years was discovery that nitric oxide, potentially toxic molecule, is responsible for astonishing range of physiological processes in human organism. The integration of nitric oxide chemistry with current perspectives of its biology illuminates many aspects of NO biochemistry. Some of these aspects are presented and discussed in this paper.

WSTĘP

Tlenek azotu, silnie toksyczny związek, przeżywa swój renesans. Jeszcze dziesięć lat temu zainteresowanie tlenkami azotu dotyczyło głównie trzech zagadnień [1–20]: (1) roli NO_x w zanieczyszczeniu środowiska i poszukiwania katalizatorów do ich usunięcia z gazów spalinowych i przemysłowych; (2) syntezy nitrozo- i nitrozwiązków organicznych i nieorganicznych; (3) zmian reaktywności cząsteczki NO poprzez koordynację do metalu.

Dopiero z końcem lat osiemdziesiątych seria odkryć w różnych działach nauk przyrodniczych pozwoliła na zauważenie ogromnej biologicznej roli tlenku azotu [21–80]. Badania wykazały, że tlenek azotu jest być może jedną z najważniejszych cząsteczek przekąźnikowych i bierze udział w regulowaniu wielu funkcji żywego organizmu. Między innymi tlenek azotu jest: (1) bardzo silnie działającym czynnikiem regulującym napięcie mięśni gładkich naczyń krwionośnych, a więc ciśnienie krwi organizmu [21–25, 34–46]; (2) wpływająca hamująco na zdolność płytek krwi do agregacji i adhezji, a więc hamuje tworzenie zakrzepów naczyniowych [41, 46]; (3) jest czynnikiem efektorowym cytotoksycznej aktywności makrofagów [47–71] oraz (4) bardzo istotnym neuroprzekąźnikiem odpowiedzialnym zarówno za fizjologiczne (mediacja w proce-

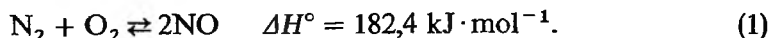
się uczenia się, pamięć trwała, mediacja w układzie non-adrenergicznym non-cholinergicznym), jak i patologiczne (ból, objawy padaczkowe, zwłaszcza towarzyszące niedotlenieniu mózgu) funkcje układu nerwowego [72–80].

Istotna fizjologiczna rola NO została opisana w „Wiadomościach Chemicznych” w 1995 r. [81]. Niniejsza monografia ma na celu przedstawienie najbardziej aktualnych zagadnień biochemii tlenku azotu na podstawie wybranych aspektów jego chemii i biologii.

1. CHEMIA TLENKU AZOTU

1.1. OTRZYMYWANIE

Tlenek azotu można otrzymać w wyniku bezpośredniej syntezy z pierwiastków:



Reakcja jest endotermiczna, równowaga w temperaturach niskich jest silnie przesunięta w stronę substratów. Większe ilości NO tworzą się dopiero w temperaturze $> 3000 \text{ K}$ (np. temperatura łuku elektrycznego lub silnika spalinowego). Do celów laboratoryjnych tlenek azotu otrzymuje się w wyniku redukcji kwasu azotowego(V) miedzią oraz kwasu azotowego(III) jonami jodkowymi lub kwasem askorbinowym. Na skalę przemysłową tlenek azotu otrzymuje się metodą katalitycznego spalania amoniaku (metoda Oswalda).

Tlenek azotu stosowany jest jako pułapka dla wolnych rodników. Jest również znany jako efektywny wygaszacz singletowego tlenu i innych stanów wzbudzonych.

1.2. WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE I REAKTYWNOŚĆ

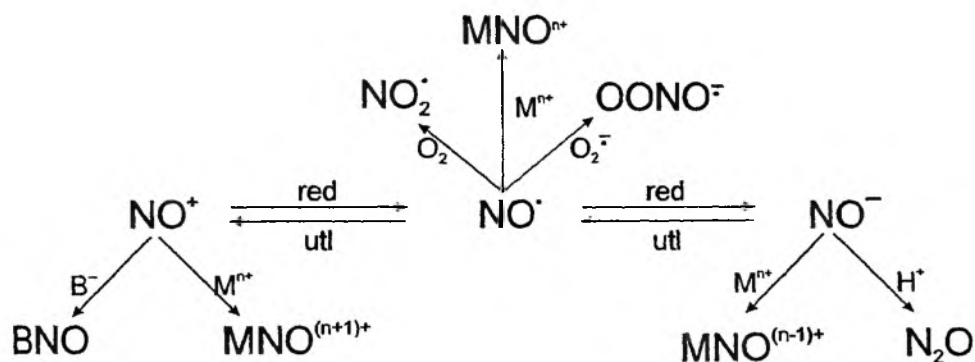
Tlenek azotu w temperaturze pokojowej jest bezbarwnym gazem. Skropleniu pod ciśnieniem atmosferycznym ulega w temperaturze 121 K . Czysta faza ciekła i stała jest również bezbarwna. W obecności NO_2 wykazuje niebieskie zabarwienie w wyniku tworzenia N_2O_3 . Rozpuszcza się w wodzie i lipidach. W temperaturze 298 K i pod ciśnieniem 1 atm rozpuszczalność w wodzie wynosi $1,8 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ i jest niezmienna w zakresie pH od 2 do 13 [28].

Cząsteczki NO stanowią rzadko spotykany przykład stosunkowo trwałych cząsteczek zawierających nieparzystą liczbę elektronów walencyjnych. Wykazują one trwały moment magnetyczny odpowiadający obecności jednego niesparowanego elektronu. Zgodnie z teorią orbitali molekularnych konfigurację elektronową cząsteczki NO można zapisać: $2[\text{He}] (\sigma 2s)^2 (\sigma^* 2s)^2 (\sigma 2p_x)^2 (\pi 2p_y)^2 (\pi 2p_z)^2 (\pi^* 2p_y)^1$. Usunięcie jednego elektronu opisanego orbitalem

antywiążącym (π^*2p_x) prowadzi do powstania kationu nitrozoniowego (NO^+), w wyniku dodania jednego elektronu natomiast powstaje anion nitroksylowy (NO^-). Wzrost liczby elektronów w szeregu NO^+ , NO^\bullet , NO^- obniża rząd wiązania, co powoduje wzrost długości wiązania, obniżenie energii wiązania i energii drgań walencyjnych N—O. Pomiar częstotliwości drgań walencyjnych NO stosowane są często do określenia charakteru grupy nitrozylowej w związkach zawierających skoordynowany NO [15, 82, 83].

Energia jonizacji NO wynosi $910 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ i jest znacznie mniejsza niż energia jonizacji cząsteczek azotu ($\text{N}_2 \rightarrow \text{N}_2^+ + e$, $1,510 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) lub cząsteczek tlenu ($\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2^+ + e$, $1,177 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). Tlenek azotu może być utleniaczem ($E^0 = +1,18 \text{ V}$ dla układu $\text{NO}/\text{N}_2\text{O}$ w $\text{pH} = 7$) lub reduktorem ($E^0 = +0,35 \text{ V}$ dla układu NO_2^-/NO w $\text{pH} = 7$) [26].

Reaktywność związanego tlenku azotu jest bardzo różnorodna ze względu na możliwość tworzenia trzech form redoks (NO^+ , NO^\bullet , NO^-). I tak, NO-związki mogą być utleniaczami lub reduktorami, nukleofilami lub elektrofilami, charakteryzować się dużym udziałem σ -donacji lub π -akceptacji. Najważniejsze typy reakcji charakterystyczne dla każdej z redoksowych form tlenku azotu zostały przedstawione na rys. 1. W warunkach fizjologicznych możliwa jest wzajemna interkonwersja NO^+ , NO^\bullet i NO^- dzięki reakcjom redoksowym z metalami, tiolami i związkami aromatycznymi.



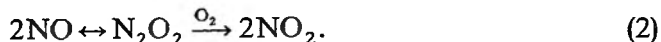
Rys. 1. Reaktywność i wzajemna konwersja form redoksowych tlenku azotu

Tlenek azotu(II)

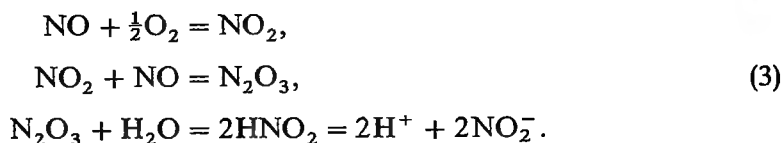
Tlenek azotu NO ulega reakcjom typowym dla rodników. Z biologicznego punktu widzenia najważniejsze z nich to reakcje z tlenem (O_2 , O_2^-) i z jonami metali przejściowych.

Reakcja NO z O_2 w fazie gazowej prowadzi do NO_2 i jest reakcją trzeciego rzędu, ($k[\text{NO}]^2[\text{O}_2]$). Czas połowicznego zaniku NO w wyniku reakcji z tlenem zależy więc w istotny sposób od początkowego stężenia tlenku azotu.

Obserwowana stała szybkości reakcji maleje ze wzrostem temperatury. Ogólnie przyjęte wyjaśnienie tego faktu zakłada szybką równowagę wstępną (z ujemną ΔH^0) prowadzącą do utworzenia dimeru N_2O_2 , który następnie reaguje z tlenem (etap limitujący):

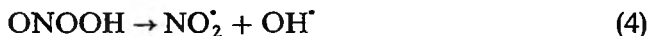


Kinetyka reakcji utlenienia była również badana dla wodnych roztworów NO, gdzie produktem końcowym reakcji jest, w zależności od pH, kwas azotowy(III) lub jon azotanowy(III) [84]. Równanie szybkości reakcji dla roztworów wodnych jest, podobnie jak dla fazy gazowej, równaniem trzeciego rzędu ($k[NO]^2[O_2]$) [28, 85, 86]. Proponowany jest następujący schemat reakcji:



Trzeciorzędowa stała szybkości reakcji $k \approx 5 \times 10^6 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ [85, 86] jest niezmienna dla roztworów o pH w zakresie 1–13. Obliczenia oparte na tych rezultatach wskazują, że nawet w roztworach wodnych nasyconych tlenem czas połowicznego zaniku dla NO, przy początkowym jego stężeniu 10^{-8} M wynosi około 3 godzin.

Tlenek azotu w roztworach wodnych reaguje szybko również z anionem nadadtlenkowym O_2^- ($k \sim 3,7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) tworząc anion peroksoazotanowy ($ONOO^-$), [87, 88]. W wyniku rozpadu cząsteczek nietrwałego kwasu peroksoazotowego powstaje rodnik hydroksylowy i dwutlenek azotu:



Tlenek azotu tworzy kompleksy z jonami metali przejściowych. Z biologicznego punktu widzenia ważne są kompleksy z jonami metali występującymi w metaloproteinach (Fe, Cu, Mo) [89–112].

Kation nitrozoniowy (NO^+)

W chemii kationu nitrozoniowego (NO^+) do najważniejszych należą reakcje addycji i substytucji elektrofilowej z zasadami lub związkami aromatycznymi. W roztworach wodnych nitrozowanie może zachodzić na atomach C, S, N, O jako centrach nukleofilowych.

Wiele nitrozopochodnych tworzących się w warunkach fizjologicznych może być traktowanych jako nośniki NO^+ . Do najważniejszych należą kompleksy metali, nitrozotiole, nitrozoaminy, alkaliczne i aromatyczne azotany(III), tlenki azotu(II), (III) i (IV) [29].

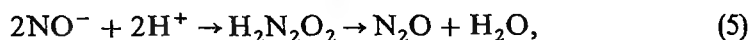
W układach biologicznych jest również wiele centrów nukleofilowych, na których może zajść reakcja nitrozowania. Istnieje ogromna literatura dotycząca deaminacji amin I-rzędowych i N-nitrozowania amin II- i III-rzędowych

poświęcona głównie problemowi ich kancerogenności [113, 114]. Rozpoznana zdecydowanie później możliwość nitrozowania tioli w warunkach fizjologicznych ma ogromne znaczenie regulacyjne [35, 115, 116]. Badano również nitrozowanie takich centrów istotnych z fizjologicznego punktu widzenia, jak amidy, związki karbonylowe i związki hydroksylowe [9, 117], jednakże ich rola w układach biologicznych jest na razie bardzo słabo poznana. Dla procesu nitrozowania pierścieni aromatycznych sugeruje się tworzenie kompleksów *charge-transfer* pomiędzy NO^+ a aromatycznym donorem elektronu ($\text{Ar-NO}^+ \leftrightarrow \text{Ar}^{+\cdot}\text{-NO}$) [118, 119].

O rzeczywistym znaczeniu reakcji nitrozowania na danym centrum nukleofilowym decyduje względna reaktywność substratów i stabilność produktów. S-nitrozowanie jest preferowane przez układy biologiczne w stosunku do N- i O-nitrozowania. Pomimo że aminy i tiole są jednakowo podatne na atak nitrozowania, w warunkach fizjologicznych ($\text{pH} \approx 7,4$) dominuje nitrozowanie tioli, ponieważ aminy występują w nieaktywnych, sprotonowanych formach. Dodatkowo duża zasadowość amin i nitrozoamin oraz większa zasadowość tlenu niż siarki powoduje, że nitrozotiole są o wiele mniej podatne na hydrolytyczną degradację. Różnica w wartościach pK_a , potencjałach redoks i strukturach molekularnych różnych tioli umożliwia spełnianie funkcji regulacyjnych przez nitrozotiole w sposób selektywny.

Anion nitroksylowy (NO^-)

Badaniom reaktywności NO^- poświęcono zdecydowanie mniej uwagi. W warunkach fizjologicznych do istotnych reakcji należą: tworzenie N_2O poprzez protonację, dimeryzację i dehydratację:



($k \sim 2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) [120], reakcje z hemowym Fe(III) ($k \sim 6,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) [121, 122] oraz odwracalna addycja do tioli niskocząsteczkowych i białek tiolowych z RSNOH jako produktem przejściowym.

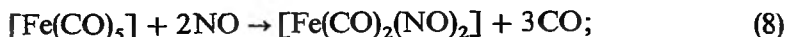
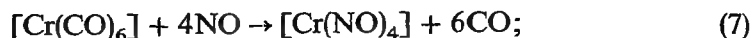
Ogólna charakterystyka tlenu azotu jako liganda w kompleksach nitrozylowych

Tlenek azotu chętnie reaguje z kompleksami metali przejściowych, tworząc kompleksy nitrozylowe [1, 4, 8, 123, 124]. W reakcjach syntezy tych kompleksów mogą uczestniczyć obojętne cząsteczki NO , kationy NO^+ , aniony NO^- lub inne związki zawierające azot na niższych lub wyższych stopniach utlenienia. Gazowy NO wchodzi do sfery koordynacyjnej w reakcjach:

– addycji z kompleksami nie wysyconymi koordynacyjnie, np.



– substytucji (głównie zastępuje ligand CO), np.



– w procesach redukcyjnego nitrozylowania



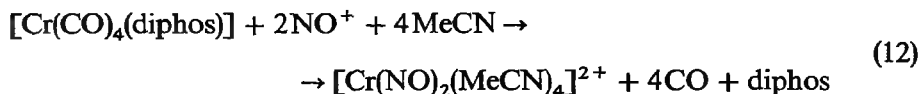
lub dysproporcjonowania, np.



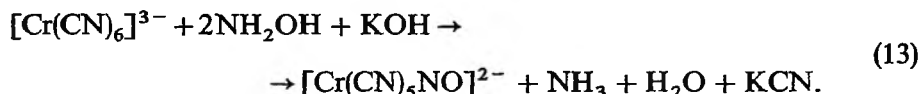
Synteza kompleksów nitrozylowych działaniem kationów NO^+ dokonuje się podczas reakcji soli nitrozylowych NOX z zasadowymi prekursorami, które są koordynacyjnie nienasycone, np.



lub mają łatwo wymienne ligandy, w tym również ligandy CO, np.



Anion NO^- , generowany w alkalicznym roztworze hydroksylaminy, stosowany jest często do syntezy kompleksów cyjanonitrozylowych, np.



Ligand NO może być przenoszony z jednego kompleksu do innego (donorami NO są często kompleksy z dimetylogliksymem lub fosfinami). Z innych związków azotu do syntezy nitrozylo-kompleksów stosuje się kwas azotowy(III) i (V) oraz azotany(III).

Tlenek azotu jest źródłem najciekawszej chyba rodziny ligandów w chemii koordynacyjnej. Każda z jego form występowania (NO^- , NO i NO^+) może być traktowana jako potencjalny ligand (por. rys. 1), chociaż jedynie anion NO^- spełnia klasyczne wymagania stawiane ligandom, tj. w reakcjach przejawia właściwości zasadowe; kation NO^+ wykazuje typowe właściwości kwasowe, a obojętna cząsteczka NO zawiera nieparzystą liczbę elektronów i jej reaktywność jest zgodna z charakterem rodnikowym.

Gotowość cząsteczek i jonów tlenku azotu do tworzenia związków koordynacyjnych wynika z właściwości pary elektronowej σ_s^* zlokalizowanej głównie na atomie azotu, która bierze udział w tworzeniu wiązania σ $\text{M}-\text{NO}$. Jednak, zarówno proces tworzenia kompleksu, jak i jego właściwości zależą znacznie od stopnia obsadzenia orbitalu π^* .

(1) Jeśli orbital ten jest pusty (NO^+), utworzeniu wiązania σ M—NO towarzyszy zmiana gęstości elektronowej wokół atomu azotu prowadząca do utworzenia wiązania π -akceptorowego. Partnerami w tym procesie są najczęściej centra metaliczne bogate w elektrony opisywane orbitalami typu t_{2g} , najlepiej o konfiguracji t_{2g}^6 . Ugrupowanie M—N—O w takich kompleksach ma strukturę liniową, charakterystyczną dla hybrydyzacji typu sp .

Ze względu na ten „synergiczny” charakter wiązań ligand NO^+ zachowuje się podobnie do izoelektronowych ligandów CO lub CN^- , tj. jak 2-elektronowy σ -donor i 2-elektronowy π -akceptor. Różnice w zachowaniu tych ligandów są tylko ilościowe: przewaga π -akceptacji nad σ -donacją wzrasta w szeregu



zgodnie ze wzrostem ładunku cząstki. Skutkiem takiego charakteru wiązań ligand NO^+ stabilizuje jony centralne bogate w elektrony, tj. wywodzące się z dalszych grup przejściowych (6–12) i będące na ich najniższych stopniach utlenienia.

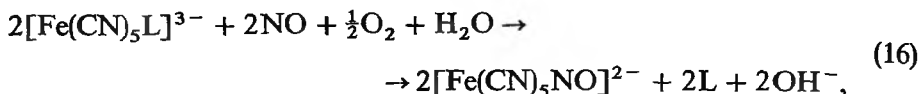
Jednak takie podejście do kompleksów nitrozylowych wytwarza często mylny pogląd na rozkład ładunków pomiędzy jonem centralnym a ligandem NO. Na przykład, można by przypuszczać, że w kompleksie $[\text{Cr}(\text{NO})_4]$ na atomie centralnym jest zgromadzony duży ładunek ujemny. W rzeczywistości różne techniki pomiarowe zgodnie wskazują na bardziej równomierny rozkład ładunku w kompleksach nitrozylowych, niż to wynika z formalnego przypisywania ligandowi NO ładunku +1 [1, 4, 15, 124–127]. Podobnie w przypadku kompleksów typu $[\text{M}(\text{CN})_5\text{NO}]^{n-}$ [gdzie M = V(I), Cr(I), Cr(II), Mn(I), Mn(II), Fe(I), Fe(II) i Fe(III)], w których wiązanie M—NO jest w przybliżeniu liniowe, wyliczony metodą SINDO ładunek liganda NO jest znacznie mniejszy od przyjętego formalnie NO^+ ($q_{\text{NO}} \leq -0,05$) [128–131]. Największy wyliczony w ten sposób ładunek skoordynowanej grupy NO dotyczy nietrwałego kompleksu Fe(III), $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^-$, natomiast dla nitroprusydku, w przypadku którego ligand NO jest powszechnie uważany za dodatni, ładunek ten wynosi tylko $-0,25$ [128–131]. Do podobnych wniosków o rozkładzie ładunków w kompleksach pentacyjanonitrozylowych prowadzą również wyniki pomiarów ESCA [15, 127].

(2) Jeżeli orbital π^* zajmuje 1 elektron, to mamy do czynienia z obojętną cząsteczką NO, którą często traktuje się jako ligand 3-elektronowy, co jest właściwością niezwykłą wśród ligandów. Proces tworzenia wiązania można formalnie rozpatrywać jako polegający na wstępnym przekazaniu elektronu do jonu metalu i następującej po tym koordynacji liganda NO^+ do zredukowanego centrum metalicznego poprzez wiązania σ i π charakterystyczne dla tego liganda (por. punkt 1).

Ilustracją takich zachowań może być reakcja syntezy pentacyjanonitrozyłżelazianu(II) działaniem gazowego tlenku azotu na kompleksy żelaza(III) typu $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{L}]^{2-}$, gdzie L = H_2O , NH_3 [16–20, 132]:



Analogiczne kompleksy żelaza(II) nie reagują z NO, natomiast można z nich uzyskać nitroprusydek w reakcji z NO_2^- lub $\text{NO} + \text{O}_2$:



a więc działaniem substancji zdolnych do generowania jonów NO^+ [16–20, 132, 133].

Dowodem na trójelektronowy charakter liganda NO mogą być reakcje substytucji, w których 3 ligandy CO są zastąpione przez 2 ligandy NO, przykład – reakcje (7) i (8), lub serie izoelektronowych związków, w których zastąpienie jonu centralnego przez inny jon zawierający mniej elektronów kompensowane jest przez zamianę liganda CO na NO, np. [4] $[\text{Ni}(\text{CO})_4]$, $[\text{Co}(\text{CO})_3(\text{NO})]$, $[\text{Fe}(\text{CO})_2(\text{NO})_2]$, $[\text{Mn}(\text{CO})(\text{NO})_3]$, $[\text{Cr}(\text{NO})_4]$.

(3) Wiązanie anionu NO^- (2 elektrony zajmują orbital π^*) prowadzi do zmiany gęstości elektronowej wokół atomu azotu i do struktury kątowej ugrupowania $\text{M}-\text{N}-\text{O}$, charakteryzowanej przez hybrydyzację typu sp^2 . W wiązaniu nie uczestniczą praktycznie orbitale typu π . Ligand NO^- wykazuje natomiast bardzo silną donację typu σ , co jest przyczyną wyjątkowo silnego efektu *trans*, wykazywanego przez ten ligand [1]. Zjawisko to zaobserwowano w niektórych kompleksach wysyconych koordynacyjnie, jak np. w $[\text{CoCl}(\text{NO})(\text{en})_2]\text{ClO}_4$ [134]. Przede wszystkim jednak jest ono podstawą wyjaśnienia przyczyny występowania licznych kompleksów liganda NO^- , głównie kobaltu i irydu, w postaci niewysyczonej koordynacyjnie, tj. o liczbie koordynacji 5 zamiast 6 [1]. Uważa się, że efekt labilizujący liganda NO^- jest tak silny, że jon metalu nie może utrzymać żadnego liganda w pozycji *trans* [135]. Dodatkowym argumentem jest najczęściej spotykana geometria tych kompleksów oparta o piramidę kwadratową z kątowym ligandem NO^- w pozycji osiowej [1].

Jak wynika z powyższego omówienia, określenie ligand nitrozyłowy wcale nie jest jednoznaczne: ligandy NO w różnych kompleksach mogą wykazywać różną symetrię, właściwości i reaktywność. Zwłaszcza NO może występować jako ligand mostkowy dwu- albo trójwiązący. Czasem występuje w różnych formach w tym samym kompleksie. Na ogół przyjmuje się, że struktura liniowa oparta na hybrydyzacji sp orbitali atomu azotu formalnie dotyczy liganda NO^+ , podczas gdy pozostałe struktury wywodzi się z hybrydyzacji sp^2 , dla której podstawową jednostką jest anion NO^- .

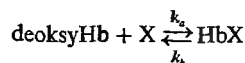
Większość kompleksów nitrozyłowych łatwo ulega procesom redoksowym oraz uczestniczy w reakcjach substytucji. Właściwość ta sprawia, że kompleksy nitrozyłowe odgrywają istotną rolę w procesach biochemicznych.

Dużo uwagi poświęcono reakjom tlenku azotu z $\text{Fe}(\text{II})$ hemowym [4, 89–112]. Stała równowagi dla reakcji deoksyhemoglobiny $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{Hb})$ z tlenkiem azotu jest o 5–6 rzędów większa niż dla reakcji deoksyhemoglobiny z O_2

[89–97]. Stałe szybkości reakcji asocjacji NO, CO, O₂ do deoksyhemoglobiny są porównywalne, ale stałe szybkości reakcji dysocjacji są drastycznie różne (tab. 1). Reakcja oksyhemoglobiny z NO prowadzi do powstania metHb i NO₃⁻ (17):



Tabela 1. Dane kinetyczne dla reakcji:



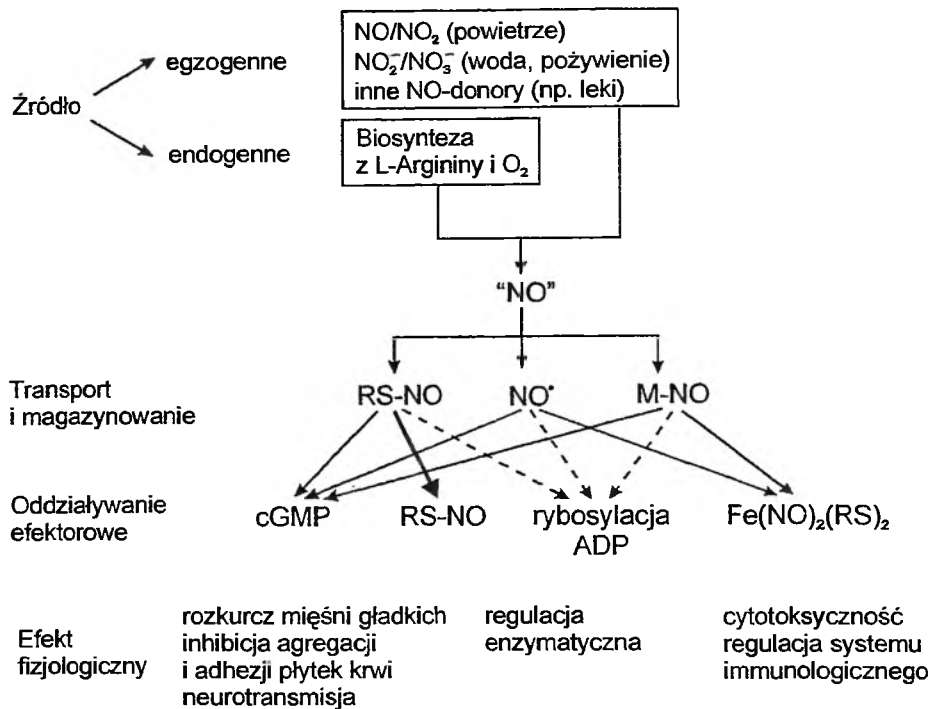
X	k_a [M ⁻¹ ·s ⁻¹]	Lit.	k_b [s ⁻¹]	Lit.
O ₂	2,5 × 10 ⁷	[92]	21,8	[92]
	1,3 × 10 ⁷	[94]	23,6	[97]
CO	5,2 × 10 ⁵	[93]	0,021	[91]
	3,8 × 10 ⁵	[95]	0,017	[95], [96]
NO	~ 5 × 10 ⁷	[89]	~ 10 ⁻⁵	[89]

Tlenek azotu w przeciwieństwie do CO i O₂ może przyłączać się do Fe(III) w porfirynach tworząc kompleks Fe^{III}(hem)-NO[•]. Stała szybkości reakcji asocjacji zależy od struktury proteiny w kieszeni hemowej i zmienia się od 10³ do 10⁷ M⁻¹·s⁻¹ [98, 99]. Kompleks Fe^{III}(hem)-NO[•] ulega reakcji wewnątrzsferowego przeniesienia elektronu z utworzeniem Fe^{II}(hem)-NO⁺. W wyniku ataku nukleofilowego na ten addukt następuje uwolnienie tlenu azotu [100, 101].

Również żelazo niehemowe tworzy kompleksy z NO. Duże zainteresowanie wzbudzają zwłaszcza reakcje tlenu azotu z Fe w białkach żelazowosiarkowych [26, 102–104]. Niektóre z tych białek biorą udział w procesach mitochondrialnego transportu elektronu, inne natomiast pełnią funkcje katalityczne (enzymy).

2. BIOCHEMIA TLENKU AZOTU

Tlenek azotu stał się przedmiotem ogromnego zainteresowania biologów, medyków i farmakologów po odkryciu, że w organizmie ssaków, w tym również człowieka, pełni bardzo ważne funkcje. Co roku ukazują się setki prac poświęconych roli tlenu azotu w fizjologii i patologii człowieka. Połączenie chemii wolnego i skoordynowanego tlenu azotu z jego rolą biologiczną kreuje ogromny wachlarz zagadnień z zakresu biochemii tego związku. Wśród istotnych problemów biochemii NO wymienić należy: pochodzenie NO, transport i magazynowanie, oddziaływanie efektorowe, funkcje fizjologiczne oraz toksyczność i sposoby obrony przed nią. Schematycznie zagadnienia te przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Schemat procesów biochemicznych z udziałem tlenu azotu

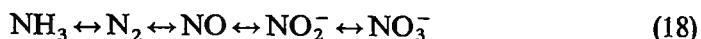
2.1. EGZOGENNE ŹRÓDŁA I SZKODLIWOŚĆ TLENKÓW AZOTU

Egzogenne donory NO można podzielić na dwie grupy: do pierwszej należą związki dostające się do organizmu człowieka w sposób niekontrolowany wraz z wodą i pożywieniem lub wdychane z powietrzem; drugą grupę stanowią leki, których działanie związane jest z wydzielaniem minimalnych ilości tlenu azotu, a które do organizmu wprowadzane są w sposób świadomy. Główne źródła zanieczyszczeń powietrza tlenkami azotu to spaliny samochodowe, dymy przemysłowe i dymy z papierosów. Woda i żywność zanieczyszczone są azotanami (III i V) pochodzącymi z nawozów, pestycydów czy środków konserwujących. Zarówno tlenki azotu, jak i azotany mogą być transportowane przez krew do różnych tkanek organizmu. Przyczyny szkodliwości tlenków azotu i azotanów są różnorodne. Do najważniejszych należą: (1) prokancerogenność (w wyniku nitrozowania naturalnych amin drugorzędowych tworzą się kancerogenne N-nitrozoaminy RR'NNO) [26, 113, 114]; (2) tworzenie silnie toksycznych rodników hydroksylowych $\cdot\text{OH}$, które inicjują utlenianie lipidów i grup SH; (3) dezaktywacja metaloprotein poprzez blokowanie miejsc wiąza-

nia O_2 (np. w Hb), blokowanie centrów aktywnych enzymów (np. w białkach żelazowosiarkowych) [26] i (4) reakcje redoksove zmieniające stopień utlenienia metalu w centrum aktywnym [26, 103, 104].

2.2. BIOSYNTETA TLENKU AZOTU

Tworzenie tlenku azotu przez bakterie i sinice jako produktu pośredniego w cyklu azotowym jest znane już od dawna. Procesy redoksove obejmujące związki azotu na różnych stopniach utlenienia:

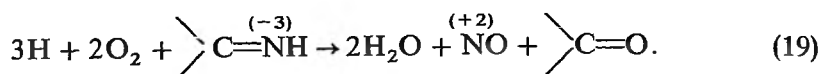


są katalizowane enzymami będącymi metaloproteinami zawierającymi centra aktywne typu: hem a, b, c, d; Mo; Fe_nS_x , Cu itd. [26].

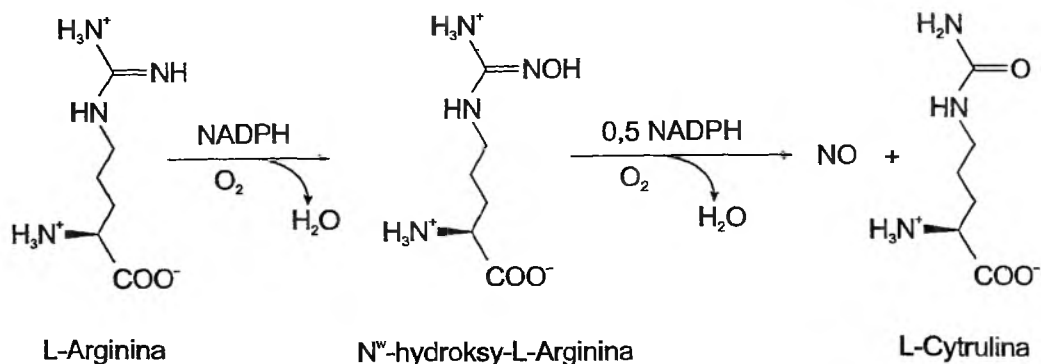
Biosynteza NO w organizmach ssaków, w tym również człowieka, została odkryta dopiero w latach osiemdziesiątych [21, 25, 27, 136–157]. Enzym syntaza NO (NOS) katalizuje utlenianie L-argininy tlenem do L-cytruliny i tlenku azotu. Znane są dwa rodzaje syntazy NO: konstytutywna oraz indukowalna [25, 138, 142, 147]. Syntaza konstytutywna wykazuje silną zależność od obecności w komórce jonów wapnia i białka kalmoduliny. Produkuje ona stale niewielkie (pikomolowe) ilości NO i jest w stanie odpowiedzieć nasileniem aktywności niemal natychmiast po zadziałaniu bodźca.

Białko syntazy indukowalnej natomiast jest syntetyzowane w komórce po zadziałaniu indukującego je bodźca, a maksimum aktywności tej syntazy przypada po około 6 godzinach od zadziałania bodźca. Syntaza indukowalna produkuje duże (większe niż nanomolowe) ilości NO i jej aktywność nie jest zależna od obecności kompleksu wapń/kalmodulina. Wszystkie formy enzymu wyizolowane z różnych tkanek zawierają cztery grupy prostetyczne: FAD (dinukleotyd flawinoadeninowy), FMN (mononukleotyd flawinowy), hem, H_4 biopteryna (tetrahydrobiopteryna) [138, 142–144]. Mechanizm biosyntezy tlenku azotu jest ciągle niedokładnie poznany [142–144]. Badania izotopowe (^{15}N i ^{18}O) wykazały, że atom azotu w cząsteczce NO jest jednym z dwóch równoważnych atomów azotu grupy guanidynowej z L-argininy, a cząsteczki O_2 są źródłem tlenu wbudowywanego do powstających cząsteczek L-cytruliny i NO [24, 149, 154]. Również badania izotopowe wykazały, że produktem pośrednim jest N-hydrokso-L-arginina, a grupa $NH-OH$ jest źródłem azotu dla cząsteczki NO [24, 149, 154]. Konwersja L-argininy do L-cytruliny i NO katalizowana przez enzym NOS jest więc nietypowym procesem pięcioelektronowego utlenienia jednego z dwóch równoważnych atomów azotu grupy guanidynowej w cząsteczce L-argininy. Do utworzenia 1 mola NO zużywa się 2 mole O_2 (8-elektronowe utlenianie) oraz 1,5 mola NADPH

(3-elektronowa redukcja), co w sumie daje proces 5-elektronowego utleniania (19):



Przyjęta ogólnie hipoteza [27, 142–149] zakłada, że proces ten biegnie dwuetapowo:



Pierwszy etap, dwuelektronowe utlenienie, to proces hydroksylacji prowadzący do utworzenia N-hydroksyl-L-argininy jako produktu przejściowego związanego z enzymem. Fakt, że syntaza NO jest w dużym stopniu homologiczna z cytochromem P-450 sugeruje podobieństwo pierwszego etapu biosyntezy NO do klasycznych reakcji hydroksylacji katalizowanych cytochromem P-450 z udziałem Fe hemowego jako centrum aktywnego [27, 138, 142–144, 152, 153, 156].

W skład drugiego etapu, który jest trójelektronowym procesem utleniania, wchodzi usunięcie elektronu, insercja tlenu i rozerwanie wiązania C—N, co w konsekwencji prowadzi do powstania NO i L-cytruliny. Postuluje się [142–144, 153], że również w tym etapie zaangażowany jest hem z domeny cytochromu P-450.

2.3. TRANSPORT I MAGAZYNOWANIE NO

Forma, w jakiej tlenek azotu jest uwalniany z komórki, w której jest syntetyzowany, podlega ciągle burzliwym dyskusjom. W szczególności identyfikacja EDRF (śródbłonkowego czynnika rozkurczającego) wzbudza wiele kontrowersji. Biorąc pod uwagę duże fizjologiczne i farmakologiczne podobieństwo EDRF i NO, większość badaczy przychyliła się do uznania EDRF za NO [22, 157]. Są jednak doniesienia dowodzące, że EDRF to S-nitrozo-cysteina [158], NO⁻ [159, 160] lub nitrozyłowy kompleks Fe hemowego [161, 162].

Generowanie różnych związków NO może być przedstawione jako proces „upakowania” tlenu azotu w formach, które najlepiej nadają się do spełnienia określonych funkcji produktów przejściowych. Odpowiednie „upakowanie” NO, czyli istnienie różnego typu buforów NO determinowanych właściwościami danego mikrośrodowiska (pH, E^0 itp.), może decydować o jego transporcie, przedłużać lub skracać jego czas życia we krwi i tkankach, umożliwiać dostarczanie go do właściwego miejsca w formie najbardziej sprzyjającej reakcji docelowej oraz kontrolować jego toksyczność, czyli być jednym z możliwych sposobów na rozwiązanie paradoksalnych obserwacji cytotoksycznego i cytoprotekcyjnego działania tlenu azotu [29].

Dominującą formą występowania tlenu azotu w osoczu są S-nitrozotiole (RSNO), głównie S-nitrozoproteiny [29, 116], które są obecne w osoczu w stężeniach mikromolowych. Bufor S-nitrozotiole służy jako „dostawca” i „odbiorca” wolnego tlenu azotu, utrzymując jego określone stężenie. Ponieważ wiązanie RS—NO w nitrozotiolach może ulegać homolitycznemu i heterolitycznemu pękaniu, związki te mogą generować i buforować zarówno addukty z NO, jak i z NO^+ [29, 163]. W silnie redukujących warunkach RS—NO może również uwalniać NO^- [164]. Tlenek azotu w formie S-nitrozotiole nie reaguje z O_2 oraz O_2^- i w ten sposób ogranicza generowanie toksycznych pochodnych N_xO_y . Tworzenie RS—NO może zatem dostarczać sposobu kontroli toksyczności NO^\bullet . Dodatkowo, modulowanie grup tiolowych w receptorach NMDA przez tworzenie S-nitrozotiole może dostarczać sposobu ochrony przed neurotoksycznością [29, 116].

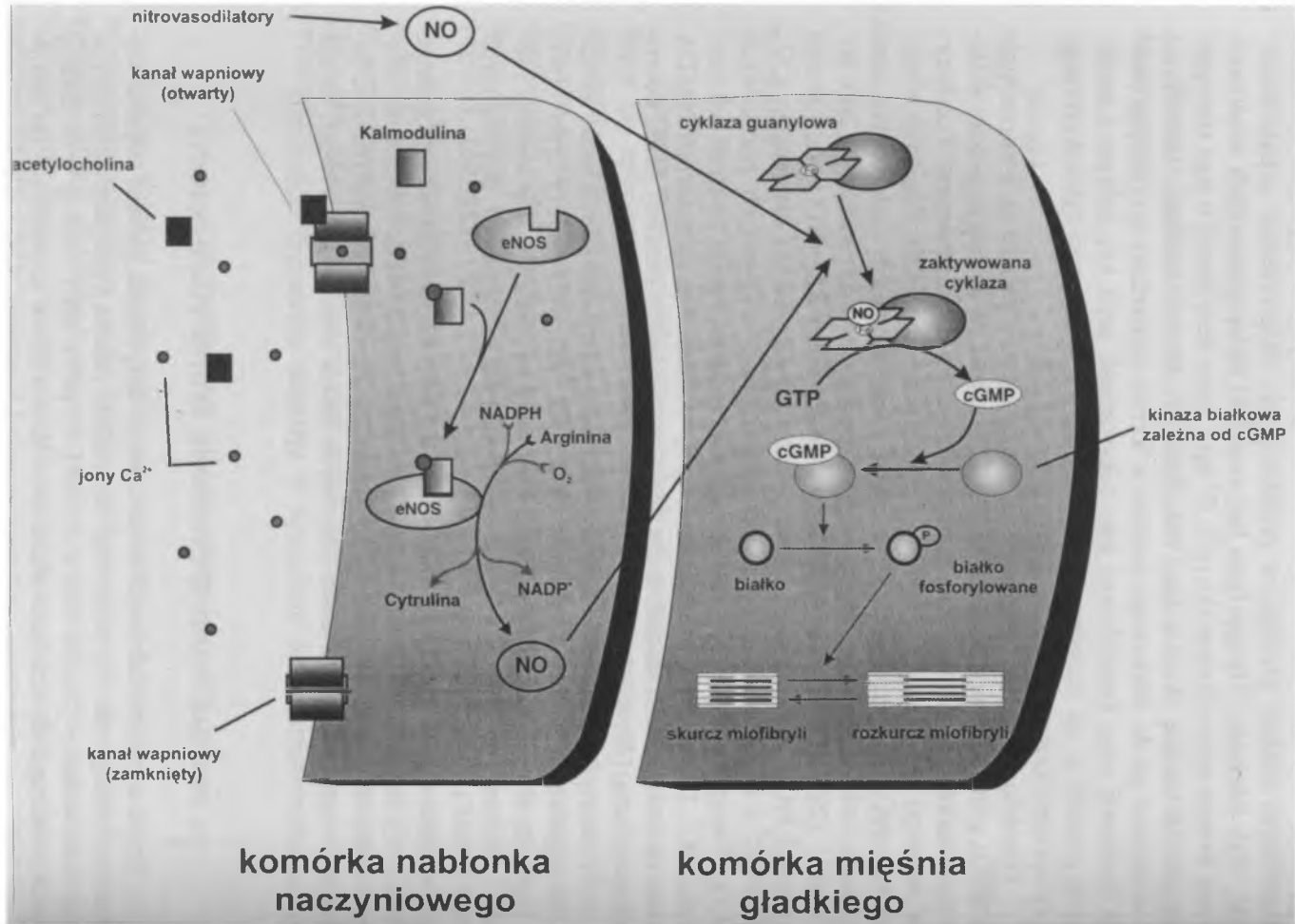
Produkty N-nitrozowania są wykrywane w moczu zdrowych osób, ale nie były obserwowane bezpośrednio we krwi [26, 29]. NO-donory typu N_2O_3 i N_2O_4 są również prawdopodobnymi formami przejściowymi w osoczu, moczu i komórkach [113, 114]. Są potencjalnymi czynnikami nitrozującymi (NO^+ , NO^\bullet).

Addukt HbFe(II)-NO można wykryć we krwi podczas szoku septycznego [165, 166]. Kompleksy nitrozylo-żelazowe mogą współdziałać z S-nitrozotiolami w buforowaniu fizjologicznego stężenia NO. Kompleksy nitrozylo-tiolo-żelazowe tworzące się w centrach aktywnych białek żelazowosiarkowych uważa się za odpowiedzialne za modulację w systemie obronnym organizmu.

2.4. ODDZIAŁYWANIE EFEKTOROWE, SKUTEK FIZJOLOGICZNY

Tlenek azotu ma zdolność modulowania aktywności protein poprzez odwracalne reakcje addycji/substytucji lub reakcje redoks z grupami funkcyjnymi (np. tiole, metale) [26, 29, 116, 167, 168]. Poprzez taką właśnie modyfikację białek dokonuje się działanie efektorowe tlenu azotu prowadzące do określonej odpowiedzi fizjologicznej organizmu.

Do najintensywniej badanych i najlepiej do tej pory poznanych funkcji tlenu azotu w organizmie ludzkim należą: (1) rola NO w układzie krążenia



Rys. 3. Schemat działania NO w układzie krwionośnym

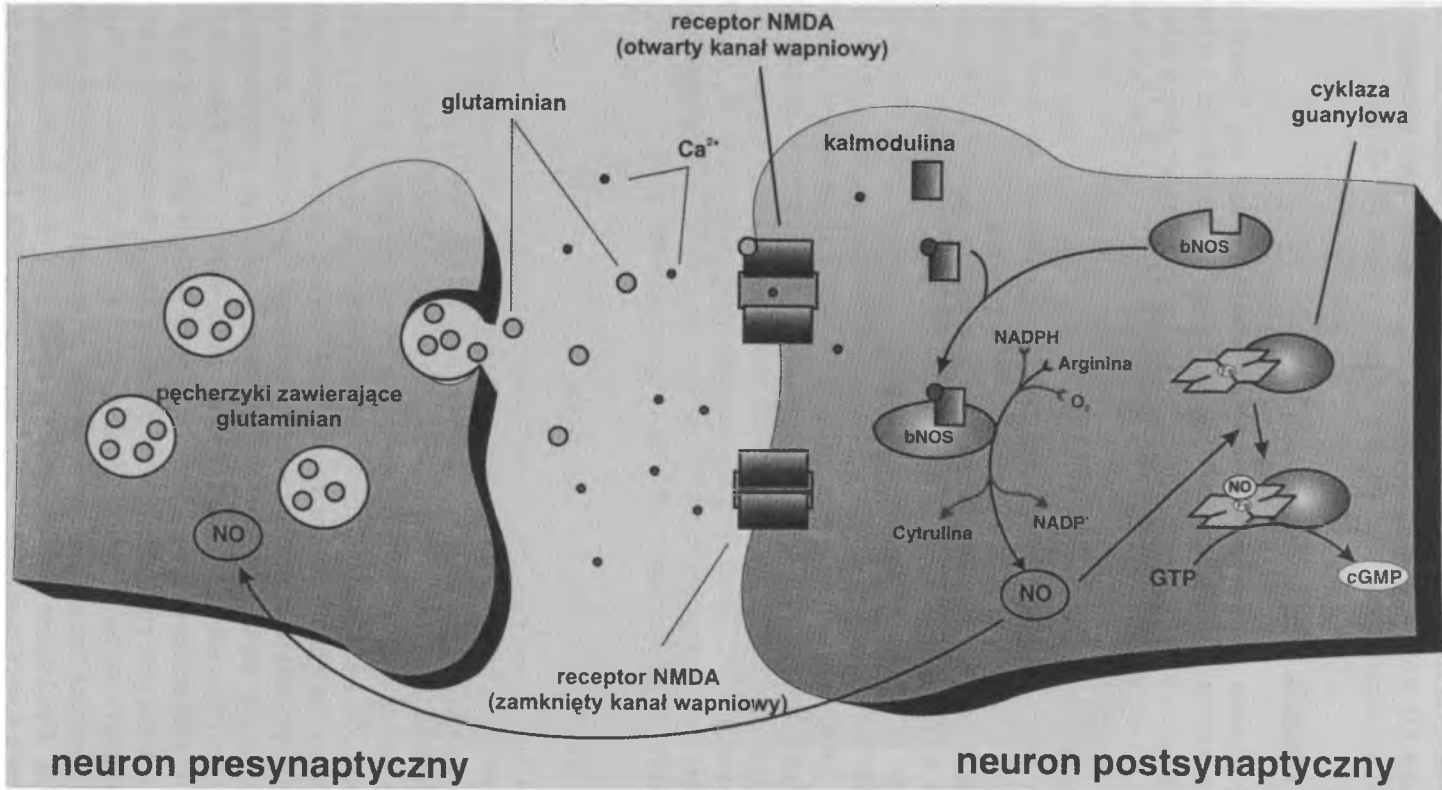
[21–25, 34–36], (2) rola NO w centralnym i obwodowym układzie nerwowym [72–80] oraz (3) rola NO w funkcjonowaniu komórek tzw. pierwszej linii obronności, tj. monocytów, makrofagów i leukocytów [47–71].

2.4.1. Działanie w układzie krwionośnym

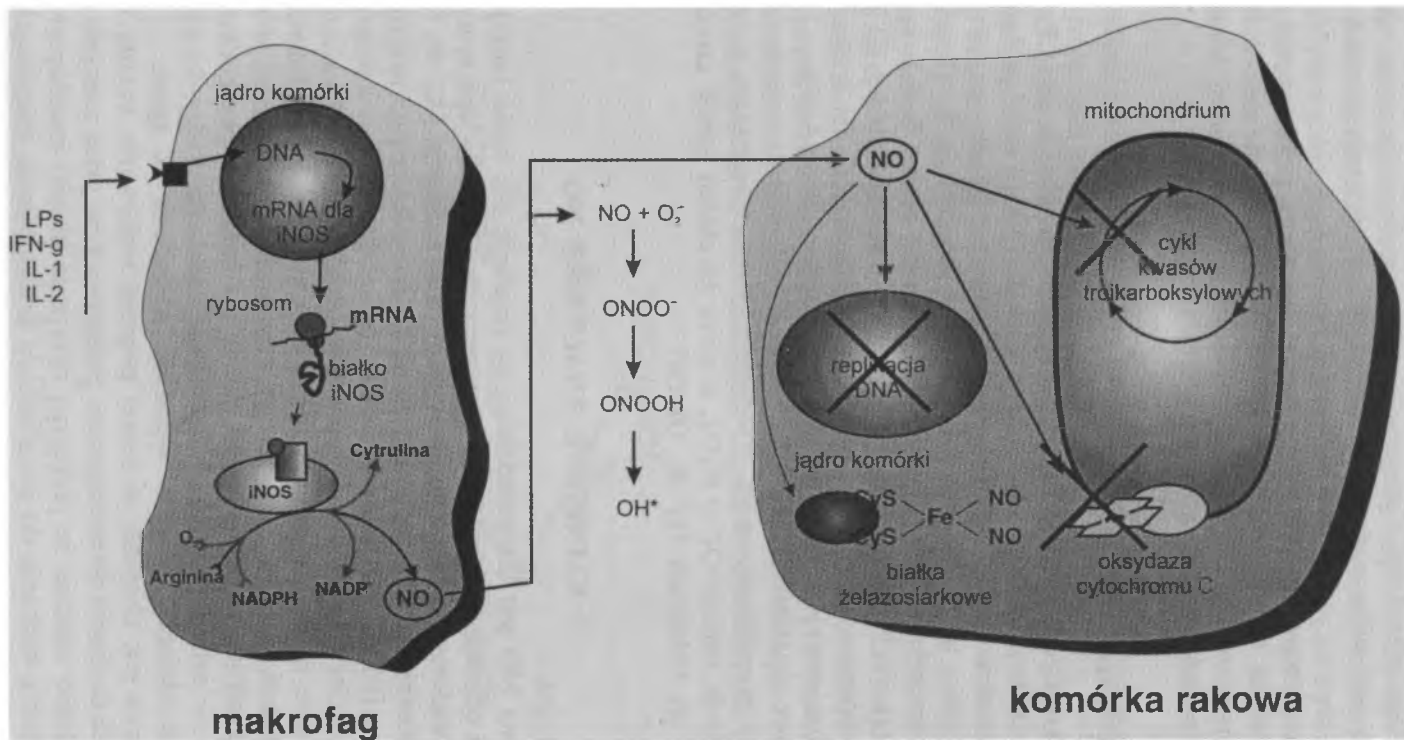
Pod wpływem takich aktywatorów, jak acetylocholina czy bradykinina dochodzi w komórce nabłonka do otwarcia kanałów wapniowych i wzrostu stężenia tego jonu w cytoplazmie (rys. 3). Powoduje to uaktywnienie kalmoduliny, która po związaniu z jonami Ca^{2+} przyłącza się do syntazy NO (NOS) aktywując ten enzym do syntezy NO z L-argininy i O_2 . Powstały NO dyfunduje do sąsiednich komórek mięśni gładkich oraz krwi, gdzie jego czas życia jest jednak krótki. W otaczających nabłonek naczyń komórkach mięśni gładkich NO wiąże się z żelazem grupy hemowej w centrum aktywnym cyklicznej guanylowej – enzymu produkującego cGMP (cykliczny monofosforan guanozyny, jeden z podstawowych efektorów komórkowych). Wiążąc się z żelazem, tlenek azotu powoduje zmianę konfiguracji przestrzennej grupy hemowej, co prowadzi do wzrostu aktywności enzymu. Zwiększenie stężenia cGMP prowadzi do uaktywnienia cGMP-zależnej kinazy białkowej, enzymu fosforylującego białka, między innymi łańcuchy miozyny oraz białka kanałów wapniowych. Fosforylacja białek powoduje rozkurcz mięśniówki naczyniowej, a tym samym spadek ciśnienia krwi. Tlenek azotu natomiast, który przedostaje się z nabłonka do krwi, zmniejsza aktywność trombocytów (płytek krwi), zmniejszając w ten sposób możliwość powstania zakrzepu naczyniowego.

2.4.2. Działanie w układzie nerwowym

Tlenek azotu odgrywa, jak się wydaje, istotną rolę w układzie nerwowym, zarówno centralnym, jak i obwodowym. Wyodrębniono odmianę syntazy tlenku azotu występującą w komórkach układu nerwowego, bNOS (*brain*). Jest to enzym zaliczany do typu syntaz konstytutywnych. Jak wiadomo, sygnały w układzie nerwowym, w obrębie neuronu przekazywane są w postaci impulsu elektrycznego, natomiast na połączeniach komórek (tzw. synapsach) przekazywane są na drodze chemicznej przez cząsteczki zwane neurotransmiterami. Są to zazwyczaj stosunkowo małe cząsteczki, takie jak glutaminian, serotonina, acetylocholina czy wazopresyna. Po uwolnieniu z neuronu presynaptycznego dyfundują do neuronu postsynaptycznego, gdzie wiążą się z odpowiednimi receptorami. Dla glutaminianu takim receptorem jest receptor NMDA (kwasu N-metylo-D-asparginowego). Związanie glutaminianu przez receptor powoduje otwarcie kanałów wapniowych w błonie neuronu, a napływające do wnętrza jony Ca^{2+} , poprzez zmianę potencjału błony, powodują przekazanie pobudzenia neuronu. Zwiększenie stężenia jonów wapnia uaktywnia kalmodulinę, która wiążąc się z bNOS powoduje rozpoczęcie syntezy NO. Tlenek azotu dyfun-



Rys. 4. Schemat działania NO w układzie nerwowym



Rys. 5. Schemat działania NO w układzie immunologicznym

duje do otaczających neuronów, również presynaptycznego, gdzie oddziałuje na cyklazę guanylową i przyczynia się do zmniejszenia progu aktywacji synapsy, co jest jedną z sugerowanych dróg powstawania pamięci trwałej (rys. 4).

W obwodowym układzie nerwowym tlenek azotu pełni również funkcje neurotransmitera w tzw. włóknach NANC (*non-adrenergic non-cholinergic*), które występują w układzie sercowo-naczyniowym, oddechowym, trawiennym i moczowo-płciowym.

2.4.3. Działanie cytotoksyczne

W makrofagach zaktywowanych przez takie substancje, jak LPs (Lipopolisacharyd) czy interleukiny (Interferon- γ , IL-1, TNF- α) może nastąpić synteza i uaktywnienie indukowalnej syntazy tlenu azotu, która umożliwi syntezę tlenu azotu w dużych, cytotoksycznych ilościach (rys. 5). Tlenek azotu wnika do komórek docelowych, gdzie oddziałuje na istotne funkcje komórki. Blokuje on (1) cykl kwasów trójkarboksylowych w mitochondrium, (2) łańcuch oddechowy poprzez związanie z oksydazą cytochromu C, (3) syntezę DNA poprzez zahamowanie aktywności reduktazy rybonukleotydowej.

Docelowe działanie tlenu azotu może być hamowane między innymi przez aniony ponadtlenkowe O_2^- i oksyhemoglobinę. Dysmutaza ponadtlenkowa katalizuje reakcję $O_2^- \rightarrow H_2O_2$, a przez to chroni tlenek azotu przed utlenieniem go rodnikiem O_2^- do $ONOO^-$.

3. KLINICZNE ZNACZENIE NO

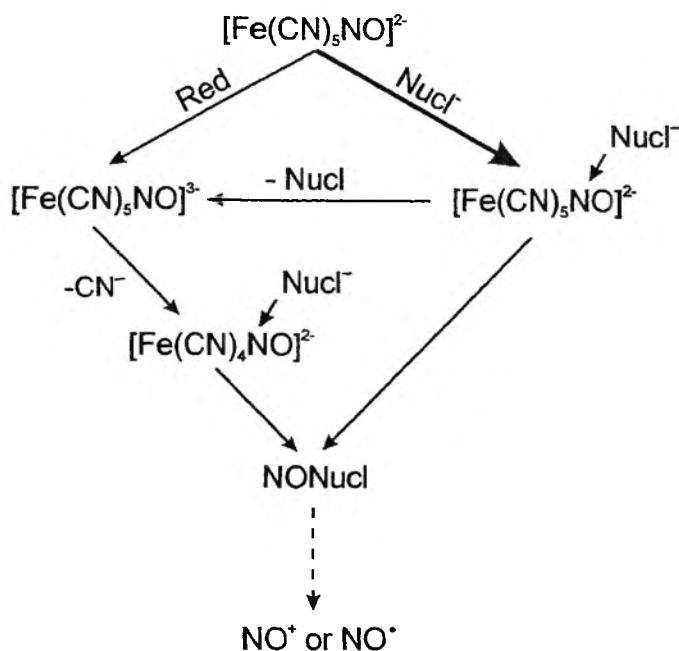
Ponieważ NO jest odpowiedzialny za regulację tak wielu funkcji fizjologicznych i obronnych organizmu, siłą rzeczy upośledzenie jego syntezy jest związane z wieloma stanami chorobowymi i patologicznymi [33, 46, 69, 70]. Jak już wspomniano, NO pełni rolę czynnika cytotoksycznego makrofagów. Jak wykazano [61, 62, 67], może on spełniać te funkcje zarówno w stosunku do bakterii, jak i pierwotniaków, np. *Leishmania*, *Plasmodium* czy *Rickettsia*. Jednak powiązanie uwalniania dużych ilości NO w układzie odpornościowym z jego działaniem na mięśniówkę naczyń krwionośnych może mieć w niektórych wypadkach katastrofalne skutki, jak to ma miejsce w przypadku szoku septycznego — ostrego stanu zapalnego [46]. Dochodzi wtedy do gwałtownego spadku ciśnienia krwi i w większości wypadków do zgonu.

Miażdżycą jest chorobą, w której poprzez blokowanie światła naczyń krwionośnych dochodzi do wstrzymania przepływu krwi przez naczynie krwionośne. Wiadomo obecnie, że przyczyną tworzenia blaszki miażdżycowej jest nagromadzenie i wnikanie do ścian naczyń krwionośnych utlenionych lipo-protein. Tlenek azotu pełni funkcje protekcyjne w stosunku do utlenienia lipo-protein, jednakże jego produkcja jest hamowana przez ich obecność [46].

Tlenek azotu odgrywa również pewną rolę w cukrzycy insulinozależnej. Otóż jest on czynnikiem, który jest bezpośrednio odpowiedzialny za niszczenie komórek trzustki produkujących insulinę. Pod wpływem uwalnianych w ognisku zapalnym cytokin dochodzi też, w pewnych warunkach, do wytwarzania NO przez same komórki β trzustki – swego rodzaju „samobójstwo” komórek [169].

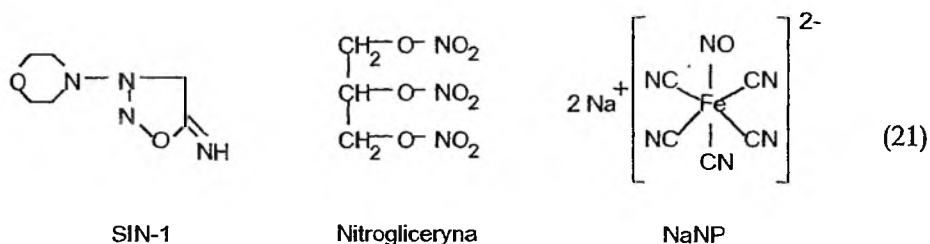
4. FARMAKOLOGICZNE ZNACZENIE NO

Najdłużej stosowanym lekiem działającym poprzez uwalnianie tlenku azotu jest trójazotan gliceryny, tradycyjnie zwany nitrogliceryną. Jest ona stosowana już od ponad stu lat w leczeniu dusznicy bolesnej, a w efekcie jej podania następuje znaczący spadek ciśnienia krwi u pacjenta. Choć stosowano ją od tak dawna, mechanizm jej działania został poznany dopiero w ostatnich latach przy okazji prac nad EDRF/NO [170, 171]. Nitrogliceryna jest przedstawicielem grupy leków zwanych nitrowazodilatorami [170–195]. Są to leki rozkurczające naczynia krwionośne i obniżające ciśnienie krwi. Cząsteczki związków należących do nitrowazodilatorów mają w swej strukturze ugrupowanie NO_x . W literaturze farmakologicznej dzieli się je na dwie grupy: związki, które generują tlenek azotu spontanicznie i związki, z których NO jest uwalniany na drodze przemian metabolicznych [30]. Do leków działających przez bezpo-



Rys. 6. Proponowany metabolizm nitroprusydku sodu. Red – reduktory komórkowe, np. tiol, kwas askorbinowy, deoksyHb; $\text{Nucl}^- = \text{S}, \text{N}, \text{O}, \text{C}$ – nukleofile

średnie uwolnienie NO zalicza się np. metabolit molsidominy SIN-1 [172]. Nitrogliceryna jest związkiem, z którego NO jest uwalniany nie bezpośrednio, lecz na drodze metabolicznych przemian w komórkach, prawdopodobnie z zaangażowaniem tioli komórkowych [170, 171]. Do tej grupy nitrowazodilatatorów należy również nitroprusydek sodu. Na rys. 6 przedstawiona została propozycja jego metabolizmu [94]. Do najważniejszych reakcji, jakim może ulegać nitroprusydek w warunkach fizjologicznych, należą reakcje z reduktorami komórkowymi (tiele, hemoglobina, kwas askorbinowy) oraz reakcje substytucji elektrofilowej z C, S, N, O-nukleofilami. Zwłaszcza reakcje z S-nukleofilami wydają się pełnić bardzo istotną rolę w metabolizmie nitroprusydku [173, 179, 194, 195]:



Obecnie, kiedy znamy już funkcje pełnione przez tlenek azotu w wielu procesach patologicznych, trwają poszukiwania leków, które mogłyby, w zależności od potrzeb, zwiększać uwalnianie endogennego NO, uwalniać efektywnie egzogeny NO lub też hamować jego produkcję.

Zahamowanie produkcji NO byłoby pożądane np. w przypadku procesu zapalnego trzustki w cukrzycy insulinozależnej oraz w stanie szoku septycznego, kiedy nadprodukcja tlenu azotu powoduje drastyczny spadek ciśnienia krwi. W tym ostatnim przypadku próbowano, w ograniczonym zakresie, podawać inhibitory syntazy tlenu azotu i przyniosło to pewne rezultaty [46].

Znacznie jednak częściej lekarze są zainteresowani pobudzeniem produkcji tlenu azotu. Ma to miejsce w przypadku zakażeń bakteryjnych i pasożytniczych, po operacjach angioplastycznych (zniszczenie płytki miażdżycowej poprzez rozepchnięcie wprowadzonym do naczynia balonem), w profilaktyce i leczeniu miażdżycy oraz nadciśnienia.

Intensywne badania prowadzi się od strony genetycznej. Jedną z proponowanych metod zapobiegania restenozie („zarastaniu” naczyń wieńcowych po angioplastyce) jest terapia genowa – wprowadzenie komórek z uaktywnioną genetycznie syntazą NO – bądź też wprowadzenie czynników aktywujących syntezę enzymu syntazy NO.

ZAKOŃCZENIE

Tlenek azotu jest obecnie jedną z najintensywniej badanych molekuł. Zainteresowani są nim chemicy, biochemicy, ekolodzy i medycy. Szczegółowe badania różnorodnych aspektów biochemii tlenu azotu powinny pozwolić nie

tylko na wyjaśnienie molekularnych podstaw jego działania, ale również pomóc w rozwiązywaniu wielu problemów klinicznych i farmakologicznych z zakresu immunologii, neurologii, kardiologii i toksykologii.

Podziękowanie

Praca wykonana w ramach projektu badawczego PB 0.976/P3/93/04 finansowanego przez KBN.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] B. F. G. Johnson, B. L. Haymore, J. R. Dilworth, [w:] *Comprehensive Coordination Chemistry*, Sir G. Wilkinson (red.), Pergamon Press, Oxford, 1987, t. 2, s. 99–159.
- [2] A. Spencer, *ibid.*, 1987, t. 6, s. 269, 276.
- [3] M. N. Hughens, *ibid.*, t. 6, s. 717–728.
- [4] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemistry of the Elements*, Pergamon Press, Oxford, 1984, s. 508–526.
- [5] U. Shurath, [w:] *Regional and Long-range Transport of Air Pollution*, S. Sandron (red.), Elsevier, Amsterdam, 1987, s. 71–95.
- [6] R. Eisenberg, D. Hendrikosen, *Advances in Catalysis*, 1970, 28, 79.
- [7] D. Baudish, *Science*, 1948, 108, 443.
- [8] G. B. Richter-Addo, L. Legadins, *Metal Nitrosyls*, Oxford University Press, New York 1992.
- [9] D. L. M. Williams, *Nitrosation*, Cambridge University Press, Cambridge 1988.
- [10] B. C. Challis, S. A. Kyrtopoulos, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1979, 229.
- [11] R. O. Ragsdale, B. R. Karstetter, R. S. Drago, *Inorg. Chem.*, 1965, 4, 420.
- [12] R. G. Coombes, [w:] *Comprehensive Organic Chemistry*, I.O. Sutherland (red.), Pergamon, Oxford, 1979, 2, 310.
- [13] W. A. Pryor, D. F. Church, C. K. Govindan, G. Crank, *J. Org. Chem.*, 1982, 47, 156.
- [14] H. Swinehart, *Coord. Chem. Rev.*, 1967, 2, 385.
- [15] J. A. McCleverty, *Chem. Rev.*, 1979, 79, 53.
- [16] G. Stochel, *Zeszyty Naukowe UJ, Prace Chemiczne*, 1985, 29, 97.
- [17] Yu. G. Golcov, V. V. Zhilinskaya, *Zh. Fiz. Khim.*, 1989, 63, 2905.
- [18] Yu. G. Golcov, V. V. Zhilinskaya, *ibid.*, 1990, 64, 2539.
- [19] Yu. G. Golcov, V. V. Zhilinskaya, *Kinet. i Katal.*, 1991, 31, 222.
- [20] I. Maciejowska, Z. Stasicka, *Proc. 2nd Polish Seminar on Catalytic DENOX*, Rabka, Poland, 1995, s. 147.
- [21] R. F. Furchgott, J. V. Zawadzki, *Nature*, 1980, 288, 373.
- [22] R. M. J. Palmer, A. G. Ferrige, S. Moncada, *ibid.*, 1987, 327, 524.
- [23] L. J. Ingarro, G. M. Buga, K. S. Wood, R. E. Byrns, G. Chaudhuri, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1987, 84, 9265.
- [24] R. M. J. Palmer, D. S. Ashton, S. Moncada, *Nature*, 1988, 333, 664.
- [25] S. Moncada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs, *Pharmacol. Rev.*, 1991, 43, 109.
- [26] Y. Henry, C. Ducrocq, J.-C. Drapier, D. Servent, C. Pellat, A. Guassani, *Eur. Biophys. J.*, 1991, 20, 1.
- [27] P. L. Feldman, O. W. Griffith, D. J. Stuehr, *Chem. and Eng. News*, 1993, 72/51, 26.
- [28] A. R. Butler, D. Lyn, H. Williams, *Chem. Soc. Rev.*, 1993, 22, 233.
- [29] J. S. Stamler, D. J. Singel, J. Loscalzo, *Science*, 1992, 258, 1898.
- [30] K. D. Kröncke, K. Fehsel, V. Kolb-Bachofen, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1995, 376, 327.

- [31] A. R. Butler, *Chemistry and Industry*, 1995, 828.
- [32] H. H. H. W. Schmidt, U. Walter, *Cell*, 1994, 78, 919.
- [33] *Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide*, B.A. Weissman, N. Allon, S. Shapira (red.), Plenum Press, New York 1995.
- [34] P. R. Myers, R. L. Minor, R. Guerra, J. N. Bates, D. G. Harrison, *Nature*, 1990, 345, 161.
- [35] J. S. Stampler, D. I. Simon, J. A. Osborne, M. E. Mullins, O. Jaraki, T. Mischel, D. J. Singel, J. Loscalzo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89, 444.
- [36] G. M. Rubanyi, J. C. Romero, P. M. Vanhoutte, *Am. J. Physiol.*, 1986, 250, H1145.
- [37] T. M. Griffith, D. H. Edwards, M. J. Lewis, A. C. Newby, A. H. Henderson, *Nature (Lond.)* 1984, 308, 645.
- [38] G. M. Rubanyi, R. R. Lorentz, P. M. Vanhoutte, *Am. J. Physiol.* 1985, 249, H95–H101.
- [39] L. J. Ingarro, G. M. Buga, K. S. Wood, R. E. Byrns, G. Chaudhuri, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 9265.
- [40] R. J. Gryglewski, R. M. J. Palmer, S. Moncada, *Nature*, 1986, 320, 454.
- [41] M. W. Radomski, R. M. J. Palmer, S. Moncada, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987, 148, 1482.
- [42] J. Vane, E. Ånggård, R. Botting, *New Engl. J. Med.*, 1990, 323, 27.
- [43] L. J. Ignarro, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1990, 30, 535.
- [44] F. Murad, R. M. Rapoport, R. Fiscus, *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1985, 7, 111.
- [45] D. Salvemini, G. de Nucci, R. J. Gryglewski, J. R. Vane, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86, 6328.
- [46] *Tlenek azotu – śródbłonkowy czynnik rozszerzający naczynia (EDRF/NO) w patofizjologii układu krążenia*, A. Dembińska-Kieć (red.), Instytut Kardiologii, Warszawa 1995.
- [47] M. A. Marletta, P. S. Yoon, R. Iyengar, C. D. Leaf, J. S. Wishnok, *Biochemistry*, 1988, 27, 8706.
- [48] J. B. Hibbs, R. R. Taintor, Z. Vavrin, E. M. Rachlin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 157, 87.
- [49] D. Stuehr, S. S. Gross, I. Sakuma, R. Levi, C. F. Nathan, *J. Exp. Med.*, 1989, 169, 1011.
- [50] C. Nathan, J. Hibbs, *Curr. Opin. Immunol.*, 1991, 3, 65.
- [51] A. R. Dal Nogare, *Am. J. Med. Sci.*, 1991, 302, 50.
- [52] J. S. Beckman, J. Chen, P. A. Marshall, B. A. Freeman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 1620.
- [53] W. H. Koppenol, J. J. Moreno, W. A. Pryor, H. Ischiropoulos, J. S. Beckman, *Chem. Res. Toxicol.*, 1992, 5, 834.
- [54] Y. Henry, J.-C. Drapier, C. Pellat, *J. Biol. Chem.*, 1991, 266, 10162.
- [55] A. R. Butler, C. Glidewell, A. R. Hyde, J. C. Walton, *Polyhedron*, 1985, 4, 303.
- [57] H. Beinert, *FASEB J.*, 1990, 4, 2483.
- [58] D. L. Granger, A. L. Lehninger, *J. Cell Biol.*, 1982, 95, 527.
- [59] J.-C. Drapier, J. B. Hibbs, *J. Clin. Invest.*, 1986, 78, 790.
- [60] J.-C. Drapier, J. B. Hibbs, *J. Immunol.*, 1988, 140, 2829.
- [61] L. Y. Liew, S. Millott, C. Parkinson, R. M. J. Palmer, S. Moncada, *ibid.*, 1990, 144, 4794.
- [62] K. A. Rockett, M. M. Awburn, W. B. Cowden, I. A. Clark, *Infection and Immunity*, 1991, 59, 3280.
- [63] D. J. Stuehr, M. A. Marletta, *Cancer Res.*, 1987, 47, 5590.
- [64] J. B. Hibbs, Z. Vavrin, R. R. Taintor, *J. Immunol.*, 1987, 138, 550.
- [65] J. S. Beckman, T. W. Beckman, J. Chen, P. A. Marshall, B. A. Freeman, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1990, 87, 1620.
- [66] J.-C. Drapier, C. Pellat, Y. Henry, *J. Biol. Chem.*, 1991, 266, 10162.
- [67] J. S. Green, C. A. Nacy, M. S. Meltzer, *J. Leukocyte Biol.* 1991, 50, 93.
- [68] M. Marletta, *Biochemistry*, 1988, 27, 8706.

- [69] J. B. Hibbs, *Science*, 1987, **235**, 473.
- [70] J.-C. Drapier, J. Wietzebrin, J. B. Hibbs, *Immunol. Lett.* 1990, **25**, 15.
- [71] D. A. Wink, K. S. Kasprzyk, C. M. Maragos, R. K. Elespuru, M. Misra, T. M. Dunams, T. A. Cebula, W. H. Koch, A. W. Andrews, J. S. Allen, L. K. Keefer, *Science*, 1991, **254**, 1001.
- [71] R. M. J. Palmer, S. Moncada, R. G. Knowles, M. Palacios, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, **86**, 5159.
- [73] S. H. Snyder, D. S. Bredt, *ibid.*, 1989, **86**, 9030.
- [74] E. Southam, J. Garthwaite, *Neurochemistry*, 1991, **2**, 658.
- [75] J. Zhang, V. L. Dawson, T. M. Dawson, S. M. Syder, *Science*, 1994, **263**, 687.
- [76] J. Garthwaite, S. L. Charles, R. Chess-Williams, *Nature*, 1988, **336**, 385.
- [77] R. G. Knowles, M. Palacios, R. M. J. Palmer, S. Moncada, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, **86**, 5159.
- [78] D. S. Bredt, S. H. Snyder, *ibid.*, USA, 1989, **86**, 9030.
- [79] H. Bult, G. E. Boeckxstaens, P. A. Pelckmans, F. H. Jordaens, Y. M. Van Maercke, A. G. Herman, *Nature*, 1990, **345**, 346.
- [80] F. Holmquist, H. Hedlund, K.-E. Anderson, *Acta Physiol. Scand.*, 1991, **143**, 441.
- [81] R. Hassa, *Wiad. Chem.*, 1995, **49**, 1.
- [82] D. M. Mingas, D. J. Sherman, *Adv. Inorg. Chem.*, 1989, **34**, 293.
- [83] F. Bottomly, W. V. F. Brooks, S. G. Clarkson, C. B. Tong, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1973, 919.
- [84] W. A. Seddon, H. C. Sutton, *Trans. Farad. Soc.*, 1963, **59**, 2323.
- [85] D. A. Wink, J. F. Darbyshire, R. W. Nims, J. E. Saaveda, P. C. Ford, *Chem. Res. Toxicol.*, 1993, **6**, 23.
- [86] H. H. Awad, D. M. Stanbury, *Int. J. Chem. Kinet.*, 1993, **25**, 375.
- [87] N. V. Blough, O. C. Zafiron, *Inorg. Chem.*, 1985, **24**, 3502.
- [88] M. Saran, C. Mickel, W. Bors, *Free Radical Res. Commun.*, 1990, **10**, 221.
- [89] M. P. Doyle, J. W. Hoekstra, *J. Inorg. Biochem.*, 1981, **14**, 351.
- [90] J. S. Olson, *Methods Enzymol.*, 1981, **76**, 361.
- [91] H. D. Projohan, R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 1991, **30**, 3288.
- [92] H.-D. Projohan, C. Dreher, R. van Eldik, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 17.
- [93] D. J. Taube, H.-D. Projohan, R. van Eldik, D. Magde, T. G. Traylor, *ibid.*, 1990, **112**, 6880.
- [94] B. B. Hasinoff, *Biochemistry*, 1974, **13**, 311.
- [95] V. S. Sharma, M. R. Schmidt, H. M. Ranney, *J. Biol. Chem.*, 1976, **251**, 4267.
- [96] V. S. Sharma, H. M. Ranney, J. F. Geibel, T. G. Traylor, *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 1975, **66**, 1301.
- [97] G. D. Armstrong, A. G. Sykes, *Inorg. Chem.*, 1986, **25**, 3125.
- [98] V. S. Sharma, R. A. Isaacson, M. E. John, M. R. Waltermann, M. Chevion, *Biochemistry*, 1983, **22**, 3897.
- [99] V. S. Sharma, T. G. Traylor, R. Gardiner, *ibid.*, 1987, **27**, 3837.
- [100] D. Gwost, K. G. Caulton, *Inorg. Chem.*, 1973, **12**, 2095.
- [101] R. S. Wade, C. E. Castro, *Chem. Res. Toxicol.* 1990, **3**, 289.
- [102] Y. Henry, M. Lepoivre, J.-C. Drapier, C. Ducrocq, J.-L. Boucher, A. Guassani, *FASEB J.*, 1993, **7**, 1124.
- [103] J. R. Lancaster, J. B. Hibbs, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**, 1223.
- [104] A. F. Vanin, *Biokhimiya*, 1967, **32**, 227.
- [105] T. Yoshimura, S. Fujii, M. Yokoyama, M. Kamada, *Chemistry Letters*, 1995, 309.
- [106] D. S. Bohle, Chen Hsing Hung, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 9584.
- [107] Yu-Min Chiou, L. Que, *Inorg. Chem.*, 1995, **34**, 3270.
- [108] E. A. Morlino, L. A. Walker, R. J. Sension, M. A. J. Rodgers, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 4429.

- [109] J. Müller, C. Hirsch, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1995, **621**, 1478.
- [110] J. Hüttermann, Ch. Burgard, R. Kappl, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 1994, **90**, 3077.
- [111] K. Miki, T. Ikeda, M. Kinoshita, *Electroanalysis*, 1994, **6**, 703.
- [112] H.-D. Pfannes, G. Bemski, E. Wajnberg, H. Rocha, E. Bill, H. Winkler, A. X. Trauywein, *Hypertine Interactions*, 1994, **91**, 797.
- [113] S. S. Mirvish, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1975, **31**, 325.
- [114] M. Miwa, D. J. Stuehr, M. A. Marletta, J. S. Whishnok, S. R. Tannenbaum, *Carcinogenesis*, 1987, **8**, 995.
- [115] L. J. Ingarro, *Circ. Res.*, 1989, **65**, 1.
- [116] J. S. Stamler [w:] *Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide*, B. A. Weissman, N. Allon, S. Shapira (red.), Plenum Press, New York, 1995, s. 67-78.
- [117] J. H. Ridd, *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1978, **16**, 1.
- [118] E. K. Kim, J. K. Kochi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **113**, 4962.
- [119] K. Y. Lee, D. J. Kuchynka, J. K. Kochi, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 4196.
- [120] D. A. Bazyliniski, T. C. Hollocher, *ibid.*, 1985, **24**, 4285.
- [121] J. Goretski, T. C. Hollocher, *J. Biol. Chem.*, 1988, **263**, 2316.
- [122] M. P. Doyle, S. N. Mahapatro, R. D. Broene, J. K. Guy, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 593.
- [123] K. G. Caulton, *Coord. Chem. Revs.* 1975, **14**, 317.
- [124] J. A. McCleverty, *Chem. Rev.* 1979, **79**, 53.
- [125] J. H. Enemark, M. S. Quinby, L. L. Recol, M. I. Stenk, K. K. Walters, *Inorg. Chem.*, 1970, **9**, 2397.
- [126] B. Folkesson, *Acta Chem. Scand*, 1974, **A18**, 491.
- [127] J. H. Enemark, R. O. Feltham, *Coord. Chem. Rev.*, 1974, **13**, 339.
- [128] E. Wasielewska, A. Gołębiewski, *Pol. J. Chem.*, 1981, **55**, 1099.
- [129] E. Wasielewska, *Inorg. Chim. Acta*, 1986, **113**, 115.
- [130] A. Gołębiewski, E. Wasielewska, *J. Mol. Struct.*, 1980, **67**, 183.
- [131] E. Wasielewska, Z. Stasicka, [w:] *Coordination Chemistry and Catalysis*, J. J. Ziolkowski (red.), World Scientific Singapore, 1987, s. 440.
- [132] G. Stochel, R. van Eldik, Z. Stasicka, *Inorg. Chem.*, 1986, **25**, 3663.
- [133] E. Hejmo, E. Porcel-Ortega, T. Senkowski, Z. Stasicka, *Bull. Pol. Acad. Sci. Chem.* 1988, **36**, 351.
- [134] D. A. Snyder, D. L. Weaver, *Inorg. Chem.*, 1970, **9**, 2760.
- [135] J. P. Collman, P. Farnham, G. Dolcetti, *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, **93**, 1788.
- [136] J. L. Ignarro, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990, **30**, 535.
- [137] J. L. Ignarro, *Biochem. Pharmacol.*, 1991, **41**, 485.
- [138] D. J. Stuehr, O. W. Griffith, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 1992, **65**, 287.
- [139] A. M. Leone, R. M. J. Palmer, S. Moncada, R. G. Knowles, P. L. Francis, D. S. Ashton, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 23790.
- [140] J.-L. Boucher, A. Genet, S. Vadon, M. Delaforge, D. Mansuy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992, **184**, 1158.
- [141] H. G. Korth, R. Sustmann, C. Thater, A. R. Butler, K. V. Ingold, *J. Biol. Chem.*, 1994, **269**, 17776.
- [142] P. L. Feldman, D. J. Stuehr, O. W. Griffith, J. M. Fukuto, [w:] *Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide*, B. A. Weissman, N. Allon, S. Shapira, Plenum Press, New York, 1995, s. 13.
- [143] B. Mayer, *ibid.*, s. 37.
- [144] O. W. Griffith, *ibid.*, s. 21.
- [145] J. M. Hevel, K. A. White, M. A. Marlette, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 22789.
- [146] Y. Yui, R. Hattori, K. Kosuga, H. Eizawa, K. Hiki, S. Ohkawa, K. Ohnishi, S. Terao, C. Kawai, *ibid.*, 1991, **266**, 3369.
- [147] K. A. White, M. A. Marletta, *Biochemistry*, 1992, **31**, 6627.

- [148] S. H. Snyder, D. S. Bredt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**, 682.
- [149] D. J. Stuehr, N. S. Kwon, C. F. Nathan, O. W. Griffith, P. L. Feldman, J. Wiseman, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 6259.
- [150] T. D. Porter, M. J. Coon, *ibid.*, 1991, **266**, 13469.
- [151] B. Mayer, M. John, B. Heinzl, E. R. Werner, H. Wachter, G. Schultz, E. Boehme, *FEBS Lett.*, 1991, **288**, 187.
- [152] W. C. Sessa, *J. Vasc. Res.*, 1994, **31**, 133.
- [153] M. A. Marletta, *J. Biol. Chem.*, 1993, **268**, 12231.
- [154] N. S. Kwon, C. F. Nathan, C. Gilker, O. W. Griffith, P. E. Matthews, D. J. Stuehr, *ibid.*, 1990, **255**, 13442.
- [155] C. Nathan, Qiao-Wen Xie, *Am. Soc. Biochemistry and Molecular Biology*, 1994, 13725.
- [156] E. Wasielewska, M. Witko, G. Stochel, Z. Stasicka, *Chem. Eur. J.*, wysłane do druku.
- [157] L. J. Ingarro, G. M. Buga, K. S. Wood, R. E. Byrns, G. Chandhuri, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, **84**, 9265.
- [158] P. R. Myers, R. L. Minor, Jr., R. Guerra, Jr., J. N. Bates, D. G. Harrison, *Nature*, 1990, **345**, 161.
- [159] M. E. Murphy, H. Sies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, **88**, 10860.
- [160] J. M. Fukuto, G. C. Wallace, R. Hszeih, G. Chaudhuri, *Biochem. Pharmacol.*, 1992, **43**, 607.
- [161] A. F. Vanin, *FEBS Lett.*, 1991, **289**, 1.
- [162] Y. P. Vedernikov, P. I. Mordvintcev, I. V. Malenkova, A. F. Vanin, *Eur. J. Pharmacol.*, 1992, **211**, 313.
- [163] S. M. N. Y. F. Oh, L. H. Williams, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1991, **2**, 685.
- [164] U. Schultz, D. R. Mc Calla, *Can. J. Chem.*, 1969, **47**, 2021.
- [165] J. C. Drapier, C. Pella, Y. Henry, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 10162.
- [166] A. Mulsch, P. Mordvintcev, A. F. Vanin, R. Burse, *FEBS Lett.* 1991, **294**, 252.
- [167] L. J. Ingarro, *Circ. Res.*, 1989, **65**, 1.
- [168] T. G. Traylor, V. J. Sharma, *Biochemistry*, 1992, **31**, 2847.
- [169] K. D. Kröncke, B. V. Kolb, B. Berschick, V. Burkat, H. Kolb, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991, **175**, 752.
- [170] M. Feellisch, M. Kelm, *ibid.*, 1991, **180**, 286.
- [171] D. Salvemini, A. Pistelli, V. Mollace, E. Ånggård, J. Vane, *Biochemical Pharmacology*, 1992, **44**, 17.
- [172] R. Gerzer, C. Drummer, R. Karrenbrock, J. M. Heim, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1989, **14**, 115.
- [173] A. R. Butler, Ch. Glidewell, *Chem. Soc. Rev.*, 1987, **16**, 361.
- [174] J. N. Bates, M. T. Baker, R. Guerra, Jr., D. G. Harrison, *Biochem. Pharmacol.*, 1991, **42**, 157.
- [175] L. J. Ingarro, H. Lipperton, J. C. Edwards, W. H. Baricos, A. L. Hyman, P. J. Kadovitz, C. A. Gruetter, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1981, **218**, 739.
- [176] C. A. Gruetter, D. Y. Gruetter, E. L. Philip, P. J. Kadovitz, L. J. Ingarro, *ibid.*, 1981, **219**, 181.
- [177] R. Morishita, G. H. Gibbons, Y. Kaneda, T. Ogihara, V. J. Dzau, *Gene*, 1994, **149**, 13.
- [178] H. P. Misra, *J. Biol. Chem.*, 1984, **259**, 12678.
- [179] J. Regliński, A. R. Butler, C. Glidewell, *App. Organomet. Chem.*, 1994, **8**, 25.
- [180] E. A. Kowaluk, P. Seth, Ho-Leung Fung, *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1992, **262**, 916.
- [181] M. Feellisch, E. Noack, *Eur. J. Pharmacol.*, 1987, **142**, 465.
- [182] G. Stochel, G. Stopa, Z. Stasicka, *Bull. Pol. Ac. Chem.*, 1994, **42**, 477.
- [183] J. R. Leis, A. Rios, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1995, 169.
- [184] J. D. Horowitz, *Am. J. Cardiology*, 1992, **70**, 802.

- [185] J. Y. T. Lam, J. H. Chesebro, V. Fuster, *Circulation*, 1988, **78**, 712.
- [186] M. Pawelec, A. Siedlecki, A. Bassara, O. Wenhryniewicz, A. Dembińska-Kieć, *Rev. Iberoamer. Trom. Hemostasia*, 1994, **7**, 79.
- [187] D. S. Bohle, Chen Hsing Hung, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 9584.
- [188] Yu-Min Chiou, L. Que, *Inorg. Chem.*, 1995, **34**, 3270.
- [189] E. A. Morlino, L. A. Walker, R. J. Sension, M. A. J. Rodgers, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 4429.
- [190] J. Mueller, C. Hirsch, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1995, **621**, 1478.
- [191] J. Huettermann, Ch. Burgard, R. Kappl, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 1994, **90**, 3077.
- [192] K. Miki, T. Ikeda, M. Kinoshita, *Electroanalysis*, 1994, **6**, 703.
- [193] H.-D. Pfannes, J. L. Alonso, H. D. Abruna, *J. Electroanal. Chem.*, 1994, **379**, 191.
- [194] J. Oszejca, G. Stochel, E. Wasielewska, Z. Stasicka, R. J. Gryglewski, A. Jakubowski, K. Cieślik, w przygotowaniu do druku.
- [195] K. Szacilowski, G. Stochel, Z. Stasicka, H. Kisch, *New J. Chem.*, wysłane do druku.

Praca wpłynęła do Redakcji 25 czerwca 1996

ANALIZA SPECJACYJNA PRÓBEK BIOLOGICZNYCH SPECIATION ANALYSIS OF BIOLOGICAL SAMPLES

Adam Hulański

*Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski,
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa*

One of the most important aspects of contemporary analytical chemistry is speciation analysis, in particular related to biological objects. A number of conferences and specialized publications have been devoted to this subject. Speciation analysis requires a specific approach which presents a new challenge to analysts. In particular important aspects are connected with sampling, the use of coupled analytical techniques, consisting of a separation step and a sensitive detection and with securing high quality of analytical results.

Rozwój nauki i techniki sprawia, że wciąż pojawiają się nowe obszary zainteresowania człowieka, nowe techniki badawcze, nowe możliwości praktyczne. Chemia analityczna jest dyscypliną naukową o aspektach podstawowych i praktycznych, stwarza nowe możliwości metodologiczne oznaczania różnorodnych składników w rozmaitych materiałach i usiłuje odpowiadać na zapotrzebowanie innych dziedzin działalności człowieka. Obszarem, który ostatnio niewątpliwie dominuje w badaniach z zakresu chemii analitycznej jest ochrona środowiska, kontrola jego zanieczyszczenia i rola pierwiastków śladowych w procesach biogeochemicznych.

Od dawna chemicy analitycy musieli odpowiadać na pytania dotyczące zawartości różnych pierwiastków w obiektach środowiska: w wodach, w powietrzu, w glebie lub w materiale biologicznym, włączając w to również żywność. Chodziło jednak o całkowitą zawartość, na przykład rtęci, ołowiu, kadmu – jako przedstawicieli pierwiastków toksycznych – lub kobaltu, selenu czy też magnezu – jako przedstawicieli pierwiastków niezbędnych dla organizmu. Wkrótce jednak okazało się, że taka informacja jest niewystarczająca. Bardziej wnikliwe badania wykazały, że nie jest obojętne, w jakiej postaci występuje dany pierwiastek. Okazało się, że związki chromu na trzecim stopniu utlenienia są niezbędne w procesach metabolizmu glukozy i tłuszczu, natomiast związki chromu sześciowartościowego – chromiany – powodują podrażnienia skóry, błon śluzowych i mogą być przyczyną nowotworów.

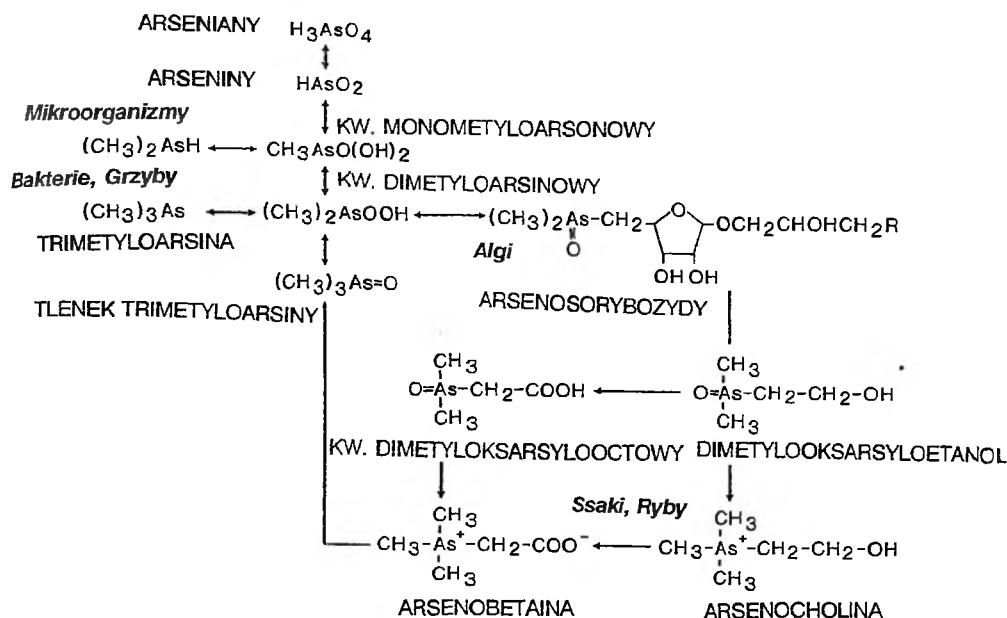
Powszechnie znany przypadek ostrych, a także wielu śmiertelnych, zatruc w Japonii w latach pięćdziesiątych, w zatoce Minamata, wywołany był pośrednio przez zanieczyszczone rtęcią ścieki przemysłowe, a bezpośrednio przez spożycie zatrutych ryb. Mięso tych ryb zawierało metylowe pochodne rtęci. Powstają one w wyniku procesów mikrobiologicznych zachodzących w łańcuchu pokarmowym: rośliny wodne – plankton – ryby – człowiek. Związki te powodują uszkodzenie centralnego systemu nerwowego, co określane jest jako choroba Minamata, i są znacznie bardziej szkodliwe od nieorganicznych pochodnych rtęci. Fakty te wskazują, że toksyczność różnych związków tego samego pierwiastka zależy w znacznej mierze od formy chemicznej, w jakiej pierwiastek ten występuje.

Tak więc, aby uzyskać niezbędne informacje o oddziaływaniu pierwiastka zarówno w środowisku, jak i w materiale biologicznym, okazało się konieczne oznaczenie nie tylko całkowitej zawartości pierwiastka, np. rtęci lub arsenu, ale również określenie udziału ich różnych związków. Występowanie tych zróżnicowanych chemicznych, a także fizycznych form danego pierwiastka zostało określone jako specjacja, natomiast proces prowadzący do ilościowej oceny zawartości różnych form należy określić jako analizę specjacyjną.

Opracowywanie metod analizy specjacyjnej jest obecnie jednym z ważniejszych zagadnień chemii analitycznej. Świadczy o tym fakt ukazania się w ostatniej dekadzie wielu monografii poświęconych specjacji i analizie specjacyjnej [1–11], opublikowano również liczne prace przeglądowe poświęcone ogólnym problemom związanym ze specjacją [12–18], również w literaturze polskiej, [19, 20]. Ukazało się też wiele artykułów przeglądowych omawiających problematykę specjacji poszczególnych pierwiastków, np. ołowiu [21], rtęci [22], selenu [23] i magnezu [24]. Analizie specjacyjnej poświęcono również wiele opublikowanych raportów Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej, które dotyczą arsenu [25] i ołowiu [26]. Kolejne raporty dotyczące rtęci, cyny, selenu, glinu i fosforu są w opracowaniu.

Tematyka analizy specjacyjnej pojawia się nie tylko na ogólnoanalitycznych międzynarodowych konferencjach, ale również na specjalistycznych imprezach poświęconych temu zagadnieniu. Opublikowane materiały tych konferencji stanowią bogate źródło informacji o aktualnych kierunkach badań [27–32].

Zainteresowanie specjacją wiąże się nie tylko z aspektem toksykologicznym. Szerszą poznawczą rolę mają badania krążenia i przemian pierwiastków w przyrodzie, co może być przedstawione w formie cykli biogeochemicznych (rys. 1). Znajomość takich cykli jest ważnym elementem w ekologii. Rola specjacji w ekologii jest ściśle związana z poznaniem procesów przebiegających w organizmach żywych, a stąd już bezpośredni związek z zainteresowaniem specjacją w naukach medycznych. Chemia analityczna dostarcza narzędzia do rozwiązywania skomplikowanych problemów badania specjacji, jednakże prawidłowa interpretacja wymaga zwykle konsultacji biologicznej i medycznej.



Rys. 1. Cykl przemian bio(geo)chemicznych arsenu

Zainteresowanie specjacją pierwiastków w materiale biologicznym obejmuje niemal cały układ okresowy pierwiastków. W przypadku krwi pełnej, a także surowicy lub osocza, badana jest najczęściej specjacja glinu, rtęci, selenu, chromu, arsenu, cynku, miedzi, żelaza, ołowiu, platyny i krzemu. Lista ta jest z pewnością niepełna. W moczu bada się specjację tych samych pierwiastków, najliczniejsze są prace poświęcone związkom arsenu, selenu, ołowiu, kadmu, chromu. Niektóre z tych pierwiastków oznaczane są w mleku, pocie, ślinie, płynie mózgowo-rdzeniowym, nasieniu, łzach, krwinkach. Niewątpliwie wiele innych pierwiastków, które przenikają do organizmów w wyniku zanieczyszczenia środowiska, obecności w żywności lub lekach jest lub może być obiektem zainteresowania badaczy zajmujących się specjacją. O ważności specjacji, a także o zainteresowaniu nią, świadczy wzrost liczby prac poświęconych badaniu specjacji w materiale biologicznym, liczby, która od pojedynczych prac publikowanych około roku 1970, przekroczyła obecnie 20 prac rocznie [13].

W przeciwieństwie do badania specjacji w materiale nieorganicznym, gdzie liczba występujących indywiduów chemicznych jest zwykle niezbyt wielka, w materiale biologicznym sytuacja jest znacznie bardziej złożona – zarówno w wyniku bardziej skomplikowanego składu badanego materiału, jak i ze względu na zachodzące w organizmach przemiany metaboliczne. Można tu wprowadzić, uproszczone z pewnością, rozróżnienie. Większość indywiduów chemicznych będących obiektem zainteresowania toksykologii to cząsteczki małe – związki nieorganiczne i metaloorganiczne, przy czym te ostatnie są zwykle bardziej toksyczne od nieorganicznych, a także od związków tego

samego pierwiastka z dużymi grupami organicznymi. Wielkocząsteczkowe związki pierwiastków odgrywają istotną rolę w związku z badaniem ich funkcji biologicznej [33].

Duża toksyczność związków metaloorganicznych w porównaniu z nieorganicznymi połączeniami tego samego pierwiastka związana jest przede wszystkim z większą łatwością przechodzenia ich przez błony biologiczne, a w konsekwencji z bezpośrednim atakowaniem centralnego systemu nerwowego. Przykładem mogą tu być pochodne alkilowe rtęci, cyny lub ołowiu. Jak ważne jest badanie specjacji, niech świadczy fakt, że nieorganiczne związki arsenu są metylowane *in vivo*, a kwas dimetyloarsinowy jest głównym metabolitem wykrywanym w moczu. Z drugiej strony, w organizmach morskich, np. w rybach, arsen występuje jako nietoksyczna arsenobetaina, która nie ulega biotransformacji i jest szybko wydalana. Określenie toksycznych związków w moczu wymaga więc szczegółowego zróżnicowania istniejących chemicznych form arsenu, gdyż określenie całkowitej zawartości arsenu nie dostarcza wymaganych informacji [33].

Oznaczanie całkowitej zawartości pierwiastków jest ważne w przypadku pierwiastków istotnych dla organizmu. Pobierane są one najczęściej z pożywieniem w zróżnicowanej formie chemicznej i ulegają w organizmach transformacji, na przykład w metaloenzymy. Istnieją jednak sytuacje, gdy procesy patologiczne mogą zakłócać tylko pewne odcinki szlaków metabolicznych danego pierwiastka, nie wpływając istotnie na jego całkowitą zawartość. Tak na przykład uważano, że selen jest obecny w tkankach ssaków jedynie w postaci peroksydazy glutationowej. W takiej sytuacji oznaczenie całkowitej zawartości selenu mogłoby być wystarczające do oceny niedoboru selenu. Ponieważ okazało się, że selen jest niezbędny również w innych procesach enzymatycznych (dejodinaza jodotyroniny), więc konieczne jest oznaczanie wszystkich, nawet występujących w niewielkich względnych ilościach, białkowych form występowania selenu. W przypadku nadmiaru selenu w diecie, poziom selenu związanego z enzymami może pozostawać nie zakłócony, a wiązać się on będzie niespecyficznie z różnymi białkami w postaci selenometioniny zastępującej w białkach metioninę. W konsekwencji oznaczenie całkowitego selenu w tkankach może nie być miarą zawartości biologicznie aktywnych selenoprotein [34].

SPECYFIKA ANALIZY SPECJACYJNEJ

Aby zrozumieć, dlaczego analiza specjacyjna jest tak znaczącym wyzwaniem dla chemików analityków, należy zastanowić się, na czym polega jej specyfika. Wyróżnić tu można kilka aspektów. Szczególne wymagania pojawiają się już przy **poborze próbki i jej przetwarzaniu**. Stosuje się tu wszystkie podstawowe kanony postępowania z próbkami analitycznymi. Jednakże charakter próbki biologicznej narzuca dodatkowe ograniczenia, których przestrzega-

nie powinno zapewnić poprawność wyników uzyskanych w analizie specjacyjnej. Te zagadnienia, ze względu na ich znaczenie, zostaną omówione oddzielnie.

W analizie specjacyjnej obowiązują wszystkie zasady pracy **analizy śladowej** ze szczególną ostrością. Mamy tu przecież do czynienia z mniejszymi, z zasady, stężeniami niż w oznaczaniu całkowitych zawartości. Różnica może dochodzić nawet do dwóch rzędów wielkości, a to oznacza nierzadko konieczność oznaczania stężeń na poziomie ng/g, czyli części na miliard (ppb)! Tak więc stosowane techniki analityczne muszą charakteryzować się doskonałą wykrywalnością. Na ogół pracuje się tu na granicy możliwości wielu technik spektrometrii atomowej, które należą do najczulszych w chemii analitycznej [35–37].

Praca z tak małymi stężeniami wymaga specjalnej ostrożności ze względu na możliwość przypadkowych zanieczyszczeń, które mogą wynik analityczny pozbawić jakiegokolwiek sensu. Jest poza tym oczywiste, że takie zanieczyszczenie wprowadzone z powietrza, wody, odczynników, osoby analityka i wielu innych obiektów może całkowicie zmienić obraz specjacji. Dlatego uzyskiwanie wiarygodnych wyników w analizie specjacyjnej wymaga zwykle specjalnie zaprojektowanych laboratoriów, w których pracuje się w bardzo czystych, chemicznie sterylnych warunkach i niezwykle rygorystycznego przestrzegania niezbędnych warunków pracy [38].

Istotną trudnością w analizie specjacyjnej jest konieczność oznaczania obok siebie związków o **podobnych właściwościach chemicznych i fizycznych**. Tak więc analityk, badając związki ołowiu, powinien w analizie specjacyjnej rozróżnić tetrametylołów, trimetylo- i dimetylopo pochodne, a także niekiedy oznaczać odpowiednie pochodne etylowe.

Kolejną trudnością w analizie specjacyjnej jest opracowanie takiego schematu postępowania analitycznego, który **nie naruszyłby pierwotnego obrazu specjacji** [20]. Jest to szczególnie ważne w systemach bardziej labilnych, które mogą szybko reagować na zmianę warunków. Typową ilustracją może tu być badanie specjacji metali ziem alkalicznych we krwi. Wapń i magnez występują we krwi lub w surowicy krwi w postaci wolnych, uwodnionych jonów, a także jako kompleksy z ligandami niskocząsteczkowymi (fosforany, mleczany, winiany) oraz z białkami – głównie z albuminą i globulinami [24]. Znajomość rzeczywistych relacji we krwi jest ważna z punktu widzenia diagnostyki lekarskiej, lecz wiele operacji wykonywanych z próbką pobranej krwi może zmienić pierwotną specjację. Niedozwolone jest dodawanie czynników zapobiegających koagulacji, jak heparyna i cytryniany, ale również wszelka zmiana pH krwi, którego naturalna wartość wynosi $7,40 \pm 0,04$ wywoływać będzie przesunięcie równowagi kompleksów wapnia lub magnezu. Taka zmiana pH może z łatwością wystąpić w wyniku utraty dwutlenku węgla, którego obecność jest istotna z punktu widzenia buforowania pH krwi. Warto zdawać sobie sprawę, że nawet kilkunastokrotne rozcieńczenie próbki krwi wywołuje daleko posuniętą dysocjację kompleksów wapnia i magnezu [39].

Dość szczęśliwy jest fakt, że wiele związków metaloorganicznych, których obecności poszukujemy w próbkach biologicznych, jest inertnych, a więc bardziej odpornych na warunki wymagane w metodach analitycznych. Tym niemniej analityk musi być świadomy faktu, że to, co oznacza w próbce poddanej końcowemu pomiarowi analitycznemu, nie jest w większości przypadków tym, co w istocie występuje w tkankach biologicznych. Nie jest on często w stanie oznaczyć zawartości pierwiastka związanego w tkankach z dużymi cząsteczkami biologicznymi – białkami, lipidami i innymi. Aby wyniki analizy specyjnej jak najlepiej oddawały początkowy stan badanego materiału, wstępne przetwarzanie próbki analitycznej, przede wszystkim próbki stałej, musi spełnić dwa, w istocie przeciwstawne sobie warunki. Z jednej strony, musi to być możliwie kompletne przeprowadzenie próbki stałej do roztworu, co nawet w przypadku oznaczania całkowitej zawartości pierwiastków nieraz nastęcza trudności, a z drugiej strony powinno się próbkę analityczną jak najmniej chemicznie przetwarzać, aby nie zmienić pierwotnej specjacji. W większości przypadków przeprowadzenie próbki do roztworu wiąże się z częściową przynajmniej hydrolizą pierwotnie występujących indywidualów chemicznych. Dodatkową trudnością jest specyficzna **nietrwałość analizowanego materiału**, a więc analityk musi się liczyć z możliwością zachodzenia zmian w próbce lub w częściowo przetworzonym materiale analitycznym, w czasie między pobraniem materiału do badania a momentem wykonania właściwego oznaczenia. Zmiany takie, niepożądane w przypadku badania specjacji, mogą zachodzić nawet w przypadku oznaczania całkowitych zawartości pierwiastków. Przebiegające procesy mikrobiologiczne, a także utlenianie tlenem powietrza lub reakcje fotochemiczne zachodzące pod wpływem światła prowadzić mogą do istotnych zmian specjacji [20].

Stąd też zadaniem, nieraz przekraczającym możliwości analityka, jest wnioskowanie, na podstawie wyodrębnionych połączeń, o tym, jak w oryginalnym analizowanym materiale powiązane były badane składniki, a więc **ekstrapolowanie wyników analitycznych do stanu pierwotnego**. Realizacja tego zadania wymaga współpracy z biologami, biochemikami i lekarzami.

SPECYFIKA POBORU PRÓBEK ANALITYCZNYCH

Jak wspomniano, w badaniu specjacji należy przestrzegać wszystkich kantonów analizy śladowej. Niektóre czynniki warto tu szczególnie uwypuklić. Tak więc przy poborze krwi do analizy z zamiarem badania specjacji metali ciężkich stosowanie zwykłych igieł stalowych powoduje, że próbka analityczna może ulec zanieczyszczeniu śladami chromu, manganu i niklu [40–43]. W zależności od kinetyki reakcji tych jonów mogą one pozostawać jako wolne, to jest uwodnione, jony, bądź przesuwać równowagę kompleksowania pierwotnie obecnych w materiale metali. Zanieczyszczenie krwi *in vitro* śladami miedzi

i cynku powoduje zwiększenie frakcji albuminowej tych pierwiastków [44]. Przy pobieraniu próbki moczu może również nastąpić zanieczyszczenie ze skóry lub ubrań [45].

Konsekwencją poboru próbki jest nieraz zmiana warunków fizykochemicznych, w których znajduje się próbka. Wspomnieć tu trzeba o zmianie pH, siły jonowej, ciśnieniu cząstkowych gazów nad próbką, które mogą wywoływać transformacje, dysocjacje, agregacje składników, a w następstwie zmiany specjacji. Układy mogą być labilne lub inertne – znajomość takiej charakterystyki jest często niezbędna. Zmiany temperatury mogą wywoływać zmiany termodynamicznej trwałości kompleksów, a więc także wytrącanie lub rozpuszczanie się osadów. Jest to niekorzystne również z tego powodu, że w układach heterogennych mogą szczególnie łatwo przebiegać procesy adsorpcji. Pod tym kątem widzenia należy również dobierać odpowiedni materiał naczyń, w których przechowywane są próbki.

Ogólną zasadą powinno być, aby próbki analizowanych materiałów jak najszybciej analizować. Nie zawsze jest to możliwe, zwłaszcza gdy oznaczenie wykonywane jest za pomocą skomplikowanej i kosztownej aparatury ulokowanej w laboratorium odległym od miejsca poboru próbki, np. w szpitalu. Ogólnie uważa się, że rozwiązaniem jest zamrażanie próbek do niskich temperatur, aby spowolnić ewentualnie zachodzące procesy. Znane są fakty transalkilacji metali przebiegające w próbkach w czasie między ich pobraniem a właściwym oznaczeniem analitycznym. Badania wykazały [46], że w niektórych rodzajach analizowanych materiałów (mięso dorsza, skorupiaki, krew ludzka) w czasie kilkakrotnego zamrażania i rozmrażania straty metylortęci mogą dochodzić do 30%. Efektów takich nie obserwowano natomiast w przypadku materiałów liofilizowanych, a także certyfikowanych materiałów odniesienia zawierających metylortęć. Okazało się również [47], że arsenobetaina, zawarta w tkankach organizmów morskich, może w warunkach utleniających przechodzić w alkilowe pochodne tlenowych związków arsenu.

Stwierdzono, że liofilizacja może powodować rozkład lipoprotein [48], a także denaturację i agregację niektórych białek. Niewątpliwie może to powodować zmiany specjacji takich pierwiastków, jak selen, które są związane z lipoproteinami [49].

Badanie specjacji w ściśle określonym obiekcie wymaga wydzielenia go z całości posiadanego materiału. Stosunkowo prostym przypadkiem jest tu oddzielne badanie zawartości metali i ich specjacji we krwi. Poziom stężenia jest bardzo różny w surowicy krwi i w krwinkach, zatem ich niecałkowite rozdzielanie, a także częściowa przynajmniej hemoliza, mogą być źródłem znaczących błędów analitycznych i następnie interpretacyjnych [50–52]. Znacznie większe trudności pojawiają się, gdy obiektem analizy mają być np. pojedyncze komórki lub jądra komórkowe [53].

Wreszcie analityk musi być świadomy, że istotne są fizjologiczne warunki poboru próbki. Optymalizacja warunków analitycznych nie przyniesie oczeki-

wanego wyniku analitycznego, jeśli nie określi się *a priori*, w jakim okresie czasu, w jakim stanie obiektu, w jakiej sytuacji zawodowej powinna być pobrana próbka do badania.

Najbardziej ryzykowny z punktu widzenia zachowania pierwotnej specjacji jest etap przygotowania próbki biologicznej do właściwego pomiaru analitycznego. Trudno jest tu podać jednolitą procedurę, która zależy od rodzaju analitu, od matrycy, w której oznaczamy ten analit i od informacji, którą chcielibyśmy uzyskać.

W odniesieniu do stałych prób biologicznych często rozdrabnia się je mechanicznie w niskich temperaturach, np. w temperaturze ciekłego azotu, po czym wyługowuje się poszukiwane składniki łagodnie działającymi czynnikami, takimi jak rozcieńczone roztwory wodne lub niepolarne niewodne rozpuszczalniki organiczne. Tak otrzymane ekstrakty nadają się do analizowania typowymi metodami chemii analitycznej, np. chromatograficznymi.

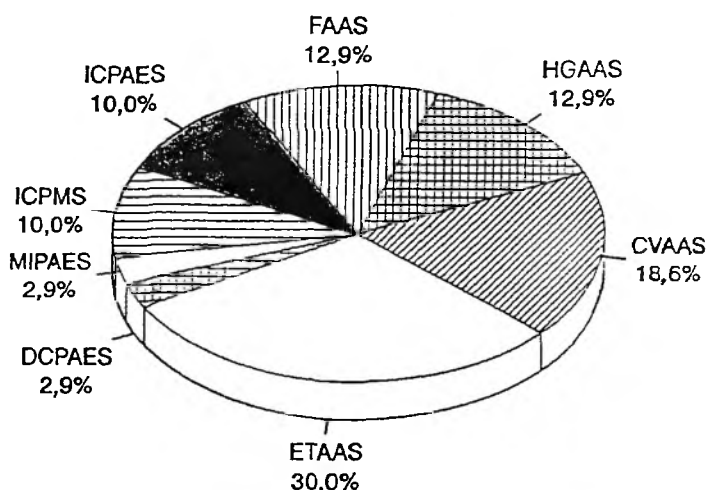
TECHNIKI ANALITYCZNE BADANIA SPECJACJI

Oznaczanie poszczególnych indywiduów w próbkach o złożonym składzie, jakimi są próbki biologiczne, jedynie w wyjątkowych sytuacjach może być wykonane wprost z próbki, a nawet jej roztworu. Mimo istnienia wielu technik analitycznych o dużej specyficzności, nie mają one wystarczająco niskiej granicy wykrywalności, aby mogły być bezpośrednio zastosowane w analizie specjacyjnej. Szczególnym przypadkiem jest oznaczanie metaloenzymów, których aktywność enzymatyczna jest miarą stężenia ściśle określonego indywiduum chemicznego. Możliwe byłoby również oznaczanie związków toksycznych poprzez wielkość inhibicji, która powinna być funkcją stężenia związku toksycznego. Brak jest na razie jeszcze praktycznych przykładów takich oznaczeń. Inną możliwością mogą stworzyć metody immunologiczne z zastosowaniem znaczących przeciwciał reagujących z antygenem, będącym obiektem oznaczania, jednakże wciąż istnieje wiele przeszkód, które należy pokonać, aby takie postępowanie mogło być zastosowane w praktyce. Złożony skład matrycy biologicznej sprawia, że metody bezpośredniego oznaczania określonych indywiduów, takie jak potencjometria z elektrodami jonoselektywnymi lub woltamperometria [54–56], które mają pewne znaczenie w badaniu specjacji materiałów środowiskowych, nie mogą być stosowane w przypadku próbek biologicznych. Dlatego też stosuje się wiele złożonych procedur analitycznych, których istotnymi elementami są procedury rozdzielania i oznaczania.

Do rozdzielania stosowane są praktycznie wszystkie znane techniki analityczne, jednakże najczęściej – różne odmiany chromatografii (tab. 1). Ze względu na konieczność zapewnienia bardzo dobrej wykrywalności, jako metody detekcji stosowane są najczęściej różne techniki spektrometryczne (rys. 2),

Tabela 1. Techniki rozdzielania stosowane w badaniu specjacji

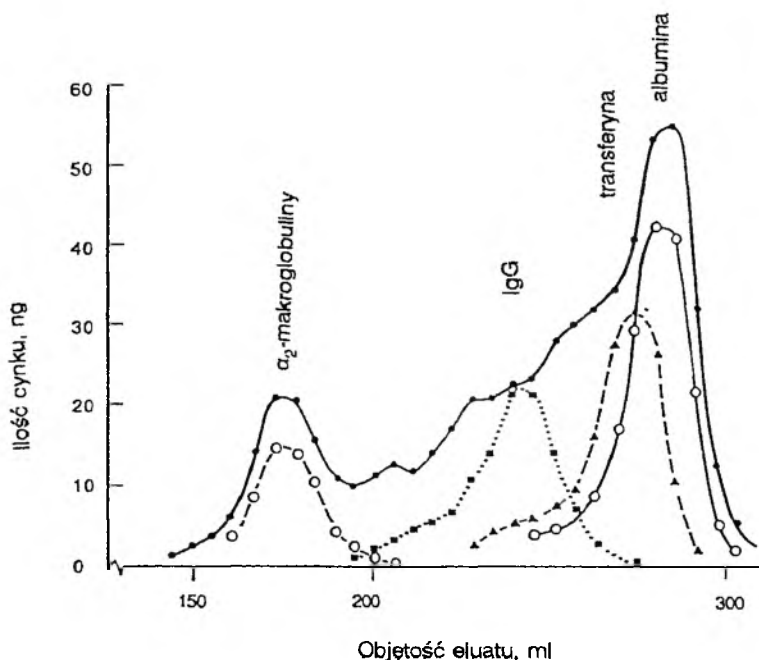
- Chromatografia gazowa
- Chromatografia cieczowa
 - a) podziałowa
 - b) podziałowa z odwróconymi fazami
 - c) jonowymienna
 - d) żelowa
 - e) powinowactwa
- Chromatografia w stanie nadkrytycznym
- Elektroforeza
 - a) elektroforeza kapilarna
- Chromatografia przeciwprądowa
- Frakcjonowanie polowe
- Ekstrakcja
 - a) ekstrakcja ciecz-ciecz
 - b) ekstrakcja ciecz-ciało stałe
 - c) flotacja
- Destylacja
- Sublimacja



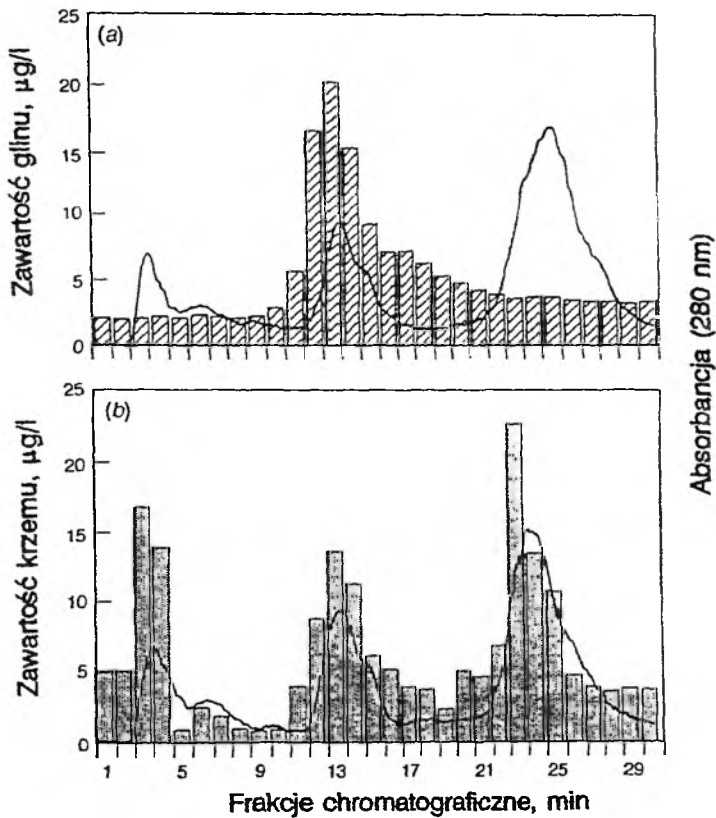
Rys. 2. Udział różnych metod spektrometrii atomowej w badaniu specjacji materiałów biologicznych [13] (dzięki uprzejmości wydawnictwa Springer Wien). ETAAS – atomowa spektrometria absorpcyjna z elektrotermiczną atomizacją; CVAAS – atomowa spektrometria absorpcyjna metodą zimnych par; HGAAS – atomowa spektrometria absorpcyjna z generowaniem lotnych wodorków; FAAS – atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją płomieniową; ICPAES – atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej; ICPMS – spektrometria mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej; MIPAES – atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie mikrofalowej; DCPAES – atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie łuku prądu stałego

jak dotychczas z przewagą metod atomowej spektrometrii absorpcyjnej, w jej różnych wariantach [14].

Konieczność łączenia procesów rozdzielania i oznaczania doprowadziła do konstrukcji aparatów realizujących obie te funkcje. Są to przyrządy, lub techniki, sprzężone (*hyphenated techniques, coupled techniques*) [6, 35]. Możliwości jest tu bardzo wiele, choć często są to w istocie metody chromatograficzne z współcześnie udoskonalonymi detektorami. Przykładami mogą być chromatografia gazowa lub cieczowa z detektorem mas lub z detekcją atomów jonizowanych w plazmie indukcyjnie sprzężonej i oznaczanych w spektrometrze mas. Niekiedy okazuje się konieczne sprzężone stosowanie dwóch detektorów — spektrofotometrycznego do ciągłego oznaczania substancji organicznych w zakresie nadfioletu i wykorzystującego widma atomowe emisyjne lub absorpcyjne badanych pierwiastków. Taki układ wykorzystano do określania rodzajów białek wiążących jony metali, np. cynku (rys. 3) [57]. W badaniu specjacji glinu i krzemu w surowicy krwi, gdzie znajduje się większość tych pierwiastków, uzyskanie ważnych dla medycyny rezultatów wymaga rozdzielania białek metodą chromatografii cieczowej i ciągłego oznaczania obecności białek w eluacie techniką spektrofotometrii absorpcyjnej cząsteczkowej przy długości fali 280 nm, a także następczego oznaczania krzemu i glinu we frak-



Rys. 3. Określanie wiązania cynku przez różne rodzaje białek dzięki frakcjonowaniu surowicy krwi metodą chromatografii żelowej [57] (dzięki uprzejmości wydawnictwa Springer International). Pogrubiona linia ciągła odpowiada zawartościom cynku we frakcjach; pozostałe linie odpowiadają zawartościom białek, zaznaczonych na rysunku



Rys. 4. Oznaczanie specjacji glinu 1,0 $\mu\text{g/ml}$ (a) i krzemu 5,0 $\mu\text{g/ml}$ (b) we frakcjach surowicy krwi po rozdziale metodą chromatografii cieczowej – zacięzione słupki; linia ciągła odpowiada absorpcji związanej z obecnością białek, kolejno albuminy, transferyny i globuliny [58] (dzięki uprzejmości Royal Society of Chemistry)

cyjach metodą atomowej spektrometrii atomowej z atomizacją w piecu grafitym (rys. 4) [58].

JAKOŚĆ OZNACZEŃ W ANALIZIE SPECJACYJNEJ

Wiarygodne oznaczenie specjacji w próbkach naturalnych wymaga potwierdzenia jakości oznaczenia, a więc określenia jego dokładności. Zagadnienia jakości w ostatniej dekadzie nabrały specjalnego znaczenia [59]. W odniesieniu do próbek biologicznych wiąże się to z potrzebą porównywania danych uzyskiwanych w różnych laboratoriach, określania dopuszczalnych poziomów referencyjnych, opracowywania międzynarodowych standardów. Podstawowym sposobem określania jakości oznaczeń w analizie chemicznej jest stosowanie certyfikowanych materiałów odniesienia o dobrze znanej, z okreś-

lonym prawdopodobieństwem, zawartości analitu. Takie materiały odniesienia stosowane są do stwierdzenia poprawności wykonanych oznaczeń, do kontroli pracy laboratorium analitycznego, do sprawdzenia (walidacji) nowych procedur analitycznych. Asortyment dostępnych certyfikowanych materiałów referencyjnych do oznaczania śladowych ilości pierwiastków w materiale biologicznym nie obejmuje wszystkich możliwych i potrzebnych przypadków. Takich materiałów do badania specjacji jest bardzo mało i są to materiały bardzo specjalne (tab. 2) [60–62].

Tabela 2. Certyfikowane materiały odniesienia prób biologicznych

NIES (Japonia)	JO-11	mięso ryb	TBT $1,3 \pm 0,1$ $\mu\text{g/g}$
	JO-13	włosy ludzkie	Hg, MeHg
	JO-14	wodorosty	As(V), As-rybozydy
	JO-15	mięso małży	As(V), As-rybozydy
NRCC (Kanada)	DORM-1	mięso foki	MeHg $0,731 \pm 0,060$ $\mu\text{g/g}$
BCR (Unia Eur)	CRM-463	mięso tuńczyka	MeHg $3,04 \pm 0,14$ $\mu\text{g/g}$
	CRM-464	mięso tuńczyka	MeHg $5,50 \pm 0,17$ $\mu\text{g/g}$

MeHg – metylortęć; brak informacji o stężeniu w przypadku materiałów w przygotowaniu.

Jednym ze sposobów postępowania w przypadku braku właściwych materiałów referencyjnych jest tzw. oznaczenie odzysku. Nie jest to jednak proste, gdyż materiałem wyjściowym winna być matryca o niskim poziomie analitu, sam analit zaś powinien być dodany w takiej postaci, w jakiej występuje w badanym materiale. W przypadku pierwiastków silnie związanych z matrycą biologiczną jest to praktycznie nieosiągalne, gdyż zawsze dodatek będzie łatwiej uwalniany od składnika związanego w badanym materiale z wielkocząsteczkową matrycą biologiczną, a to może już być źródłem błędów. Niekiedy długi czas osiągnięcia równowagi może zbliżyć układ do autentycznej próbki, jednakże nie zawsze to może być gwarancją poprawności wyniku, a nawet w takich okolicznościach można oczekiwać zmian specjacji w układzie.

Pewnym sposobem przewyciężenia tych trudności byłoby wykonanie równoległych oznaczeń inną metodą, która prawdopodobnie nie jest obciążona tymi samymi błędami. W przypadku bardzo niskich stężeń i skomplikowanej matrycy trudno byłoby znaleźć inną wiarygodną metodę analityczną. Inną koncepcją może być prowadzenie badań międzylaboratoryjnych. Biorąc pod uwagę duże koszty takich oznaczeń, nie jest to proste, choć w warunkach współpracy międzynarodowej nieraz konieczne [60].

W zasadzie sprawdzenie wyników oznaczenia poszczególnych form jest możliwe przez porównanie sumy stężeń wszystkich składników z oznaczeniem całkowitego stężenia oznaczonego niezależnie. W praktyce nie jest to często takie proste, gdyż stężenie składnika najtrudniejszego do oznaczenia uzyskuje się, oznaczając różnicę między całkowitym stężeniem pierwiastka a stężeniem pozostałych składników.

WNIOSKI

Wnioski płynące z tych rozważań wskazują, że badanie specjacji w ogóle, a w materiale biologicznym w szczególności, jest zadaniem bardzo trudnym z punktu widzenia chemii analitycznej. Jest to tym trudniejsze, że często brak jest sposobów weryfikacji poprawności rezultatów. Wreszcie istotne wydaje się stwierdzenie, że aby osiągnąć rezultaty, które będą znaczące naukowo i praktycznie, konieczna jest ścisła współpraca analityków z biologami i lekarzami, a także współpraca w zakresie współczesnych metod chemii analitycznej między ośrodkami w różnych krajach.

Podziękowanie

Praca została wykonana w ramach BST 532/2/96, a jej tematyka związana jest z programem TEMPUS JEP 7891.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] *The importance of chemical speciation in environmental processes*, M. Bernhard, F. E. Brinkmann, P. J. Sadler (red.), Springer, Berlin 1986.
- [2] *Speciation of metals in water, sediments and soil systems*, L. Landner (red.), Springer, Heidelberg 1987.
- [3] *Metal speciation: Theory, analysis and application*, J. R. Kramer, E. H. Allen (red.), Lewis, Chelsea 1988.
- [4] *Trace element speciation: Analytical methods and problems*, G. E. Batley (red.), CRC, Boca Raton 1989.
- [5] *Environmental analysis using chromatography interfaced with atomic absorption spectrometry*, R. M. Harrison, S. Rapsomanikis (red.), Horwood, Chichester 1989.
- [6] *Metal speciation: Separation and recovery*, J. W. Patterson, R. Passino (red.), Lewis, Chelsea 1990.
- [7] *Metal speciation in the environment*, J. A. C. Broekaert, S. Gucer, F. Adams (red.), Springer, Berlin 1990.
- [8] S. J. Hill, S. J. Haswell, *Trace element speciation*, Wiley, New York 1993.
- [9] *Trace metal analysis and speciation*, I. S. Krull (red.), Elsevier, Amsterdam 1991.
- [10] *Chemical speciation in the environment*, A. M. Ure, C. M. Davidson (red.), Blackie, London 1995.
- [11] *Element speciation in bioorganic chemistry*, S. Caroli (red.), (w druku).
- [12] P. H. E. Gardiner, *Topics in current chemistry*, Vol. 141, Springer, Berlin 1987, s. 147.
- [13] A. K. Das, R. Chakraborty, M. L. Cervera, M. de la Guardia, *Mikrochim. Acta*, 1996, **122**, 209.
- [14] J. Szpunar-Łobińska, C. Witte, R. Łobiński, F. C. Adams, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, **351**, 351.
- [15] Ł. Campanella, K. Pyrzyńska, M. Trojanowicz, *Talanta*, 1996, **43**, 825.
- [16] A. K. Das, R. Chakraborty, M. L. Cervera, M. de la Guardia, *Talanta*, 1995, **42**, 1007.
- [17] R. Łobiński, F. C. Adams, *Trends Anal. Chem.*, 1993, **12**, 41.
- [18] J. C. Van Loon, R. R. Barefoot, *Analyst*, 1992, **117**, 563.
- [19] M. Balcerzak, *Wiad. Chem.*, 1995, **49**, 137.

- [20] B. Godlewska, A. Hulanicki, *Chem. Anal.*, 1993, **38**, 267.
- [21] K. Pyrzyńska, *Mikrochim. Acta*, 1996, **122**, 279.
- [22] V. P. Antonovich, I. V. Bezlutskaya, *J. Anal. Chem.*, 1996, **51**, 116.
- [23] R. Munoz Olivas, O. F. X. Donard, C. Camara, P. Quevauviller, *Anal. Chim. Acta*, 1994, **286**, 357.
- [24] A. Hulanicki, A. Lewenstam, M. Maj-Żurawska, *Reviews in Analytical Chemistry, Euroanalysis VIII*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 1994, s. 317.
- [25] M. Morita, J. S. Edmonds, *Pure Appl. Chem.*, 1992, **64**, 575.
- [26] D. C. Baxter, W. Frech, *ibid.*, 1995, **67**, 615.
- [27] Workshop on Improvement of Speciation Analysis in Environmental Matrices, Arcachon, 9–12 Dec. 1990, *Mikrochim. Acta*, 1992, **109**, Nr 1–4.
- [28] Workshop Trends in Trace Element Determinations in Environmental and Food Matrices, Thessaloniki, 9–11 Oct. 1994; *Mikrochim. Acta*, 1995, **119**, Nr 3–4.
- [29] First International Symposium on Speciation of Elements in Environmental and Biological Sciences, Loen, 16–18 June 1991; *Analyst*, 1992, **117**, Nr 3.
- [30] Second International Symposium on Speciation of Elements in Environmental and Biological Sciences, Loen, 15–18 June 1994; *Analyst*, 1995, **120**, Nr 3.
- [31] Advances in Elemental Species Analysis – Concepts, Findings and Evaluation, Clausthal, 22–24 March 1993; *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1994, **350**, Nr 1–2.
- [32] 6th International H. W. Nürnberg Memorial Symposium on Metal Compounds in Environment and Life, Jülich, 9–12 May 1995; *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1996, **354**, Nr 5–6.
- [33] D. Behne, *Analyst*, 1992, **117**, 555.
- [34] D. Behne, A. Kyriakopoulos, H. Meinhold, J. Köhrle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1990, **173**, 1143.
- [35] O. X. F. Donard, 5 Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik, B. Welz Ed. Perkin-Elmer, Überlingen 1989, s. 395.
- [36] C. Vandecasteele, C. B. Block, *Modern methods for trace element determination*, Wiley, Chichester 1993.
- [37] R. Łobiński, Z. Marczenko, *Spectrochemical trace analysis for metals and metalloids*, Elsevier, Amsterdam 1996.
- [38] C. F. Boutron, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1990, **337**, 482.
- [39] A. Michalska, A. Hulanicki, K. Dołowy, A. Lewenstam, *Chem. Anal.*, 1993, **38**, 385.
- [40] J. Versieck, F. Barbier, R. Cornelis, *Talanta*, 1982, **29**, 973.
- [41] C. Veillon, *Anal. Chem.*, 1986, **58**, 851A.
- [42] B. Sampson, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1988, **3**, 465.
- [43] I. Andersen, A. C. Hogetvelt, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1984, **318**, 41.
- [44] R. Cornelis, F. Borguet, J. Dekimpe, *Anal. Chim. Acta*, 1993, **283**, 183.
- [45] H. J. Robberecht, H. A. Deelstra, *Talanta* 1984, **31**, 497.
- [46] M. Horvat, A. R. Byrne, *Analyst*, 1992, **117**, 665.
- [47] A. J. L. Mürer, A. Abildtrup, O. M. Poulsen, J. M. Christensen, *ibid.*, 1992, **117**, 677.
- [48] M. H. Kroll, R. Chester, R. J. Elin, *Clin. Chem.*, 1989, **35**, 1523.
- [49] G. Lunde, *Biochim. Biophys. Acta*, 1973, **304**, 76.
- [50] J. Versieck, *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, 1986, **91**, 87.
- [51] X. Yin, G. Schlemmer, B. Welz, *Anal. Chem.*, 1987, **59**, 1462.
- [52] B. Godlewska, A. Hulanicki, F. R. Abou-Shakra, N. I. Ward, *Anal. Lett.*, 1994, **27**, 2647.
- [53] M. M. Black, F. S. Fell, J. M. Ottaway, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1986, **1**, 369.
- [54] R. Stella, M. T. Ganzerli-Valentini, *Anal. Chem.*, 1979, **51**, 2148.
- [55] T. M. Florence, *Talanta*, 1982, **29**, 1982.
- [56] C. M. G. Van den Berg, *Analyst*, 1992, **117**, 589.
- [57] P. A. Gardiner, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1993, **345**, 287.
- [58] A. Sanz-Medel, *Analyst*, 1992, **117**, 589.

-
- [59] *Quality assurance for environmental analysis*, P. Quevauviller, E. A. Maier, B. Griepink (red.), Elsevier, Amsterdam 1995.
- [60] P. Quevauviller, *Analyst*, 1995, **120**, 597.
- [61] P. Quevauviller, E. A. Maier, B. Griepink, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1993, **345**, 282.
- [62] K. Okamoto, J. Yoshinaga, M. Morita, *Mikrochim. Acta*, 1996, **123**, 15.

Praca wpłynęła do Redakcji 19 sierpnia 1996

JAK POWSTAŁ DYNAMIT? WHAT IS THE ORIGIN OF DYNAMITE?

Andrzej Kasperowicz

*Institut Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, Filia w Białymstoku,
 Al. Piłsudskiego 11/4, 15-443 Białystok*

The history of the development of the first explosives with particular emphasis on dynamite is presented in this paper.

POCZĄTKI...

Najstarszym materiałem wybuchowym jest proch czarny, czyli mieszanina, w różnych proporcjach, trzech składników (najczęściej węgla drzewnego, siarki i saletry potasowej), z których oddzielnie żaden nie jest materiałem wybuchowym (tab. 1).

Tabela 1. Skład prochu czarnego strzelniczego (w %)

Rok	Państwo	Saletra	Węgiel drzewny	Siarka
1250	Anglia	41,2	29,4	29,4
1338	Francja	50,0	25,0	25,0
1350	Anglia	66,6	22,3	11,1
1560	Anglia	50,0	33,3	16,7
1560	Szwecja	66,6	16,6	16,6
1595	Niemcy	52,2	26,1	21,7
1608	Dania	68,3	23,2	8,5
1647	Anglia	75,5	16,6	16,6
1649	Niemcy	66,6	13,3	11,2
1650	Francja	75,6	13,6	10,8
1670	Anglia	71,4	14,3	14,3
1697	Szwecja	73,0	17,0	10,0
1742	Anglia	75,0	12,5	12,5
1775	Kolonie amerykańskie	75,2	13,5	11,3
1781	Anglia	75,0	15,0	10,0
1882	Niemcy	78,0	19,0	3,0

Najbardziej znany skład to: 75% saletry potasowej, 15% węgla drzewnego, 10% siarki. Proch czarny wynaleziony przez Chińczyków przed dwoma tysiącami lat wykorzystywany był przez nich wyłącznie do wytwarzania ogni sztucznych i rakiet. Tajemnica jego produkcji przedostała się do Indii i Azji Środkowej, a następnie w połowie XIII w. poprzez Arabów dotarła do Europy. W pracy naukowej, pisanej dla papieża przez Anglika Rogera Bacona (ok. 1214–1292), można znaleźć zapiski mówiące o sposobie przygotowania prochu czarnego.

Istnieje też legenda, iż proch czarny został ponownie odkryty w XIV w. w Europie przez zakonnika trudniącego się alchemią, Bertholda Schwarza. Doprowadził on przypadkowo do wybuchu rozcieranej w moździerz mieszanki saletry z węglem drzewnym i siarką. Tłuczek, którym ją rozcierał, został wyrzucony z dużą siłą, wybijając otwór w powale piwnicy, a część nie spalonego węgla wyrzuconego z moździerza poprzebijała skórę twarzy mnicha, pozostawiając na niej mnóstwo czarnych cętek, od których uzyskał przydomek „Schwarz”, co w języku niemieckim znaczy czarny.

Proch czarny, zwany inaczej dymnym, używany był głównie do celów militarnych jako materiał wybuchowy miotający. Nie był on jednak pozbawiony wad, np. w trakcie jego spalania powstawały zanieczyszczające lunę składniki stałe. Długo trzeba było czekać na jakikolwiek postęp w tej dziedzinie.

W 1786 r. Claude Louis Berthollet otrzymał chloran potasu – podstawowy składnik nie używanych obecnie chloranowych materiałów wybuchowych. Pod koniec XVIII w. wynaleziono piorunian rtęci, zastosowany do wyrobu spłonek inicjujących, i wreszcie w wieku XIX rozpoczął się okres otrzymywania różnych związków nitrowych. W 1833 r. francuski chemik Braconnot jako pierwszy otrzymał nitrocelulozę i nitroskrobię. Działał on stężonym kwasem azotowym na skrobię, papier lub drewno. Otrzymane w ten sposób „ciasto” nazwano ksylidyną i zaczęto stosować do napełniania pocisków artyleryjskich. Kilka lat później jego rodak Pelouze, zanurzając na pewien czas w stężonym kwasie azotowym papier lub bawełnę, otrzymał nitrocelulozę, którą nazwał piroksyliną.

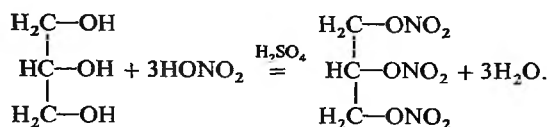
Po pewnym czasie proces i produkt udoskonalono. W 1846 r., niezależnie od siebie, Schönbein i Böttinger znitrowali celulozę mieszaniną nitrującą składającą się ze stężonego kwasu siarkowego i azotowego i wykazali, że tak otrzymana „bawełna strzelnicza” jest znacznie bardziej skuteczna jako materiał wybuchowy miotający niż proch czarny.

PRZEŁOM...

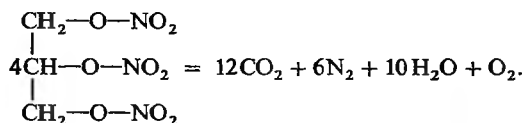
Prawdziwy przełom w dziedzinie materiałów wybuchowych zaczął się jednak dopiero po roku 1847, kiedy to Włoch Ascanio Sobrero otrzymał najsilniejszy ze znanych wówczas materiałów wybuchowych: nitroglicerynę, zwaną także przez niego pirogliceryną.

NITROGLICERYNA

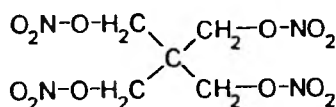
Trójazotan gliceryny $C_3H_5(ONO_2)_3$, zwany potocznie nitrogliceryną (przedrostek „nitro” stosuje się do związków, w których atom azotu jest bezpośrednio połączony z atomem węgla w łańcuchu organicznym; w przypadku azotanów atom azotu jest połączony z łańcuchem organicznym za pośrednictwem atomu tlenu: $R-C-NO_2$ – związek nitrowy, $R-C-O-NO_2$ – ester kwasu azotowego) jest echem kwasu azotowego i gliceryny, otrzymywanym przez działanie na glicerynę mieszaniną stężonych kwasów azotowego i siarkowego w temperaturze $25^\circ C$ lub niższej:



Jest to ciecz oleista o gęstości $1,6 \text{ g/cm}^3$, bezbarwna lub lekko żółtawa o słodkawym palącym smaku, bez zapachu, o silnych właściwościach wybuchowych. Krystalizuje w dwóch odmianach: labilnej (nie trwałe) o temperaturze topnienia $1,9-2,2^\circ C$ i stabilnej (trwałej) o temperaturze topnienia $13,2^\circ C$. Łatwo ulega przechłodzeniu i może występować w stanie ciekłym w temperaturach niższych od $0^\circ C$. W temperaturze $15^\circ C$ jest trudno rozpuszczalna w wodzie, ale rozpuszcza się dobrze w rozpuszczalnikach organicznych. Nitrogliceryna rozpuszcza nitrocelulozę tworząc roztwory koloidalne o dużej lepkości (żelatynizacja). Należy do bardzo silnych materiałów wybuchowych, przewyższających moc trotylu 1,5-krotnie. Gwałtowny wstrząs lub płomień powoduje jej wybuchowy rozkład połączony z wewnętrznym spalaniem. Reakcja rozkładu może być przedstawiona równaniem:



Wrażliwość na bodźce mechaniczne ma podobną jak materiały wybuchowe inicjujące (wybuchocha przy spadku na nią ciężarka o wadze 2 kg z wysokości ok. 4 cm) i z tego powodu jest bardzo niebezpieczna w produkcji i użyciu. Dobrze oczyszczona nitrogliceryna jest trwała w temperaturze pokojowej, natomiast ogrzana do temperatury $75^\circ C$ wykazuje już po paru dniach oznaki rozkładu. Nitrogliceryna zazwyczaj nie jest transportowana pospolitymi środkami przewozu. Jeśli jednak jest to konieczne, przewozi się ją w postaci 70% roztworu acetonowego, który jest względnie niewrażliwy. Stosowana jest głównie do produkcji prochów nitroglicerynowych oraz wieloskładnikowych mieszanin kruszących, takich jak dynamit czy żelatyna wybuchowa. Wchodzi także w skład wielu innych materiałów wybuchowych w celu zwiększenia ich podatności na detonację. Rozcieńczone roztwory alkoholowe nitrogliceryny nie są wrażliwe na uderzenie i w takiej postaci (oraz w postaci tabletek i maści) znalazły zastosowanie w lecznictwie jako leki spazmolityczne (obniżające napięcie mięśni gładkich). Bezpośrednie działanie rozkurczowe wykazują jony azotynowe, do których nitrogliceryna ulega w organizmie powolnemu rozkładowi. Wchłania się najszybciej z błony śluzowej jamy ustnej, dlatego lek stosuje się podjęzykowo. Również inne estry kwasu azotowego wykazują podobne działanie lecznicze, np. jeden z najsilniejszych materiałów wybuchowych – czteroazotan pentaerytrytolu, czyli pentryt:



Proces produkcji nitrogliceryny składa się z trzech zasadniczych etapów: nitrowania gliceryny, separacji nitrogliceryny od kwasu odpadowego oraz stabilizacji nitrogliceryny.

Ascanio Sobrero (1812–1888) studiował chemię i medycynę. Począwszy od roku 1840 przebywał u prof. Pelouze'a w Paryżu, gdzie zajmował się nitrowaniem substancji organicznych. Następnie w 1843 r. pracował przez kilka miesięcy u prof. Liebiga w Giessen (Niemcy). Po powrocie do Turynu został profesorem chemii przemysłowej i pełnił tę funkcję aż do roku 1883. Ascanio Sobrero zbadał rozpuszczalność otrzymanego oleju (nitrogliceryny) w eterze i alkoholu etylowym oraz łatwość jego strącania z roztworu alkoholowego przez dodanie wody. Początkowo nie orientował się w możliwościach praktycznego wykorzystania swojego wynalazku ani w charakterze zjawiska detonacji. Nie znał też niezawodnego i bezpiecznego sposobu pobudzania detonacji nitrogliceryny. Wytworzona przez Ascania Sobrera w 1847 r. pierwotna ilość nitrogliceryny wyniosła około 500 g, z czego około 300 g przechowuje się do dziś jako zabytek muzealny w Zakładach Chemicznych Avigliana we Włoszech.

Nitrogliceryna przez 18 lat od jej odkrycia, ze względu na ryzyko niespodziewanej eksplozji, nie była prawie w ogóle wykorzystywana i pozostawała jedynie chemiczną ciekawostką. Dopiero Alfred Nobel odniósł pierwszy sukces w kontrolowanej detonacji i praktycznym wykorzystaniu tej cieczy. Alfred Nobel pracował przez pewien czas w laboratorium prof. Pelouze'a w Paryżu, gdzie miał też okazję spotkać się z Ascaniem Sobrerem. Będąc w 1862 r. w Rosji, umieścił on nitroglicerynę w szklanej probówce, którą mocno zakorkował i włożył do środka metalowej rury wypełnionej czarnym prochem, którego zapłon dokonywał się za pomocą lontu. Całość wrzucono do kanału i wywołało silną podwodną eksplozję. W 1863 r. Alfred Nobel wyjechał do Sztokholmu, gdzie pomagał swemu ojcu w produkcji nitrogliceryny. Tutaj powtarzał podobne eksperymenty z nitrogliceryną ponad 50 razy. W końcu zmienił kolejność składników: umieścił niewielki pojemnik z czarnym prochem i lontem wewnątrz większej rury wypełnionej nitrogliceryną. Otrzymane rezultaty były wymienne – nitrogliceryna wybuchła z pełną mocą. Ten wynalazek, wkrótce przez Nobla opatentowany, prosty w swej istocie (mały drewniany cylinder długości ok. 5 cm zawierał czarny proch strzelniczy i lont), uznany został za największy od czasów wytworzenia prochu czarnego, gdyż zrewolucjonizował całą technikę materiałów wybuchowych. Wkrótce zamiast prochu zaczęto używać o wiele bardziej skutecznego piorunianu rtęci, ale zasada pozostała ta sama. Nobel nie zdawał sobie sprawy, na jakiej zasadzie działa wykonany przez niego detonator. Uważał, że pobudzenie nitrogliceryny do wybuchu jest wynikiem powstawania w detonatorze płomienia i ciepła. Dopiero 17 lat później istota procesu detonacji została odkryta, niezależnie, przez Mallarda i Le Chateliera (1881) oraz Berthelota i Vieille'a (1882). W 1864 r. Alfred Nobel i jego ojciec, po otrzymaniu szwedzkiego patentu na produkcję i używanie nitrogliceryny, rozpoczęli jej wytwarzanie (w dalszym ciągu intensywnie prowadząc eksperymenty) w skali półtechnicznej, w Helenborgu koło Sztokholmu. Zainteresowanie nową techniką było ogromne. Kompanie górnicze i kolejowe szybko dostrzegły możliwości wykorzystania „wybuchowego oleju Nobla” i zaczęły

natychmiast go używać. Już w 1864 r. np. posłużono się nitrogliceryną Nobla do wykonania tunelu na wyspie Södermalm na południu Sztokholmu.

Nitrogliceryna jest jednak bardzo perfidną substancją – czasami wystarczyło dotknięcie jej ptasim piórem, aby nastąpiła eksplozja, ale można ją też było zapalić jak olej nie wywołując detonacji. Zarejestrowane są też przypadki używania nitrogliceryny w całkowicie nieodpowiedni sposób bez wystąpienia jakichkolwiek niepożądanych skutków. Na przykład natłuszczano i polerowano za jej pomocą skórę butów, a także smarowano osie wozów(!). Nitrogliceryna szczególnie łatwo wybucha, jeśli nie jest dostatecznie oczyszczona i zawiera kwas azotowy lub azotawy.

Pierwsza poważna katastrofa wydarzyła się 3 września 1864 r., właśnie w laboratorium Nobla w Helenborgu. Zginęło wówczas pięć osób, wśród nich Emil Nobel – najmłodszy brat Alfreda. Tragedia ta tak wstrząsnęła ich ojcem, Immanuelem Noblem, że pozostał fizycznie upośledzony, na skutek udaru mózgu, przez następne, ostatnie 8 lat swojego życia. Z powodu tej eksplozji nikt nie chciał mieć zakładów produkujących nitroglicerynę w pobliżu swych siedzib. Władze Sztokholmu zaproponowały Alfredowi Noblowi założenie fabryki na barce zakotwiczonej na jeziorze Mälaren. Nie mając innego wyjścia, Alfred zgodził się na tę propozycję. Wkrótce jednak z finansową pomocą przyszedł mu milioner J. W. Smitt i w 1865 r. w Vinterviken powstała, na stałym już gruncie, nowa fabryka produkująca tu nitroglicerynę przez dalsze 50 lat. Drugi zakład powstał w Krümmel, w Niemczech niedaleko Hamburga. Jednak wraz z wzrastającą na świecie produkcją nitrogliceryny wzrastała również liczba nieprzewidzianych, niszczących eksplozji. Kolejne wydarzyły się w Panamie, San Francisco, Australii i w fabrykach Nobla w Niemczech i Belgii.

Jak nieroztropni, lekkomyślni i pozbawieni wyobraźni byli ludzie obchodzący się z nitrogliceryną, może świadczyć następujący wypadek. W Nowym Jorku, w małym hotelu przy ulicy Greenwich, niemiecki podróżnik zostawił na przechowanie zapakowany w skrzynce gąsior, zawierający 10 funtów (ok. 4,5 kg) nitrogliceryny. Skrzynki z tą zawartością używali bagażowi jako siedzenia albo oparcia dla nogi przy polerowaniu butów. Pewnego niedzielnego poranka kelner zauważył wydobywające się ze skrzyni czerwonobrunatne dymy. Bagażowy wyniósł skrzynię na ulicę i w chwilę później straszna eksplozja zniszczyła okna i drzwi wszystkich budynków w pobliżu, a w ulicy powstał lej głębokości 4 stóp (ok. 1,2 m).

POSZUKIWANIA..

Śmierć brata i wszystkie następne tragiczne wydarzenia z pewnością musiały wpłynąć przygnębiająco, ale i mobilizująco na Alfreda Nobla, który ze zdwojonym uporem eksperymentował w poszukiwaniu sposobu ujarznienia, stabilizacji nitrogliceryny.

Opatentował on metodę rozpuszczania nitrogliceryny w alkoholu metylo-
wym, który mógł być następnie przed jej użyciem usuwany za pomocą wody –
metodę tę uznano jednak za mało praktyczną. Później próbował do ciekłej
nitrogliceryny dodawać sproszkowanych lub włóknistych substancji stałych,
takich jak: pył drzewny, węgiel drzewny, papier, pył ceglany, cement. Wszystkie
te próby nie były satysfakcjonujące. Materiały palne mogły łatwo ulec samoza-
paleniu w połączeniu z nitrogliceryną, a nieaktywne, takie jak np. pył ceglany,
osłabiały siłę eksplozji.

Według jednej ze znanych wersji wynalezienie dynamitu przez Nobla
w 1866 r. było przypadkowe: metalowy pojemnik z nitrogliceryną zaczął prze-
ciekać, a oleista ciecz wsiąkać w ziemię okrzemkową, znajdującą się pomiędzy
tymi pojemnikami (ziemia okrzemkowa była tanim, lekkim, porowatym mine-
rałem, dość pospolitym w północnych Niemczech). Nobel zainteresował się
utworzoną pastą i poddał ją intensywnym badaniom, stwierdzając, że – cho-
ciaż jest bezpieczna i można ją zdetonować tylko przy użyciu zapalnika – za-
chowuje ona siłę wybuchową ciekłej nitrogliceryny.

Istnieje jednak wiele przekonujących dowodów przeciwko takim narodzi-
nom dynamitu. Sam Nobel ostro zaprzeczał takiemu przebiegowi wypadków
i utrzymywał, że odkrył ziemię okrzemkową jako idealny absorbent po prze-
prowadzeniu wnikliwych naukowych eksperymentów. Cóż, Nobel – pomimo
prowadzenia interesów z ludźmi nierzadko pozbawionymi skrupułów – był
człowiekiem prawnym i uczciwym. Nie ma więc powodu, żeby mu nie wierzyć.

CZY ABY NA PEWNO NOBEL...?

Są natomiast mało znane świadectwa o tym, że prym pierwszeństwa w wy-
nalezieniu zapalnika i być może dynamitu może należeć do Rosjan: chemika
Nikołaja Zinina (1812–1880) i oficera artylerii Wasilija Pietruszewskiego.

Nikołaj Zinin w 1833 r. ukończył uniwersytet w Kazaniu. W 1837 r. został
adiunktem i rozpoczął trzyletnie studia za granicą. Zwiedził wiele laboratoriów
chemicznych i zakładów przemysłowych w Niemczech, Anglii i Francji. Po
powrocie do Rosji w 1841 r. obronił pracę doktorską. W latach 1848–1864 był
profesorem chemii na Uniwersytecie w Petersburgu. Od 1842 r. prowadził
prace badawcze nad nitrowaniem wielu substancji organicznych zarówno sze-
regu tłuszczowego, jak i aromatycznego oraz nad właściwościami chemicznymi
substancji aromatycznych. Był on jednym z prywatnych nauczycieli chemii
młodego Alfreda Nobla. Jest znany przede wszystkim jako autor wielkiego
odkrycia na polu syntezy organicznej, mianowicie wytworzenia aniliny, którą
po raz pierwszy otrzymał w wyniku redukcji nitrobenzenu. Samodzielnie rów-
nież przeprowadził nitrowanie gliceryny i wytworzył nitroglicerynę. Jako pier-
wszy zorientował się w charakterze zjawiska detonacji nitrogliceryny oraz
w czynnikach ją wywołujących. Już w 1854 r. opracował zapalnik do łatwego

i niezawodnego detonowania nitrogliceryny. Użył w tym celu – podobnie jak później Nobel – ładunku prochu czarnego zamkniętego w szklanej buteleczce zaopatrzonej w lont zapalający. Wykonawcą zapalnika był późniejszy generał artylerii Wasilij Pietruszewski. Z powodu konserwatyizmu carskiego kierownictwa wojskowego, pomysł ten nie został poparty i nie doczekał się szerszej popularyzacji. W latach wojny krymskiej (1853–1856) Zinin wytwarzał większe ilości nitrogliceryny, którą wraz z Pietruszewskim próbował użyć do ładowania pocisków artyleryjskich i min morskich. Ponadto ponownie, niezależnie od Nobla, Pietruszewski i Czerniłowski-Sokół zorganizowali produkcję nitrogliceryny w Kraju Zabajkalskim w kopalni złota w Wierchnie-Udinskoje. W ciągu czterech lat otrzymali oni ponad 3 tony nitrogliceryny, z których wytwarzali ładunki bezpiecznego ciastowatego materiału wybuchowego, używając jako pochłaniacza węgla magnezu.

Na terenie Stanów Zjednoczonych pionierem w produkcji i zastosowaniu nitrogliceryny był George Mordey Mowbray (1814–1891). Jako pierwszy (1868) przy nitrowaniu gliceryny zastosował metodę mieszania sprężonym powietrzem, którą prawie od stu lat stosuje się także w krajach europejskich. Pierwszy również opublikował w USA książkę o materiałach wybuchowych. W celu zwiększenia bezpieczeństwa podczas transportu nitrogliceryny, zastosował przewożenie jej w bańkach blaszanych w stanie zamrożonym. Jednak zamrożona nitrogliceryna nadal pozostawała groźnym materiałem wybuchowym, a utrzymywanie jej w stanie stałym w trakcie transportu nastęczało duże trudności. Ostatecznie tego sposobu przewożenia zaniechano.

WYBUCHOWA ŻELATYNA

Światowa produkcja dynamitu Nobla urosła w latach 1867–1874 z 11 do 3120 ton rocznie. Nobel jednak na tym nie poprzestał. W 1875 r. wytworzył wybuchową żelatynę, zwaną także gumowym dynamitem. Tym razem, jak sam to opisuje, rzeczywiście odkrycie owo było częściowo przypadkowe. Pewnego dnia, pracując w laboratorium, przeciął sobie niechcący palec kawałkiem stłuczonego szkła. Jak to było wówczas powszechnie praktykowane, połał skaleczone miejsce kolodium, tj. lepkiem roztworem nitrocelulozy w eterze lub alkoholu (roztwory takie były używane do tymczasowego pokrycia rany cienką warstwą nitrocelulozy, gdy rozpuszczalnik już odparował). Nie mogąc spać z powodu bolącego zranionego palca, Nobel zaczął zastanawiać się nad problemem, który rozważał już wcześniej, nie uzyskując jednak rozwiązania, a mianowicie: jak połączyć łatwopalną nitrocelulozę z nitrogliceryną, co w efekcie powinno dać materiał wybuchowy równie bezpieczny jak dynamit, przewyższający go jednak siłą wybuchu. Eksperymentował on już z bawełną strzelniczą – bardzo silnie znitrowaną celulozą; jak dotąd nie udało mu się jednakże skutecznie połączyć jej z nitrogliceryną. A gdyby tak zastosować nitro-

celulozę o mniejszej zawartości azotu, taką jak w kolodiu? Nobel, pod-ekscytowany tą myślą, zszedł szybko o 4 rano do swojego laboratorium i zaczął eksperymentować, mieszając różne proporcje nitrogliceryny i kolodiu. Gdy z rana do pracy przyszedł jego asystent, Nobel mógł już pokazać mu lepkie, żelowate połączenie dwóch najsilniejszych ze znanych wówczas materiałów wybuchowych. Dalsze badania wykazały, że otrzymany nowy materiał wybuchowy ma większą siłę wybuchu niż każdy ze składników oddzielnie. Po wielu kolejnych starannie zaplanowanych i wykonanych eksperymentach, pozwalających na ustalenie optymalnego składu wybuchowej żelatyny pod względem jej siły wybuchu i bezpieczeństwa (7% słabo znitrowanej celulozy i 93% nitrogliceryny), Nobel opatentował swój wynalazek w 1875 r. w Anglii i w 1876 r. w Stanach Zjednoczonych.

BALISTYT KONTRA KORDYT

Znacznie później Nobel odkrył, że jeśli zwiększy się zawartość nitrocelulozy z 7 do 50% i otrzymaną mieszaninę zgniecie pomiędzy rozgrzanymi wałkami, a następnie ją sproszkuje, otrzyma się tym sposobem nowy bezdymny proch strzelniczy: balistyt. Opatentowany w roku 1887, przyczynił się on do przewrotu w technice artyleryjskiej. Wzrosła prędkość początkowa pocisku i zdolność przebijania. Stworzona też została podstawa do rozwiązywania problemu konstrukcji i zastosowania broni automatycznej.

Na Wyspach Brytyjskich tylko raz, w 1871 r. w Szkocji, udało się Noblowi uzyskać zezwolenie na budowę fabryki i produkcję nitrogliceryny. Na przeszkodzie stał głównie Sir Frederick Abel – doradca Izby Gmin do spraw materiałów wybuchowych. Zainteresowany nitrocelulożą Schönbeina, widział on osobiste korzyści w stawianiu barier nitroglicerynie Nobla. W 1869 r. wyszedł akt prawny zabraniający importu, magazynowania i transportu tej substancji w Królestwie Brytyjskim. Na życzenie rządowej komisji, w skład której wchodził m.in. Frederick Abel i fizyk James Dewar, Nobel wyjawiał szczegóły produkcji objętego patentem balistyty. Wykorzystując te informacje, Dewar i Abel dodali wazelinę do mieszaniny nitrogliceryny i nitrocelulozy rozpuszczając całość w acetonie, tak że z otrzymanej masy mogły być wyciągane długie nitki. Powstały w ten sposób nowy produkt opatentowali w 1889 r. pod nazwą kordyt. Nobel uznał, że jest zmuszony do podjęcia przeciw nim kroków prawnych. Niestety przegrał on sprawę na tej podstawie, że używał „dobrze znanej rozpuszczalnej nitrocelulozy”, natomiast pozwani użyli jej nierozpuszczalnej odmiany. Koszty procesu wyniosły go 30 000 funtów, ale, co gorsza, jego patent balistyty prawie stracił na swej wartości.

Brytyjski przemysł materiałów wybuchowych w 1918 r. zjednoczył się jako Explosives Trades, Ltd. Wkrótce jednak przekonano się, że nazwisko Nobel jest symbolem jakości w przemysłowym świecie i zmieniono nazwę na Nobel Industries, Ltd.

Nobel zmarnował również bezowocnie wiele czasu na walkę z amerykańskimi rekinami finansjery. Produkcja i zużycie dynamitu w Nowym Świecie były kolosalne, Nobel jednak nie miał z tego prawie żadnych korzyści. Można przypuszczać, że gdyby nie tego typu wypadki Nagroda Nobla byłaby obecnie co najmniej dwukrotnie wyższa.

DYNAMIT DZISIAJ

Pojęcie dynamit, zarezerwowane początkowo dla materiałów wybuchowych nitroglicerynowych, stało się obecnie (przynajmniej w potocznym ujęciu) ogólnym terminem dla materiałów wybuchowych używanych w technice cywilnej. Dynamit krzemkowy Nobla składający się w 75% z nitrogliceryny i w 25% z ziemi krzemkowej, używany w postaci cylindrycznych ładunków owiniętych w papier nasycony parafiną oraz inne dynamity, zawierające jako absorbent nitrogliceryny materiał niepalny (nie biorący udziału w wybuchu), nie są już produkowane, gdyż uzyskanie jednostki energii z tego typu dynamitów jest bardziej kosztowne niż na przykład z dynamitów amonowych. Typowy skład różnych dynamitów przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2. Typowy skład dynamitów (w %)

Składniki	Moc dynamitu (w %)						
	20	30	40	50	60	80	100
Dynamity „zwykłe”							
Wilgoć	0,9	1,0	0,9	0,9	1,2	—	—
Nitrogliceryna	20,2	29,0	39,0	49,0	56,8	—	—
Siarka	2,9	2,0	—	—	—	—	—
Azotan sodu	59,3	53,3	45,5	34,4	22,6	—	—
Odkwaszacz (np. CaCO ₃ , MgCO ₃ , ZnO)	1,3	1,0	0,8	1,1	1,2	—	—
Materiał palny zawierający węgiel	15,4	13,7	13,8	14,6	18,2	—	—
Dynamity amonowe							
Wilgoć	0,8	0,8	0,7	0,9	0,7	—	—
Nitrogliceryna	12,0	12,6	16,5	16,7	22,5	—	—
Siarka	6,7	5,4	3,6	3,4	1,6	—	—
Azotan amonu	11,8	25,1	31,4	43,1	50,3	—	—
Azotan sodu	57,3	46,2	37,5	25,1	15,2	—	—
Odkwaszacz	1,2	1,1	1,1	0,8	1,1	—	—
Materiał palny zawierający węgiel	10,2	8,8	9,2	10,0	8,6	—	—
Dynamity „żelatynowe”							
Wilgoć	0,9	1,0	0,9	1,0	0,9	0,7	0,1
Nitrogliceryna	20,2	25,4	32,0	40,1	49,6	65,4	91,0
Nitroceluloza (rozpuszczalna)	0,4	0,5	0,7	0,8	1,2	2,6	7,9
Siarka	8,2	6,1	2,2	1,3	—	—	—
Azotan sodu	60,3	56,4	51,8	45,6	38,9	19,5	—
Odkwaszacz	1,5	1,2	1,2	1,2	1,1	1,7	0,8
Materiał palny zawierający węgiel	8,5	9,4	11,2	10,0	8,3	10,1	—

„Żelatyny” amonowe							
Wilgoć	—	1,5	1,4	1,6	1,7	1,8	—
Nitrogliceryna	—	22,9	26,2	29,9	35,5	38,3	—
Nitroceluloza (rozpuszczalna)	—	0,3	0,4	0,4	0,7	0,9	—
Siarka	—	7,2	5,6	3,4	—	—	—
Azotan amonu	—	4,2	8,0	13,0	20,1	34,7	—
Azotan sodu	—	54,9	49,6	43,0	33,5	19,1	—
Odkwaszacz	—	0,7	0,8	0,7	0,8	0,9	—
Materiał palny zawierający węgiel	—	8,3	8,0	8,0	7,8	4,3	—

Nitrogliceryna (lub inny ciekły materiał wybuchowy) we współcześnie produkowanych dynamitach osadzana jest na różnych palnych materiałach stałych biorących aktywny udział w wybuchu, takich jak: mączka drzewna, węgiel drzewny, torf, nitroceluloza.

Dynamity, ze względu na zbyt małą trwałość i dużą wrażliwość, nie są używane w wojsku. Stosuje się je głównie przy pracach skalnych, ziemnych i podwodnych. Ich wielka siła wybuchu powoduje rozkruszanie i rozdrabnianie materiałów, co jest szczególnie przydatne w technice cywilnej.

SŁOWNICZEK POJĘĆ

Materiał wybuchowy — związek chemiczny lub mieszanina, które pod wpływem bodźców zewnętrznych zdolne są do bardzo szybkiej reakcji chemicznej (przemiany wybuchowej) postępującej samorzutnie z wielką szybkością (od ułamka mm/s (palenie) do 9 km/s (detonacja), czemu towarzyszy wydzielanie dużej ilości ciepła (3762–7524 kJ/kg) i produktów gazowych (do 900 dm³/kg).

Materiał wybuchowy miotający — materiał wybuchowy, którego podstawową formą przemiany, po uprzednim jej zainicjowaniu płomieniem, stanowi spalanie wybuchowe nie przechodzące w detonację nawet w warunkach bardzo wysokich ciśnień.

Materiał wybuchowy inicjujący — związek chemiczny lub mieszanina związków chemicznych zdolne do przemiany wybuchowej pod wpływem bodźca zewnętrznego (płomienia, uderzenia, tarcia, nakłucia, drutu rozżarzonego prądem elektrycznym, iskry elektrycznej); stosowany w środkach inicjujących do spowodowania przemiany wybuchowej (palenie, detonacja) w innych materiałach wybuchowych.

Materiał wybuchowy kruszący — materiał wybuchowy, dla którego zasadniczą formą przemiany wybuchowej jest detonacja wywołana działaniem środków detonujących (np. spłonką detonującą, wzmocnioną niekiedy detonatorem). Materiał wybuchowy kruszący pobudzony płomieniem spala się stabilnie i tylko w określonych warunkach może nastąpić jego zdetonowanie (np. w dużej masie materiału wybuchowego lub w zamkniętej objętości). Jego wrażliwość jest znacznie mniejsza od materiałów wybuchowych inicjujących; jest bezpieczniejszy w produkcji i eksploatacji.

Zapalnik — urządzenie przeznaczone do spowodowania zapalenia lub wybuchu ładunku wybuchowego w żądanym miejscu i czasie.

Detonacja — rodzaj przemiany wybuchowej, przemieszczającej się w materiale wybuchowym w formie fali detonacyjnej ze stałą i największą możliwą prędkością, w określonych warunkach, znacznie przewyższającą prędkość fali akustycznej. W gazowych materiałach wybuchowych prędkość

kość detonacji wynosi 1000–3000 m/s, w materiałach wybuchowych ciekłych i stałych natomiast 3000–9000 m/s. Wartość prędkości detonacji stanowi cechę charakterystyczną danego materiału wybuchowego. Zależy głównie od jego ciepła wybuchu i gęstości oraz średnicy ładunku w przedziale średnic krytycznej i granicznej.

Krytyczna średnica ładunku – najmniejsza średnica ładunku, przy której możliwy jest stacjonarny przebieg detonacji.

Graniczna średnica ładunku – wartość średnicy ładunku materiału wybuchowego, przy której prędkość detonacji osiąga wartość największą.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Verlag Chemie, Weinheim 1991.
- [2] *Encyclopedia of Chemical Technology*, The Interscience Encycl. Inc., New York 1955.
- [3] A. Bailey, S. G. Murray, *Explosives, Propellants and Pyrotechnics*, Brassey's (UK) Ltd. 1989.
- [4] R. M. Roberts, *Serendipity: Accidental Discoveries in Science*, Wiley, Chichester 1989.
- [5] T. I. Williams, *Alfred Nobel. Pioneer of High Explosives*, Priory, London 1974.
- [6] G. S. Biasutti, *History of Accidents in the Explosives Industry*, published by the author 1985.
- [7] M. Korzun, *1000 słów o materiałach wybuchowych i wybuchu*, MON, Warszawa 1986.
- [8] M. A. Cook, *The Science of High Explosives*, Reinhold Publ. Co., New York 1958.
- [9] P. A. Persson, R. Holmberg, J. Lee, *Rock Blasting and Explosives Engineering*, CRC Press 1994.
- [10] R. Assehton, *History of Explosives*, Institute of Makers of Explosives, New York 1940.
- [11] R. Meyer, J. Köhler, *Explosives*, VCH 1992.
- [12] J. McGrath, *A History of Technology*, Vol. V, Oxford University Press, 1958.
- [13] O. Guttman, *The Manufacture of Explosives*, London 1895.
- [14] A. Marshall, *Explosives*, Churchill 1917.

Praca wpłynęła do Redakcji 21 listopada 1995

REAKCJE KWASÓW KARBOKSYLOWYCH Z OKSIRANAMI

REACTIONS OF CARBOXYLIC ACIDS WITH OXIRANES

Agnieszka Bukowska, Wiktor Bukowski, Henryk Galina

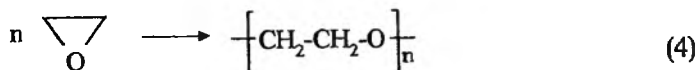
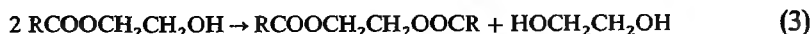
Wydział Chemiczny, Politechnika Rzeszowska im. I. Łukasiewicza,
 Al. Powstańców W-wy 6, 35-959 Rzeszów

The literature on the reaction of carboxylic acids with oxiranes has been reviewed. The kinetics and mechanism of the reaction as well as regioselectivity of oxirane ring opening are discussed and related to the type of catalysts used. The groups of catalyst types are characterized. Directions of practical applications of the products: hydroxyalkyl esters, are specified.

WPROWADZENIE

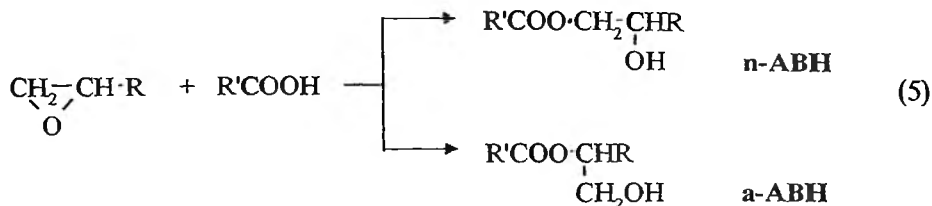
Reakcje kwasów karboksylowych z oksiranami mają duże znaczenie praktyczne. Pierwsze informacje na ich temat pojawiły się w literaturze już w 1860 r. [1], jednakże dopiero rozwój przemysłowych metod syntezy związków epoksydowych, obserwowany w latach 20. i 30. naszego stulecia, przyczynił się do wzrostu zainteresowania nimi. Dotychczasowe badania ujawniły złożony charakter rozpatrywanych reakcji, zarówno z punktu widzenia mechanizmu, jak i z punktu widzenia jakości oraz ilości otrzymanych produktów.

Następczo-równoległy charakter reakcji kwasów karboksylowych z oksiranami powoduje, że już w przypadku zastosowania najprostszego z nich – oksiranu (tzw. tlenku etylenu) – powstają liczne produkty uboczne [2, 3].



Układ reakcyjny komplikuje się dodatkowo dla oksiranów o budowie niesymetrycznej, kiedy istnieje możliwość tworzenia drugiego izomerycznego pro-

duktu addycji. Otrzymany zgodnie z regułą Krasuskiego [4] produkt, zwykle powstaje w nadmiarze, nazywany jest produktem normalnym (n-ABH), a jego izomer strukturalny – produktem anomalnym (a-ABH) [4–6].



W przypadku (chlorometylo)oksiranu (tzw. epichlorohydryny) lub innych pochodnych zawierających atom chlorowca w bezpośrednim sąsiedztwie grupy epoksydowej, proces może nosić jeszcze bardziej złożony charakter. Reakcji głównej (5), mogą towarzyszyć następujące reakcje uboczne [7]:

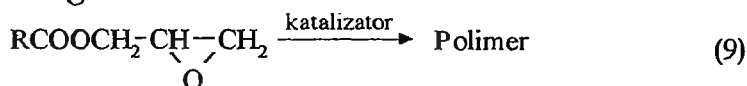
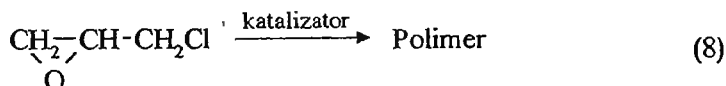
- dehydrochlorowanie karboksylanu 3-chloro-2-hydroksypropylu z udziałem (chlorometylo)oksiranu



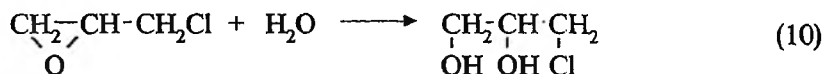
- addycja kwasu do wytworzonego estru glicydylowego



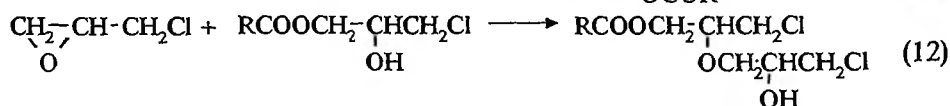
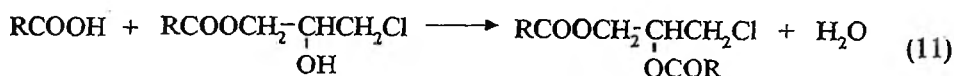
- polimeryzacja (chlorometylo)oksiranu i estru glicydylowego



- hydroliza (chlorometylo)oksiranu (w przypadku gdy substraty nie są dostatecznie osuszone)



- reakcje kwasu i (chlorometylo)oksiranu z estrem chlorohydroksypropylowym



Przebieg poszczególnych reakcji uzależniony jest od warunków prowadzenia procesu, rodzaju reagentów oraz zastosowanego katalizatora reakcji.

KATALIZATORY ADDYCJI KWASÓW KARBOKSYLOWYCH DO OKSIRANÓW

Z opublikowanych dotychczas prac na temat reakcji kwasów karboksylowych z oksiranami wynika, że bez udziału katalizatora przebiegają one z niewielką szybkością oraz małą selektywnością. Katalizatorem rozpatrywanych reakcji mogą być zarówno związki o charakterze kwasowym, jak i zasadowym, a także jony metali przejściowych. Duże znaczenie przemysłowe estrów hydroksyalkilowych kwasu akrylowego i metakrylowego powoduje, że większość doniesień patentowych na temat stosowanych katalizatorów dotyczy reakcji właśnie tych kwasów z oksiranami.

Pierwszymi opisanymi w literaturze katalizatorami reakcji kwasów karboksylowych z oksiranami były kwasy mineralne oraz ich kwaśne sole (np. kwas siarkowy(VI), wodorosiarczan(VI) sodu) [8]. Związki te nie znalazły jednakże szerszego zastosowania, gdyż w wyniku reakcji otrzymywano trudną do rozdzielania mieszaninę mono- i diestrów glikoli. Katalizatorem addycji mogą być aminy aromatyczne, takie jak dimetyloanilina, dietyloanilina, pirydyna [9], a także III-rzędowe aminy alifatyczne: trimetyloamina lub trietyloamina [10, 11]. Spośród innych związków azotu opisano zastosowanie soli amoniowych, np. soli pirydyny [12, 13], amidów kwasów karboksylowych: N,N-dimetyloformamidu, N-metyloformamidu oraz ϵ -kapolaktamu i innych [14]. Ogólnym niedostatkiem wymienionych związków azotu jest ich mała aktywność katalityczna i niewielka selektywność.

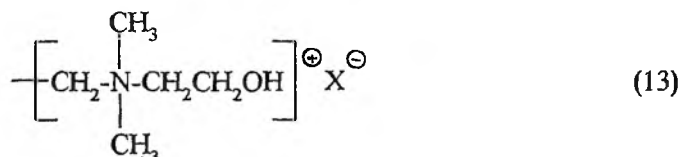
W literaturze patentowej spotyka się informacje na temat wykorzystania w syntezie estrów hydroksyalkilowych związków siarki typu R^1SR^2 lub $R^1R^2R^3S^+X^-$, gdzie: R^1 , R^2 , R^3 – alkil, cykloalkil, aryl, alkiloaryl, X – chlorowec [15, 16]. Katalizatory tego typu charakteryzuje mała selektywność. Zastrzeżono również stosowanie kwasów Lewisa, takich jak $SnCl_4$, BF_3 , $AlCl_3$ [17, 18], a także związków ołowiu, miedzi i talu [19]. Związki te są jednakże równocześnie inicjatorami polimeryzacji kationowej związków epoksydowych. Reakcję kwasów karboksylowych z oksiranami katalizują niektóre sole kwasów nieorganicznych, np. chlorek litu [20, 21], chlorek wanadu(III) [22], związki niobu i rutenu [23], a także tytanu i cyrkonu [24]. Opatentowano również stosowanie kwasu fosforowego(V) [25] lub jego estrów i amidów, np. Bu_3PO_4 [26] i $PO[N(C_nH_{2n+1})_2]_3$ ($n = 1-10$) [27]. Addycję kwasów karboksylowych do oksiranów można prowadzić w obecności karboksylanów Li, Na i K [28–31]. W ich obecności, oprócz głównego produktu addycji, otrzymuje się znaczne ilości diestru i poliestru.

W latach 70. i 80. w literaturze patentowej pojawiły się informacje na temat wykorzystania w syntezie estrów hydroksyalkilowych soli trójwartościowego żelaza [32–38]. Katalizatory te mogą być stosowane z dodatkiem promotorów: związków chromu(III i VI), miedzi(II), rtęci(II), wolnego jodu, a także amin III-rzędowych [39, 40]. Związki żelaza(III) charakteryzuje wy-

soka aktywność katalityczna. Do ich wad zaliczyć należy możliwość równoczesnej katalizy reakcji transestryfikacji.

W przeciwieństwie do związków żelaza(III), związki chromu(III) nie katalizują transestryfikacji produktu głównego [32, 41–52]. Zalecaną solą chromu jest salicylan. Oprócz salicylanu w literaturze patentowej wymieniane są sole chromu(III) z innymi aromatycznymi kwasami karboksylowymi, kwasami tłuszczowymi, zawierającymi do 36 atomów węgla w cząsteczce, lub dimeryzowanymi kwasami tłuszczowymi [49]. Szczególnie interesującymi katalizatorami są kompleksy Wernera, w których kwasy tłuszczowe lub cykliczne kwasy karboksylowe o 6–22 atomach węgla w cząsteczce są koordynowane przez kation chromu. Kompleksy tego typu produkowane są przez firmę Du Pont pod nazwą Quilon.

Oprócz katalizatorów homogenicznych w syntezie estrów hydroksyalkilowych zastosowanie znalazły także zasadowe żywice jonowymienne, których podstawową zaletą jest to, że dają się łatwo usunąć z mieszaniny poreakcyjnej [8, 32, 53–60]. Praktyczne zastosowanie znalazły żywice, zawierające co najmniej jedną grupę hydroksylową, o wzorze:



gdzie: X – jon jednowartościowy, oraz wiele mono- i dwufunkcyjnych żywic, zawierających pierścienie pirydynowe. Wykazano, że aktywność jonitów zależy od stopnia pęcznienia w roztworze reakcyjnym oraz od ich wilgotności.

Otrzymane w obecności jonitów estry hydroksyalkilowe charakteryzują się bardzo dobrą jakością. Do wad tych katalizatorów należy mała wytrzymałość mechaniczna, utrata aktywności katalitycznej w wysokich temperaturach, wysoka cena, a także możliwość katalizowania hydratacji epoksydów.

W ostatnich latach w literaturze pojawiły się informacje na temat immobilizowanych katalizatorów żelazowych i chromowych [61–63]. Jako nośniki wykorzystywane są usieciowane kopolimery 4-winylopirydyny z oksiranem. Katalizatory tego typu charakteryzuje wysoka aktywność katalityczna, typowa dla związków chromu i żelaza, oraz łatwość usuwania z mieszaniny poreakcyjnej, przez co nie zanieczyszczają one otrzymanych estrów hydroksyalkilowych.

REGIOSELEKTYWNOŚĆ REAKCJI ADDYCJI KWASÓW KARBOKSYLOWYCH DO OKSIRANÓW

Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że na selektywność otwarcia pierścienia epoksydowego (regioselektywność) wpływa zarówno rodzaj substratów, jak i użytego katalizatora, a także temperatura reakcji. Lebedev

i in. [4], badając wpływ charakteru kwasowego różnych reagentów (alkoholi, fenoli, kwasów karboksylowych) na skład mieszaniny poreakcyjnej, stwierdzili, że w reakcji metylooksiranu (tzw. tlenku propylenu) z alkoholami w obecności mocnych kwasów (HClO_4 , BF_3 , kwas *p*-toluenosulfonowy) tworzy się po ok. 50% obu izomerów, natomiast w obecności alkoholanów metali alkalicznych powstaje ok. 95–98% produktu addycji normalnej. W przypadku reakcji z fenolami w obecności fenolanów, udział *n*-ABH wynosi 100% [64]. Dla niekatalizowanej reakcji metylooksiranu z kwasem octowym udział *n*-ABH wynosi 68,5%, zaś przy katalizie octanem sodu zwiększa się do 74%.

Badania reakcji metylooksiranu z różnymi kwasami karboksylowymi wykazały, że ilość produktu przyłączenia anomalnego wyraźnie rośnie ze wzrostem mocy kwasu oraz nieznacznie ze wzrostem temperatury procesu [65–69]. Podobne zjawisko zaobserwowano dla reakcji z udziałem (chlorometylo)oksiranu [7, 70, 71]. Shologon i in. [71], badając addycję podstawionych pochodnych kwasu benzoowego do (chlorometylo)oksiranu bez udziału katalizatora, zaobserwowali zwiększenie udziału *a*-ABH ze wzrostem mocy kwasu od 14,9% dla kwasu benzoowego do 29,2% dla kwasu 3,5-dinitrobenzoowego. Zależności takiej nie obserwowano w obecności chlorku tetrametyloamoniowego – udział *a*-ABH dla obu kwasów wynosił wówczas ok. 20%.

Bardzo istotny wpływ na selektywność otwarcia pierścienia oksiranowego wywiera rodzaj użytego katalizatora. Według danych literaturowych najniższą regioselektywność obserwuje się dla reakcji katalizowanych mocnymi kwasami, zarówno protonowymi, jak i aprotonowymi [4]. Powodują one bowiem tak silną aktywację pierścienia epoksydowego, że prawdopodobieństwo tworzenia obu izomerycznych estrów staje się praktycznie jednakowe.

Selektywniejszymi katalizatorami rozpatrywanej reakcji są związki o charakterze zasadowym (np. aminy, sole amoniowe, sole alkaliczne kwasów karboksylowych) [7, 28, 70]. Sorokin i wsp. [70], badając reakcję kwasów karboksylowych z (chlorometylo)oksiranem w obecności NaOH , Na_2HPO_4 , III-rzędowych amin i IV-rzędowych soli amoniowych, stwierdzili, że w zależności od użytego katalizatora udział *a*-ABH wynosił od 15,1% do 21,9%.

Wpływ rodzaju katalizatora na selektywność otwarcia pierścienia epoksydowego obserwowano również dla reakcji kwasu octowego z (chlorometylo)oksiranem w obecności octanów Li , Na i K [28]. Stwierdzono, że ilość *a*-ABH zależy nieznacznie od rodzaju kationu soli i wynosi od 16% dla CH_3COOK do 21% dla CH_3COONa . Zastąpienie jonu metalu alkalicznego w octanie kationem chromu(III) zmniejsza udział *a*-ABH do ok. 8% [72]. Dla kwasu akrylowego i metakrylowego udział ten jest jeszcze mniejszy i wynosi odpowiednio 4,5 i 7,5% [73].

Do najselektywniejszych katalizatorów addycji kwasów karboksylowych do oksiranów, prócz związków chromu(III), należą silnie zasadowe żywice jonowymiennie w formie OH^- , AcO^- i Cl^- [53–60]. W ich obecności ilość tworzącego się izomeru anomalnego nie przekracza kilku procent. Innym

istotnym czynnikiem wpływającym na regioselektywność otwarcia pierścienia jest struktura oksiranu [74, 75]. Klebanov i wsp., badając produkty reakcji kwasu benzoesowego z eterem fenyloво-glicydyłowym i benzoesanem glicydyłu [75], stwierdzili, że dla benzoesanu glicydyłu obserwuje się tworzenie głównie *a*-ABH, który po zakończeniu addycji wolno izomeryzuje w produkt addycji normalnej. Dla eteru fenyloво-glicydyłowego addycja przebiega natomiast głównie w kierunku wytworzenia *n*-ABH. Kierunek otwarcia pierścienia epoksydowego w reakcji fenylooksiranu z kwasem octowym i benzoesowym był przedmiotem prac [74, 76, 77]. Hocking [74] wykazał, że *a*-ABH tworzy się w 100% w przypadku reakcji z kwasem octowym oraz tylko w 20% w reakcji z kwasem benzoesowym.

KINETYKA I MECHANIZM REAKCJI KWAŚÓW KARBOKSYŁOWYCH Z OKSIRANAMI

Pierwsze informacje na temat mechanizmu reakcji związków epoksydowych z kwasami karboksylowymi pojawiły się w literaturze w 1954 r. Hickinbotton i Hogg [78], badali skład mieszaniny reakcyjnej 2,3-epoksy-2,3-dimetylobutanu, 1,2-epoksy-1-fenylotanu, 1,2-epoksyoktanu z kwasami mrówkowym, octowym i trichlorooctowym, w niewodnych rozpuszczalnikach, bez udziału katalizatora.

Kinetykę reakcji kwasu octowego z oksiranem w obecności octanów Li, Na, K i NH₄ badali szczegółowo Guskov i Lebedev [2, 3, 79–83]. Wykazali oni, że proces składa się z dwóch równoległych reakcji: autokatalitycznej (z udziałem niezdysojowanego kwasu) – pierwszego rzędu względem oksiranu i drugiego względem kwasu – oraz katalitycznej (z udziałem soli) – pierwszego rzędu względem oksiranu, kwasu i katalizatora:

$$-\frac{dC_{AH}}{dt} = (k_0 C_{AH} + k_{CH_3COOM} C_{CH_3COOM}) C_{AH} C_B \quad (14)$$

gdzie: k_0 oznacza stałą szybkości reakcji niekatalitycznej, k_{CH_3COOM} – stałą szybkości reakcji katalizowanej octanem, C_{AH} , C_B i C_{CH_3COOM} – stężenia odpowiednio kwasu, oksiranu i octanu.

W rozpuszczalniku, w którym sól pozostaje praktycznie niezdysojowana, obserwuje się wzrost szybkości reakcji ze wzrostem rozmiaru kationu. Przy pełnej dysojacji soli natomiast szybkość addycji kwasu do oksiranu nie zależy od rodzaju kationu [2]. Reakcji głównej towarzyszy następcza addycja octanu 2-hydroksyetylu do oksiranu. Reakcja ta jest katalizowana alkoholanem tworzącym się w środowisku reakcyjnym [83]. Podobne zależności kinetyczne zaproponowano w pracy [84].

Reakcja kwasu octowego z metylooksiranem, bez udziału katalizatora oraz w obecności octanów Li, Na i K była tematem badań Szakacsza i in. [85]. Dla

niekatalitycznej reakcji obserwowali oni pierwszy rząd względem metyloksiranu oraz zmienny rząd, zależny od składu mieszaniny reakcyjnej, względem kwasu. Przy stosunku molowym kwasu octowego do metyloksiranu równym 1:1 rząd reakcji względem kwasu wynosił 2, zaś dla wyższych stężeń kwasu wzrastał do 2,6:

$$-\frac{dC_{AH}}{dt} = k \cdot C_{AH}^n \cdot C_B, \quad (15)$$

gdzie k oznacza efektywną stałą szybkości reakcji; pozostałe oznaczenia jak we wzorze (14). Ogólna szybkość reakcji zależała od rodzaju kationu i zwiększała się w szeregu: $Na < Li < K$.

Schmitt [86], badając reakcję kwasów mrówkowego i octowego z oksiranami, zaproponował model kinetyczny, uwzględniający tworzenie asocjatu kwasu karboksylowego ze związkami epoksydowymi, a także tworzenie dimeru kwasu:

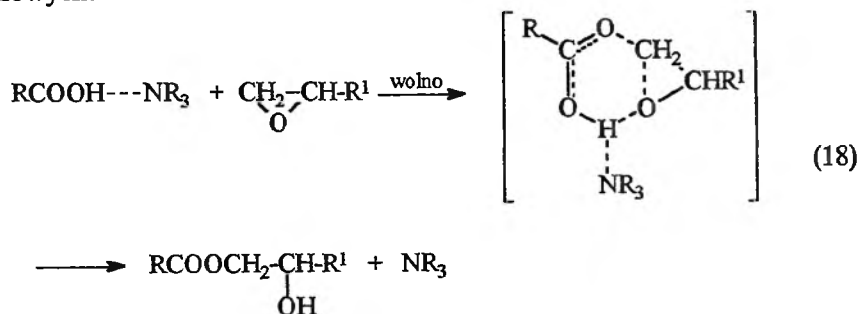
$$-\frac{dC_{AH}}{dt} = k_1 C_{B \cdots AH} + k_2 C_{B \cdots AH}^2, \quad (16)$$

gdzie k_1 oznacza stałą szybkości reakcji z udziałem asocjatu kwasu karboksylowego ze związkami epoksydowymi, k_2 — stałą szybkości reakcji z udziałem dimeru kwasu, a $C_{B \cdots AH}$ oznacza stężenie asocjatu kwasu karboksylowego ze związkami epoksydowymi.

Kinetyka reakcji oksiranów z kwasami karboksylowymi w obecności katalizatorów zasadowych była tematem prac Sorokina i in. [87, 88]. Dla reakcji katalizowanej aminami trzyczlennymi zaproponowano równanie kinetyczne zerowego rzędu względem kwasu i pierwszego względem oksiranu i katalizatora:

$$-\frac{dC_{AH}}{dt} = (k_0 C_{AH} + k_{NR_3} C_{NR_3}) C_B, \quad (17)$$

gdzie k_{NR_3} oznacza stałą szybkości reakcji katalizowanej aminą, C_{NR_3} — stężenie aminy; pozostałe oznaczenia jak we wzorze (14). Autorzy zaproponowali mechanizm, w którym reakcja przebiegała poprzez stadium cyklicznego kompleksu przejściowego, w którym następowało synchroniczne przeniesienie par elektronowych:



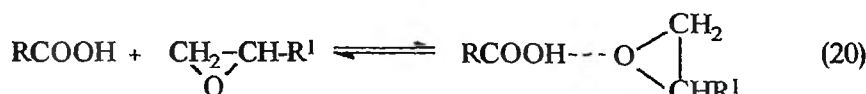
Kinetykę reakcji w obecności octanów metali alkalicznych opisali równaniem pierwszego rzędu względem katalizatora i obu substratów:

$$-\frac{dC_{AH}}{dt} = (k_0 + k_{CH_3COOM}C_{CH_3COOM})C_{AH}C_B \quad (19)$$

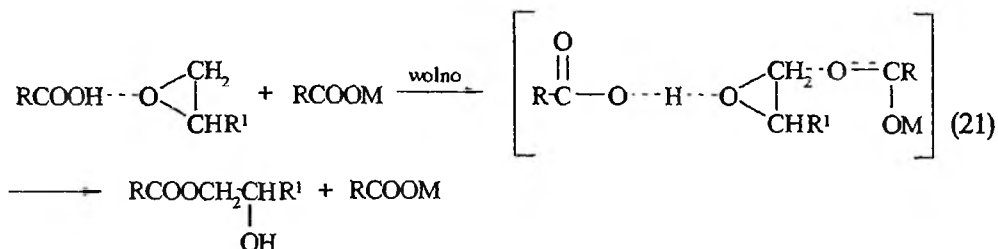
Znaczenie symboli jak we wzorze (14).

W mechanizmie reakcji wyodrębnili następujące etapy:

• tworzenie kompleksu z wiązaniem wodorowym pomiędzy kwasem karboksylowym a oksiranem

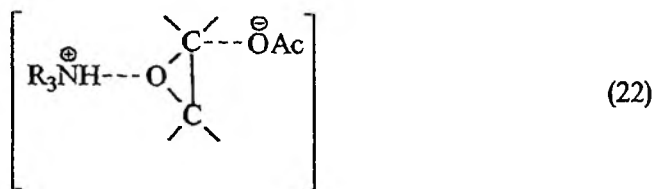


• atak soli kwasu karboksylowego na kompleks kwasu z oksiranem, z utworzeniem stadium liniowego, trójcząsteczkowego kompleksu przejściowego



Kinetyka reakcji kwasów karboksylowych z oksiranami w obecności trzeciorzędowych amin i innych katalizatorów była również tematem prac Shvetsa i in. [89–91]. W zależności od stosunku molowego kwas-oksiran lub kwas-katalizator, rząd reakcji względem kwasu zmieniał się od pierwszego do zerowego.

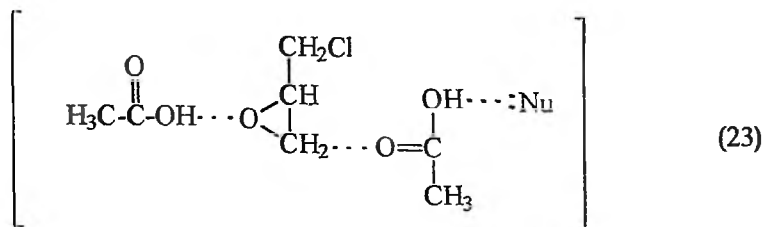
Proponowany przez autorów mechanizm reakcji zakładał tworzenie produktu poprzez trójcząsteczkowy stan przejściowy, z otwarciem pierścienia oksiranowego w pozycji *trans*:



i był sprzeczny z mechanizmem otwarcia *cis*-, zaproponowanym wcześniej przez Sorokina [87].

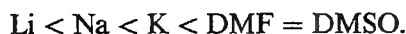
Kinetyka reakcji kwasów karboksylowych z oksiranem w obecności trzeciorzędowych amin była przedmiotem badań Mareša [92, 93], Malka [94] oraz Masljuka [95]. Do opisu przebiegu addycji autorzy zaproponowali równanie kinetyczne pierwszego rzędu względem oksiranu i katalizatora oraz pseudozerowego rzędu względem kwasu. W kilku pracach, dotyczących

kinetyki reakcji kwasów karboksylowych z oksiranami w obecności rozpuszczalników aprotonowych, takich jak N,N-dimetyloformamid i sulfotlenek dimetylu [96–99], do opisu szybkości reakcji zaproponowano równanie kinetyczne, zakładające autokatalityczny wpływ substratu – kwasu karboksylowego i produktu – estru hydroksyalkilowego. Mechanizm reakcji obejmował tworzenie czterocząsteczkowego stanu przejściowego z udziałem rozpuszczalnika:



gdzie: Nu: DMF, DMSO.

W pracy [28] opisano badania reakcji kwasu octowego z (chlorometylo)oksyranem w obecności octanów metali alkalicznych. Zaobserwowano, że mieszanina poreakcyjna zawiera, oprócz octanu 3-chloro-2-hydroksypropylu i octanu 1-(chlorometylo)-2-hydroksyetylu, także octan glicydydu, 1,3-dichloropropan-2-ol oraz inne produkty reakcji następczo-równoległych. Zaproponowano złożony układ sześciu równań różniczkowych opisujących kinetykę procesu. Podobnie interpretowano przebieg reakcji kwasu octowego z (chlorometylo)oksyranem w obecności DMF i DMSO [100]. Przyjęto, że w układzie reakcyjnym powstają sole typu amoniowego (dla DMF) lub sulfoniowego (dla DMSO) będące, według autorów, rzeczywistym katalizatorem rozpatrywanej reakcji. Zaproponowano jednolity mechanizm reakcji, z trójcząsteczkowym stanem przejściowym, według którego aktywacja pierścienia oksiranowego odbywa się poprzez tworzenie wiązania wodorowego między cząsteczką kwasu karboksylowego a cząsteczką oksiranu. Wspólne cechy mechanizmu przejawiały się jednakowym charakterem zależności stałych szybkości reakcji addycji od wielkości jonu związanego z anionem octanowym. Wartość stałej wzrastała zgodnie z relacją

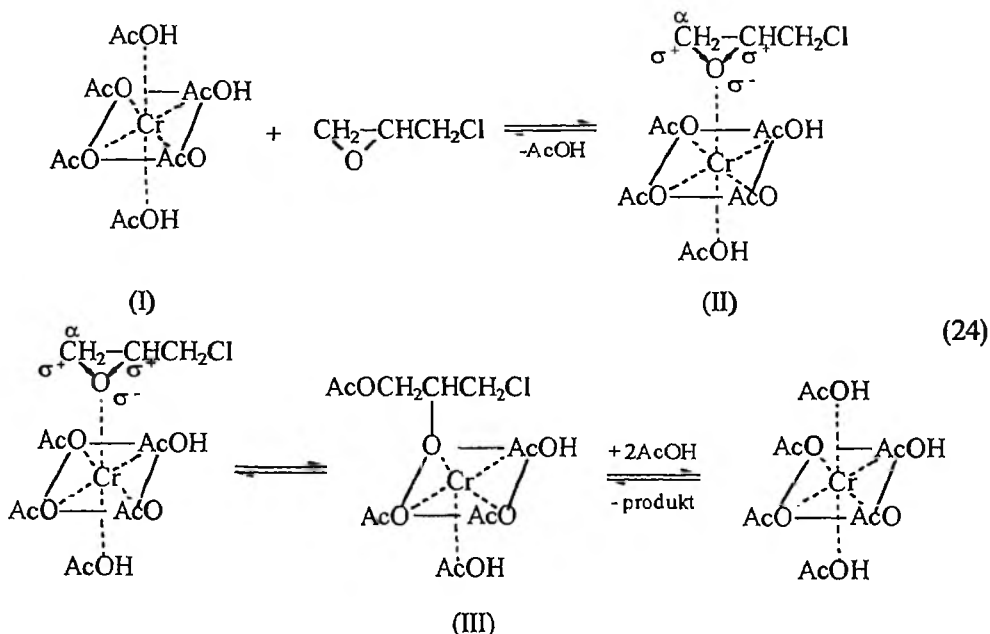


Fakt, że niektóre rozpuszczalniki aprotonowe mogą reagować z oksiranami, tworząc aktywną katalitycznie czwartorzędową sól amoniową kwasu karboksylowego, stwierdzono również w pracy [101].

Przy zastosowaniu jako katalizatorów addycji związków chromu(III) lub żelaza(III) zgodnie stwierdzono występowanie cząstkowych rzędów reakcji: pierwszego względem katalizatora oraz oksiranu i zerowego względem kwasu [32, 41, 42, 102, 103]. Różnica zdań pomiędzy autorami dotyczyła mechanizmu reakcji. W pracy [102] założono tworzenie, w pierwszym stadium reakcji, kompleksu między cząsteczkami katalizatora i kwasu, który następnie reagował

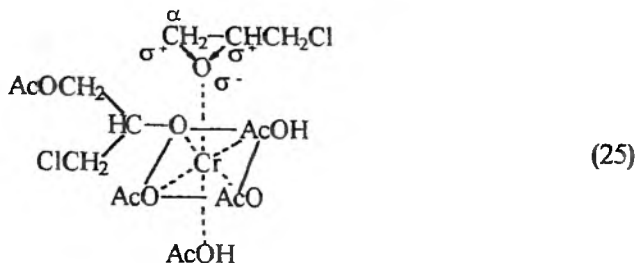
z cząsteczką oksiranu do hydroksyestru. Salahetdinova i wsp. [42] przyjęli natomiast, że w pierwszym etapie reakcji następowała aktywacja pierścienia oksiranowego wskutek utworzenia kompleksu między katalizatorem i związkiem epoksydowym. Utworzony kompleks reagował następnie z kwasem karboksylowym, tworząc hydroksyester. Dla weryfikacji założonego mechanizmu dokonano porównania widm UV-VIS roztworów soli chromu(III) w kwasie metakrylowym, metyloksiranie, metakrylanie hydroksyetylu, alkoholu etylowym, eterze dimetylowym glikolu dietylenowego oraz w ich mieszaninach.

Badania reakcji kwasu octowego z (chlorometylo)oksiranem w obecności octanu chromu(III) i tlenku chromu(IV) przeprowadzone w pracy [72] potwierdziły niezależność szybkości reakcji od stężenia kwasu oraz pierwszy rząd reakcji względem katalizatora i (chlorometylo)oksiranu. Proponowany w pracy mechanizm addycji zakładał występowanie jonów chromu(III) w postaci oktaedrycznego kompleksu, który dzięki wymianie ligandów silnie aktywował cząsteczkę (chlorometylo)oksiranu, umożliwiając atak jonu karboksylanowego na mniej podstawiony atom węgla pierścienia epoksydowego (atom α). Wytworzony kompleks następnie szybko rozkładał się pod wpływem nowej cząsteczki kwasu, z utworzeniem karboksylanu 3-chloro-2-hydroksypropylu i od utworzeniem wyjściowego kompleksu.



Mechanizm ten wyjaśnia wysoką selektywność i regioselektywność addycji kwasu octowego do (chlorometylo)oksiranu w obecności jonów chromu(III). Różnica kwasowości grup hydroksylowych substratu i tworzącego się w procesie hydroksyestru jest tak duża, że dopóki w mieszaninie reakcyjnej występuje kwas octowy, kompleks (III) rozpada się, przede wszystkim, w kierunku

tworzenia produktu. Mniej prawdopodobne jest tworzenie kompleksu umożliwiającego następczą addycję estru hydroksyalkilowego do (chlorometylo)-oksiiranu:



Wpływ struktury reagentów, katalizatora, środowiska reakcji (rodzaju użytego rozpuszczalnika) itp. na względną szybkość addycji kwasu karboksylowego do oksiranu był przedmiotem wielu analiz kinetycznych. Reaktywność alifatycznych i aromatycznych kwasów karboksylowych podczas ich przyłączenia do oksiranu w nitrobenzenie, w obecności odpowiednich karboksylanów potasu, była badana przez Lebedeva i wsp. [79, 82]. Zauważyli oni wyraźny wzrost stałych szybkości reakcji ze wzrostem mocy kwasu. Zaobserwowano oddzielne zależności brönstedowskie dla alifatycznych i aromatycznych kwasów karboksylowych. Podobne korelacje obserwowali Málek i Šilhavý [94], dla reakcji oksiranu z aromatycznymi kwasami karboksylowymi w rozpuszczalnikach protonowych i aprotonowych w obecności pirydyny. Względny przyrost szybkości reakcji ze wzrostem mocy kwasu był większy w rozpuszczalniku aprotonowym – nitrobenzenie – niż w rozpuszczalniku protonowym – butan-1-olu, mimo że szybkość odpowiednich reakcji była większa w przypadku użycia rozpuszczalnika protonowego. Podobną zależność stwierdzono w pracy [92].

Wpływ rodzaju kwasu karboksylowego na szybkość reakcji z metyloksiraniem w obecności CH_3COOK obserwowali Chlebicki i Zwiefka [104, 105]. W reakcji alifatycznych i aromatycznych eterów monoglicydylowych z kwasem kapronowym i kaprynowym w obecności NaOH wartości stałych szybkości nieznacznie wzrastały ze wzrostem akceptorowego charakteru podstawnika w oksiranie [87]. Przeciwny wpływ donorowo-akceptorowego charakteru podstawnika obserwowano dla podstawionych glicydyloamin w reakcji z kwasami octowym, benzoesowym, 3,5-dinitrobenzoesowym i tetrahydrobenzoesowym w chlorobenzenie, w obecności benzylodietylaminy [75, 106]. Pierścień epoksydowy w glicydyloaminach charakteryzuje się wyjątkowo dużą reaktywnością. Przykładowo, N-etylo-N-glicydyloamina reaguje z kwasem benzoesowym w środowisku chlorobenzenu około 100-krotnie szybciej niż eter fenylo-glicydylowy [107].

Nieco mniejszą reaktywność od glicydyloamin, lecz również zdecydowanie większą od eterów glicydylowych, wykazują estry glicydylowe. Przykładowo, benzoesan glicydyłu reaguje z kwasami benzoesowym i heksanowym w środo-

wisku chlorobenzenu ok. 50–70 razy szybciej od eteru fenylowo-glicydylowego [75]. Szybkość reakcji rośnie ze wzrostem kwasowości kwasu. Dla estrów glicydylowych podstawionych kwasów benzoesowych stwierdza się, podobnie jak dla glicydyloamin, zwiększenie szybkości reakcji ze wzrostem donorowego charakteru podstawników.

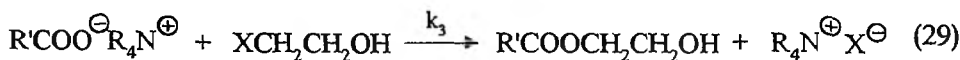
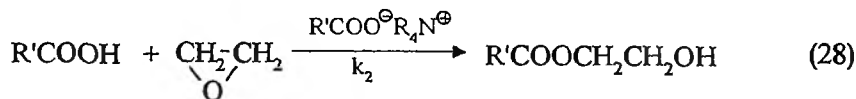
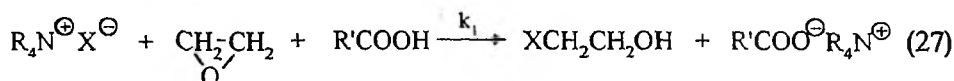
Badania reaktywności szeregu alicyklicznych związków epoksydowych o wzorze ogólnym [108]:



wykazały, że charakteryzuje je wyższa reaktywność w porównaniu ze związkami alifatycznymi. Reaktywność grupy epoksydowej zmniejsza się ze wzrostem akceptorowego charakteru podstawnika R.

Istotnym czynnikiem wpływającym na szybkość addycji kwasów karboksylowych do oksiranów jest struktura użytego katalizatora. Guskov i Lebedev [2], badając reakcję oksiranu z kwasem octowym w obecności octanów litu, sodu, potasu oraz tetraalkiloamoniowego zauważyli, że w warunkach bezwodnych szybkość reakcji zwiększa się ze wzrostem rozmiaru kationu. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu rodzaju anionu na szybkość reakcji katalizowanej różnymi solami potasu. Zależność stałej szybkości addycji kwasu do oksiranu w obecności octanów metali alkalicznych od rozmiaru kationu soli obserwowano również dla reakcji kwasu octowego z metyloksiranem [85] i (chlorometylo)oksiranem [28].

Badania kinetyki i mechanizmu reakcji oksiranu z kwasem tereftalowym w obecności halogenków tetraalkiloamoniowych wykazały, że w trakcie procesu obserwuje się przebieg następujących reakcji następczo-równoległych [91]:



Szybkość tworzenia nowej formy katalizatora (k_1) silnie rośnie ze wzrostem nukleofilowości anionu halogenku. Rodzaj użytego anionu nie wpływa na szybkość katalitycznej addycji do oksiranu (k_2). Obserwuje się natomiast wyraźny wzrost szybkości addycji ze wzrostem promienia kationu.

Na szybkość addycji kwasów karboksylowych do oksiranów, oprócz struktury substratów i katalizatora, istotny wpływ wywiera również środowisko reakcji – rodzaj użytego rozpuszczalnika lub użycie nadmiaru jednego z reagentów. Lebedev i wsp. [80] stwierdzili wyraźną zależność szybkości addycji kwasu chlorooctowego do oksiranu od polarności użytego rozpuszczalnika. Stwierdzono nietypowe zachowanie się dioksanu, w którym szybkość addycji była wyjątkowo mała. Fakt ten tłumaczono możliwością protonowania rozpuszczalnika kwasem karboksylowym.

Badania szybkości reakcji kwasu octowego z oksiraniem w obecności octanu sodu w temperaturze 90°C [80] wykazały silną zależność szybkości reakcji od stężenia wody. Okazało się, że ze wzrostem zawartości wody maleje szybkość reakcji katalizowanej octanem, rośnie natomiast wartość składowej niekatalitycznej (por. wzór (15)).

Wpływ środowiska na szybkość reakcji metylooksiranu z kwasem propionowym obserwowano w pracy [69]. Rozcieńczenie mieszaniny reakcyjnej benzenem prowadziło do zmniejszenia stałej szybkości reakcji. Niektóre rozpuszczalniki aprotonowe, takie jak N,N-dimetyloacetamid, heksametylofosforamid [101] oraz N,N-dimetyloformamid i sulfotlenek dimetylu [100], mogą reagować z oksiranami tworząc czwartorzędową sól amoniową kwasu karboksylowego, stanowiącą dodatkowy katalizator reakcji addycji. Zależność szybkości addycji kwasu do oksiranu od polarności rozpuszczalnika badali Dukh i wsp. [109].

WYBRANE ZASTOSOWANIA PRODUKTÓW REAKCJI KWASÓW KARBOKSYLOWYCH Z OKSIRANAMI

Względna obfitość prac poświęconych reakcji kwasów karboksylowych z oksiranami wynika między innymi z dużego znaczenia praktycznego uzyskiwanych produktów. Jednym z ważniejszych estrów hydroksyalkilowych jest tereftalan bis(2-hydroksyetylu) – surowiec do otrzymywania poli(tereftalanu glikolu etylenowego). Otrzymuje się go, między innymi, przez addycję kwasu tereftalowego do oksiranu. Produkt tej reakcji daje się dużo łatwiej oczyszczać niż wyjściowy kwas tereftalowy [110].

Wśród innych estrów hydroksyalkilowych duże znaczenie praktyczne mają estry kwasu akrylowego i metakrylowego [8]. Ich wielostronne zastosowanie wynika bezpośrednio z obecności w cząsteczce estru wiązania podwójnego zdolnego do homo- i kopolimeryzacji. Akrylany i metakrylany hydroksyalkilowe wykorzystuje się w różnych gałęziach przemysłu, a także do wyrobu materiałów medycznych. Obszerną dziedzinę zastosowań akrylanów hydroksyalkilowych stanowi produkcja powłok ochronnych dla metali, skóry, papieru i drewna. Estry glikolowe kwasu akrylowego wykorzystuje się do produkcji

niezapotliwych szyb do samolotów, samochodów i innych pojazdów. Polimetaakrylany hydroksyalkilowe wykorzystywane są w fotografii do otrzymywania materiałów światłoczułych oraz komponentów zmiękczających do emulsji fotograficznych. Akrylany hydroksyalkilowe znalazły również zastosowanie w farmacji. W reakcji metakrylanu hydroksyalkilowego z chlorkiem kwasu *p*-acetyloksycynamonowego otrzymano ester obniżający zawartość triglicerydów we krwi. W polimeryzacji metakrylanu glikolu etylenowego z niewielką ilością dimetakrylanu glikolu etylenowego w rozcieńczonych roztworach wodnych powstają hydrofilowe żele, stosowane do otrzymywania szkieł kontaktowych [8].

Duże znaczenie praktyczne mają również reakcje wyższych kwasów tłuszczowych oraz kwasów polikarboksylowych z (chlorometylo)oksiranem. Stwarzają one możliwość bezpośredniego lub pośredniego otrzymywania estrów glicydylowych [111, 112]. Związki tego typu znajdują zastosowanie, między innymi, jako samodzielne żywice epoksydowe lub jako rozcieńczalniki aktywne do dianowych żywic epoksydowych [113, 114].

Kwasy akrylowe i (chlorometylo)oksiran stanowią substraty do otrzymywania estrów glicydylowych kwasu akrylowego i metakrylowego, mających duże znaczenie praktyczne [111]. Zdolność do poli- i kopolimeryzacji rodnikowej i jonowej stwarza możliwości stosowania tych monomerów w przemyśle tworzyw sztucznych do modyfikacji i ulepszania właściwości fizycznych i chemicznych związków wielkocząsteczkowych. Związki te wchodzi w skład kompozycji stosowanych między innymi do produkcji klejów, wyrobów lakierowniczych, kauczuków akrylowych. Znalazły również zastosowanie w medycynie, biochemii, a także w chemii analitycznej (sorbenty). Ich kopolimery wykorzystywane są do immobilizacji enzymów, do przygotowania cementów, podkładów dentystycznych oraz jako pokrycia emalii nazębnych, do otrzymania lekkich, ale twardych ortopedycznych opatrunków, materiałów protetycznych, szkieł kontaktowych itd. [111].

Osobną grupę stanowią produkty następczo-równoległych reakcji wyższych kwasów tłuszczowych z oksiranem lub metylooksiranem [31, 104, 115–119]. Prace podstawowe poświęcone tym reakcjom przyczyniły się do wdrożenia technologii produkcji polieteroli z grupą estrową w skali przemysłowej. Polieterole, o których mowa, to niejonowe związki powierzchniowo czynne [120, 121], wykorzystywane jako komponenty w środkach piorących, do mycia i obróbki wełny, jako komponenty preparatów kosmetycznych lub w przemyśle skórzanym.

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW I OZNACZEŃ

- n-ABH – produkt przyłączenia normalnego kwasu karboksylowego do oksiranu,
- m-ABH – produkt przyłączenia anomalnego kwasu karboksylowego do oksiranu,
- DMF – N,N-dimetyloformamid,
- DMSO – sulfotlenek dimetylu.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. M. Paken, *Epoksidnye soedineniya i epoksidnye smoly*, Goskhimzdat, Leningrad, 1962.
- [2] K. A. Guskov, N. N. Lebedev, *Trudy MChTI*, 1963, 42, 65.
- [3] N. N. Lebedev, K. A. Guskov, *ibid.*, 1963, 4(1), 581.
- [4] N. N. Lebedev, E. V. Sokolova, O. A. Tjukova, V. F. Shvets, *Zh. Org. Khim.*, 1965, 5, 608.
- [5] R. E. Parker, N. S. Isaacs, *Chem. Rev.*, 1959, 59, 737.
- [6] A. K. Guskov, R. A. Kozlovskij, M. G. Makarov, S. V. Perevertajlov, V. F. Shvets, *Kin. Katal.*, 1996 – praca w druku.
- [7] M. F. Sorokin, L. G. Shode, A. I. Kuzmin, N. A. Novikov, V. A. Pekarskij, L. A. Dobrovinski, M. G. Brusilovskij, R. K. Sidorova, S. V. Vladimir, *Lakokras. Mater. i ikh Prim.*, 1983, 4, 4.
- [8] Praca zbiorowa, *Oksialkilovyje efiry akrilowych kislot*. Prace Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Techniko-Ekonomicheskikh Issledovanij, Moskva, 1977.
- [9] Patent U.S.A. 2484487 (1949).
- [10] Patent U.S.A. 3397227 (1968).
- [11] Patent japoński 6902685 (1969).
- [12] Patent holenderski 6611627 (1967).
- [13] Patent angielski 1096035 (1967).
- [14] Patent francuski 1385659 (1965).
- [15] Patent niemiecki (RFN) 211003 (1972).
- [16] Patent japoński 7311083 (1973).
- [17] Patent U.S.A. 3441598 (1970).
- [18] Patent niemiecki (RFN) 1443633 (1970).
- [19] Patent ZSRR 123697 (1959).
- [20] Patent U.S.A. 3174995 (1965).
- [21] Patent japoński 7201608 (1972).
- [22] Patent japoński 8187537 (1981).
- [23] Patent U.S.A. 4223160 (1980).
- [24] Patent japoński 6902686 (1969).
- [25] Patent japoński 7674704 (1976).
- [26] Patent japoński 62132842 (1987).
- [27] Patent japoński 79132517 (1979).
- [28] A. Bukowska, A. K. Guskov, M. G. Makarov, E. Rokaszewski, V. F. Shvets, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 1995, 63, 374.
- [29] Patent U.S.A. 3214988 (1967).
- [30] Patent francuski 1556337 (1969).
- [31] J. Chlebicki, A. Zwiefka, *Tenside Surf. Det.*, 1990, 27(4), 266.
- [32] E. G. Stepanov, M. N. Belostockaya, V. A. Podgornova, V. F. Ustavchikov, *Osnov. Org. Sintez Neftekh.*, 1974, 1, 77.
- [33] Patent belgijski 620063 (1962).
- [34] Patent czosłowski 186589 (1978).
- [35] Patent belgijski 669781 (1966).
- [36] Patent japoński 58140043 (1983).
- [37] Patent U.S.A. 3708524 (1973).
- [38] Patent czosłowski 181443 (1980).
- [39] Patent U.S.A. 3441599 (1969).
- [40] Patent niemiecki (RFN) 1443633 (1976).
- [41] T. V. Morozova, V. A. Selyakova, A. P. Sineokov, *Osnov. Org. Sintez Neftekh.*, 1977, 8, 45.

- [42] Z. S. Salakhmetdinova, E. G. Pomerantseva, G. V. Tsyapkina, A. A. Gololovova, A. P. Sineokov, *Fiz-khim. Osnovy Sinteza i Pererabotka Polimerov*, 1978, 4, 87.
- [43] Patent niemiecki (RFN) 1568838 (1978).
- [44] Patent rumuński 84272 (1984).
- [45] Patent japoński 79100307 (1979).
- [46] Patent niemiecki (RFN) 1911447 (1983).
- [47] Patent europejski 1904 (1979).
- [48] Patent japoński 7608215 (1976).
- [49] Patent U.S.A. 3875211 (1975).
- [50] Patent ZSRR 505627 (1976).
- [51] Patent czeskosłowacki 194148 (1982).
- [52] C. Becus, D. Sandru, S. Serban, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 1986, 37(8), 670.
- [53] P. S. Belov, K. P. Korenev, N. S. Baraj, *Izvestia VUZ-ov. Khimia i Khim. Technol.*, 1984, 27(1), 31.
- [54] V. A. Podgornova, N. F. Orekhova, B. F. Ustavchikov, V. D. Korylova, V. B. Kargman, N. B. Galickaya, *Osnov. Org. Sintez Neftekh.*, 1975, 2, 89.
- [55] V. A. Podgornova, N. A. Shpekht, E. V. Vokhmyanina, V. B. Kargman, B. F. Ustavchikov, *ibid.*, 1976, 6, 111.
- [56] V. A. Podgornova, N. A. Shpekht, E. V. Vokhmyanina, B. F. Ustavchikov, V. B. Kargman, N. B. Galickaya, *Zh. Prikl. Khim.*, 1977, 50(4), 878.
- [57] E. Dumitriu, S. Oprea, M. Dima, S. Avramescu, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 1981, 32(3), 225.
- [58] S. Oprea, E. Dumitriu, L. Stefanel, *Rev. Roum. Chim.*, 1980, 25(7), 1039.
- [59] P. S. Belov, N. S. Baraj, K. P. Korenev, *Izvestia VUZ-ov. Khimia i Khim. Technol.*, 1983, 26(6), 668.
- [60] S. Oprea, E. Dumitriu, T. Hulea, V. Hulea, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 1985, 94(1), 7.
- [61] P. Ivanova, A. Eliyas, L. Petrov, C. Tsvetanov, *Appl. Catal.*, 1989, 53, 41.
- [62] R. Stamenova, P. T. Ivanova, R. Boeva, C. Tsvetanov, *Reactive Polymers*, 1988, 9, 91.
- [63] R. Stamenova, P. T. Ivanova, Z. Peltzbauer, H. B. Tsvetanov, *Vysokomol. Soed.*, 1992, 34(2), 71-78.
- [64] J. Chlebicki, *Polish J. Chem.*, 1982, 56, 983.
- [65] N. S. Isaacs, K. Neelakantan, *Can. J. Chem.*, 1968, 46(7), 1043.
- [66] G. Lamaty, R. Malog, C. Selve, A. Sivade, J. Wylde, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1975, 1119.
- [67] E. C. Leonard, *Vinyl and diene monomers*, Part I, Wiley, New York 1970.
- [68] H. Kakiuchi, T. Lijima, *Tetrahedron*, 1980, 36, 1011.
- [69] V. N. Sarantcha, O. Ya. Guzetchak, I. M. Romanjuk, L. A. Ilnickaya, S. M. Pri-syazniuk, *Zh. Prikl. Khim.*, 1987, 3, 566.
- [70] M. F. Sorokin, L. G. Shode, A. I. Kuzmin, N. A. Novikov, *Izvestia VUZ-ov. Khimia i Khim. Technol.*, 1984, 27(6), 658.
- [71] I. M. Shologon, M. S. Klebanov, V. A. Aldovin, O. N. Karpov, *Kin. Katal.*, 1985, 26(5), 1059.
- [72] A. Bukowska, W. Bukowski, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1996, 67, 176.
- [73] A. Bukowska, W. Bukowski, praca nie opublikowana.
- [74] M. B. Hocking, *Can. J. Chem.*, 1974, 52, 2730.
- [75] M. S. Klebanov, F. Yu. Kiriazev, A. Yu. Tchervinskij, I. M. Shologon, *Zh. Org. Khim.*, 1984, 20(11), 2407.
- [76] G. Berti, F. Bottari, B. Macchie, *Ann. Chim. (Rome)*, 1962, 52(11), 1101.
- [77] T. Cohen, M. Dughi, A. V. Notaro, G. Pinkus, *J. Org. Chem.*, 1961, 27, 814.
- [78] W. J. Hickinbotton, D. R. Hogg, *J. Chem. Soc.*, 1954, 4200.

- [79] K. A. Guskov, N. N. Lebedev, Trudy MChTI, 1963, 42, 57.
- [80] N. N. Lebedev, K. A. Guskov, Kin. Katal., 1963, 4(1), 116.
- [81] N. N. Lebedev, K. A. Guskov, *ibid.*, 1964, 5(5), 446.
- [82] N. N. Lebedev, K. A. Guskov, *ibid.*, 1964, 5(5), 787.
- [83] N. N. Lebedev, K. A. Guskov, *ibid.*, 1963, 4(4), 581.
- [84] G. J. Stockburger, J. D. Braudner, J. Am. Oil Chem. Soc., 1966, 43, 6.
- [85] S. Szakacs, S. Gobolos, F. Nagy, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 1983, 4, 417.
- [86] W. Schmitt, Z. Phys. Chem., 1968, 59, 217.
- [87] M. F. Sorokin, E. L. Gershanova, Kin. Katal., 1967, 7(3), 512.
- [88] M. F. Sorokin, Tchan Vin Zieu, Trudy MChTI, 1969, 61, 81.
- [89] V. F. Shvets, O. A. Tjukova, Zh. Org. Khim., 1971, 7(9), 1847.
- [90] V. F. Shvets, N. N. Lebedev, O. A. Tjukova, *ibid.*, 1971, 7(9), 1851.
- [91] V. F. Shvets, A. V. Romashkin, V. V. Yudina, Kin. Katal., 1973, 14(4), 928.
- [92] F. Mareš, J. Hetflejš, V. Bažant, Coll. Czech. Chem. Commun., 1969, 34, 3086.
- [93] F. Mareš, J. Hetflejš, V. Bažant, *ibid.*, 1969, 34, 3098.
- [94] J. Málek, P. Šilhavy, *ibid.*, 1976, 41, 84.
- [95] A. F. Masljuk, G. K. Bereznickij, Ukr. Khim. Zh., 1984, 50(1), 92.
- [96] E. Rokaszewski, Roczniki Chem., 1978, 52, 1487.
- [97] E. Rokaszewski, *ibid.*, 1979, 53, 1303.
- [98] E. Rokaszewski, J. Rut, *ibid.*, 1981, 55, 1595.
- [99] E. Dumitriu, S. Oprea, Rev. Roum. Chim., 1983, 28(5), 535.
- [100] A. Bukowska, A. K. Guskov, M. G. Makarov, E. Rokaszewski, V. F. Shvets, J. Chem. Tech. Biotechnol. 1995, 63, 379.
- [101] M. S. Klebanov, Zh. Obshch. Khim., 1986, 56(7), 1596.
- [102] E. G. Stepanov, V. A. Podgornova, I. I. Ivanova, V. F. Ustavchikov, Osnov. Org. Sintez Neftekh. 1974, 1, 62.
- [103] I. A. Ivkina, V. A. Trofimov, P. S. Belov, Zh. Prikl. Khim., 1974, 9, 2135.
- [104] J. Chlebicki, A. Zwiefka, Tenside Surf. Det., 1985, 22(3), 117.
- [105] J. Chlebicki, A. Zwiefka, *ibid.*, 1985, 22(3), 120.
- [106] M. S. Klebanov, F. Yu. Kiriazev, O. N. Karpov, Kin. Katal., 1987, 28(6), 1493.
- [107] M. S. Klebanov, F. Yu. Kiriazev, I. M. Shologon, *ibid.*, 1984, 25, 1004.
- [108] A. E. Batog, O. P. Stenko, L. P. Nikonova, Zh. Org. Khim., 1980, 16(6), 1126.
- [109] O. I. Dukh, V. V. Simonenko, Yu. G. Medvedevskikh, M. N. Bratytchak, Ukr. Khim. Zh., 1993, 59(10), 96.
- [110] K. Weissermel, H. J. Arpe, *Industrial organic chemistry*, VCH, Weinheim, 1993.
- [111] M. A. Korshunov, V. S. Mihlin, S. V. Marusina, O. B. Potopchina, *Sintez i primenienie glicidilmetakrylata*, CN-IIIT-EINiNP, Moskva, 1979.
- [112] L. G. Shode, M. F. Sorokin, A. I. Kuzmin, Lakokras. Mater. i ikh Prim., 1982, 4, 20.
- [113] Z. Brojer, Z. Hertz, P. Penczek, *Żywice epoksydowe*, PWN, Warszawa, 1982.
- [114] *Chemistry and Technology of Epoxy Resin*, B. Ellis (red.), Chapman & Hall London, 1993.
- [115] M. Bareš, J. Coupek, S. Pokorný, J. Hanzalová, J. Zajic, Tenside Deterg., 1975, 12(3), 155.
- [116] M. Bareš, M. Bleha, B. Jeneralová, J. Zajic, J. Coupek, *ibid.*, 1975, 12(3), 162.
- [117] M. Bleha, M. Bareš, E. Votarová, J. Zajic, J. Coupek, *ibid.*, 1977, 14(3), 123.
- [118] M. Bareš, M. Bleha, M. Navratil, E. Votarová, J. Zajic, *ibid.*, 1979, 16(2), 74.
- [119] M. Bareš, M. Bleha, E. Votarová, J. Marek, E. Vacková, J. Zajic, *ibid.*, 1979, 16(6), 308.
- [120] M. J. Schick, *Nonionic Surfactants*, M. Dekker, New York, 1967.
- [121] N. N. Lebedev, *Khimia i technologija osnovnogo organicheskogo i neftechimicheskogo sinteza*, Khimia, Moskva, 1988.

FELIETON NAUKOWY

GRANICE POZNANIA W OCZACH CHEMIKA*

Lucjan Sobczyk

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

Żeby przybliżyć Państwu wyobrażenie świata zewnętrznego przez chemika, warto chyba wpierv zdać sobie sprawę, czym jest chemia jako dyscyplina naukowa w chwili obecnej. Przede wszystkim trzeba powiedzieć, że daleko odbiega od potocznego wyobrażenia chemii i chemika, który coś miesza i czasami otrzymuje coś nowego i pożytecznego. To prawda, że w metodologii chemii głównie opieramy się na syntezie i analizie w skali atomowej, ale współczesne laboratorium chemiczne mało przypomina takie, z jakimi stykaliśmy się przed kilkoma dziesiątkami lat, kiedy studiowało moje pokolenie. Współczesne laboratorium chemiczne, aby sprostać wymogom nauki, wyposażone być musi w potężne zaplecze aparatury fizycznej oraz nowoczesne metody obliczeń komputerowych. Rozwinęły się zarówno techniki syntezy, jak i metody analizy oparte na zjawiskach fizycznych. W tym sensie chemia staje się w coraz większym stopniu częścią fizyki. Posłużmy się przykładami. I tak już podczas syntezy poszukujemy coraz bardziej wydajnych, specyficznych warunków przez stosowanie wysokich ciśnień lub odwrotnie – stanów dużego rozrzedzenia, wysokich lub niskich temperatur, napromieniowywania. Stosowana jest czasami automatyzacja syntezy. Klasycznym przykładem są tu syntetyzery polipeptydów, gdzie następuje uporządkowane łączenie się aminokwasów, podstawowych cegiełek budowy białek. Syntetyzery peptydów są w pełni zautomatyzowane, sterowane komputerem. Pozwalają otrzymywać na nośnikach dziesiątki miligramów peptydów zawierających kilkadziesiąt ściśle uporządkowanych aminokwasów. Z drugiej strony, w coraz większym stopniu wykorzystuje się w syntezie tzw. biotechnologię, która – najogólniej mówiąc – polega na

* Wykład inauguracyjny na Uniwersytecie Wrocławskim 1 X 1996 r.

wykorzystaniu procesów biochemicznych z udziałem organizmów żywych i preparatów enzymopodobnych. Biokatalizatory są ważnym czynnikiem w przeprowadzaniu wysoce specyficznych i wysoce wydajnych reakcji.

Prowadzone syntezy wymagają skutecznych metod rozdzielania i oczyszczania substancji. Zaawansowane technologie wymagają związków o niewyobrażalnej często czystości. Trudno sobie dziś wyobrazić laboratorium chemiczne bez wysokosprawnej chromatografii, umożliwiającej wydzielanie preparatywnych ilości substancji o dużej czystości.

Synteza i przekształcenia chemiczne są oczywiście podstawowym etapem poznawania, ale dalece niepełnym. Chemik w swych badaniach dąży do określenia najszerszej pojętej struktury cząsteczek, tzn. przestrzennego rozkładu jąder i gęstości elektronowej. W tej dziedzinie nastąpił w ostatnim czasie niewyobrażalny postęp. Metoda rentgenostrukturalna wykorzystująca dyfrakcję promieniowania stała się standardową techniką pozwalającą na określenie przestrzennego rozkładu atomów w przeciągu godzin. Już kilka Nagród Nobla przyznano uczonym, którzy stosowali analizę rentgenostrukturalną. Szybkość przeprowadzania analiz strukturalnych wciąż rośnie dzięki rozwojowi techniki komputerowej i czułości detektorów. Warto w tym miejscu wspomnieć, że milowymi krokami w rozwoju chemii i biochemii było wyznaczenie struktur białek i kwasów nukleinowych. Poświęcono tym zagadnieniom lata pracy w dużych grupach badawczych. Dziś rozszyfrowywane są nawet bardzo złożone struktury w stosunkowo krótkim czasie. Fundamentalne znaczenie w określaniu subtelných aspektów strukturalnych, do jakich należy konformacja, ma metoda jądrowego rezonansu magnetycznego. O jej znaczeniu w badaniach chemicznych świadczy przyznanie Nagrody Nobla właśnie z zakresu chemii Ernstowi za rozwój tej techniki. Rozwinęły się na wielką skalę metody spektroskopowe wykorzystujące promieniowanie elektromagnetyczne w szerokim zakresie częstości. Stwarzają one z jednej strony szerokie możliwości identyfikacyjne, a z drugiej — pozwalają śledzić subtelne efekty związane z poziomami energii.

Cechą charakterystyczną współczesnej chemii jest jej daleko posunięta teoretyzacja. Dziś niemal w każdym laboratorium stoi do dyspozycji komputer i pakiety programów umożliwiających mniej lub bardziej zaawansowane obliczenia kwantowochemiczne. Pozwalają one z jednej strony na wizualne odwzorowania przestrzennego rozkładu atomów nawet w dużych, złożonych cząsteczkach, a z drugiej — na badanie efektów dynamicznych. Następuje szybki rozwój metod matematycznych w zastosowaniu do różnych zagadnień strukturalnych i dynamicznych. Już od dość dawna istnieje czasopismo o nazwie „Computational Chemistry”, pojawiło się też nowe czasopismo o nazwie „Journal of Mathematical Chemistry”. Zagadnienia chemiczne stają się źródłem inwencji matematycznych i odwrotnie — pewne osiągnięcia w czysto abstrakcyjnych działach matematyki mogą być przydatne do rozwiązywania zagadnień z zakresu mechaniki kwantowej i fizyki statystycznej.

Zastanówmy się teraz przez chwilę, jaki jest zakres i jakie cele stawia przed sobą współczesna chemia. Otóż wydaje mi się, że cele te można z grubsza podzielić na dwie grupy. I tak, jedna grupa dotyczy odtworzenia otaczającego nas świata, tu na Ziemi, na poziomie atomowym i zrozumienie struktury i procesów tu zachodzących, łącznie oczywiście z przyrodą ożywioną, a więc i człowiekiem. Rzecz jasna, zagadnieniami tymi zajmują się głównie biochemicy, ale większość pytań, jakie sobie stawiamy, jest wspólna. W definicjach, które tu przedstawiam, jeszcze raz podkreślam, że zainteresowania chemika sprowadzają się do skali atomowej i głównie do obszarów kuli ziemskiej. Nie oznacza to, że chemicy nie wykorzystują w badaniach zjawisk jądrowych – najlepszym przykładem jest tu jądrowy rezonans magnetyczny czy efekt Moessbauera, ale są to metody pomocnicze. Nie można też powiedzieć, że nie interesują chemika zjawiska pozaziemskie. Warto tu przytoczyć różne spekulacje na temat składu materii w kosmosie na podstawie przesyłanych kwantów promieniowania. Można tu także wspomnieć o pewnych badaniach nad zjawiskami molekularnymi w obszarach międzygwiazdnych. Wydaje się, że w obszarach tych, gdzie panuje niezwykle rozrzedzenie, a równocześnie intensywne promieniowanie, powstają ciekawe molekuly, między innymi biogenne. Ale zejdźmy na ziemię. Otóż jednym z podstawowych celów chemika jest poznanie życia i procesów jego ewolucji. Drugim celem jest tworzenie nowych struktur molekularnych, nowych związków o ciekawych, pożądanym własnościach. Otóż w tej dziedzinie każdy dzień przynosi nowe oszałamiające informacje. W niniejszym wykładzie ograniczę się do dwóch nowych dziedzin współczesnej chemii, a mianowicie do tzw. chemii supramolekularnej i elektroniki molekularnej. Obie dziedziny nie są do końca zdefiniowane. Są one w trakcie tworzenia i obejmują coraz to szerszy zakres zainteresowań na pograniczu chemii, fizyki, biologii i techniki. W obu przypadkach istnieje wyraźne nawiązanie do układów biologicznych. Dlatego właśnie je wybrałem jako przykład i na koniec powiążę je z fundamentalnym pytaniem o istotę życia.

Chemia supramolekularna wiąże się między innymi z nazwiskiem Lehna, laureata Nagrody Nobla. Pojęcie zyskuje sobie coraz to większą popularność, obejmując coraz większą liczbę gałęzi chemii, znanych i rozwijanych od dość dawna. To, co zostało zakwalifikowane jako chemia supramolekularna, jest opracowywane i zostanie jeszcze w tym roku wydane pod postacią 11-tomowego dzieła pod ogólną redakcją Lehna. Nie podejmuję się sformułowania precyzyjnej definicji chemii supramolekularnej, ale określiłbym ją tak: jest to chemia struktur wieloatomowych w specjalny sposób uporządkowanych (np. heliksareny, cyklodekstryny), zdolnych do pełnienia różnych funkcji. Do pojęcia struktur supramolekularnych można włączyć wiele układów biologicznych. Struktury supramolekularne można projektować z myślą o konkretnej architekturze i działaniu, dopasowywać je do innych układów molekularnych. Można syntezować molekuly o przedziwnych kształtach (fulereny) lub o dowolnej symetrii. Wzrosło niepomiarne zainteresowanie oddziaływaniami mię-

dzycząsteczkowymi, a zwłaszcza wiązaniem wodorowym. To tzw. specyficzne oddziaływanie molekularne jest podstawą złożonej, ale dostatecznie trwałej architektury układów biologicznych. Do tego zagadnienia jeszcze wrócę na końcu mojego wykładu. W każdym razie do struktur supramolekularnych można zaliczyć każdy kryształ, w którym uporządkowanie zachodzi przez wysycenie grup zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych. Rozpoznawanie cząsteczek, które legło u podstaw prapoczątków życia, polega właśnie na łączeniu dopasowujących się fragmentów zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych.

Elektronika molekularna jest chyba jeszcze gorzej zdefiniowana niż chemia supramolekularna, ale dotyczy bezpośrednio zastosowań. Materiały molekularne budzą wzrastające zainteresowanie. Wiele takich materiałów już znalazło różnorodne zastosowania, wiele spośród nich kryje w sobie rozliczne potencjalne zastosowania. Nie będę tu nudził wymienianiem przykładów takich materiałów, ale o kilku wspomnę. Szeroko są znane ciekłe kryształy stosowane w różnorodnych urządzeniach jako wyświetlacze (*displays*). Materiały molekularne mogą spełniać rolę półprzewodników, przewodników metalicznych, wykryto także w pewnych kryształach molekularnych nadprzewodnictwo. Jest to dość szokujące, bowiem z materiałami molekularnymi kojarzy się nam raczej bardzo małe przewodnictwo, wszak polimerów używa się jako najlepszych izolatorów.

Materiały molekularne stają się coraz bardziej atrakcyjne (szczególnie tzw. kompozytowe) jako sensory, materiały fotochromowe i elektrochromowe (nowy rodzaj ekranów), magnetyki, materiały fotoprzewodzące itp. Badania idą w kierunku miniaturyzacji urządzeń elektronicznych. Mówi się o nanomateriałach, tzn. o zespołach elektronicznych o wymiarach nanometrów. Intensywne prace idą w kierunku otrzymywania supercienkich warstw o wymiarach pojedynczych lub kilku molekuł. Powstała nowa dziedzina materiałoznawstwa opartego na tzw. warstwach Langmuira-Blodgett.

Jednakże wyzwaniem dla elektroniki molekularnej jest stworzenie urządzeń pamięciowych i przetwarzających informacje, opartych na zjawiskach kwantowych w obrębie pojedynczych molekuł. Współczesne komputery oparte są wyłącznie na krzemowych obwodach scalonych. Nastąpił niebywały wprost postęp w miniaturyzacji takich obwodów. Eksponencjalnie z czasem rosta ilość informacji zapisywanych w jednostce objętości i szybkość przetwarzania danych (malą też ceną komputerów). Wszyscy specjaliści zdają sobie sprawę, że musi nastąpić kres rozwoju krzemowych elementów i że trzeba stworzyć zupełnie nową generację układów pamięciowych i przetwarzających informacje opartych na zjawiskach zachodzących w pojedynczych molekułach. Takim elementarnym procesem mogłoby być wzbudzenie do wyższych stanów kwantowych i w konsekwencji np. do powstawania stanów metastabilnych, do przenoszenia elektronu lub protonu, do zmiany konformacji lub do przenoszenia kwazicząstek (ekscytonów). Idea ma bezpośredni związek z procesami biologicznymi. Zapamiętywanie i przetwarzanie informacji zachodzi w mózgu na

poziomie molekularnym. Niestety, zbudowanie komputera na zasadzie działania mózgu jest mało prawdopodobne. Z drugiej jednak strony rozważane są możliwości wykorzystania biomolekuł do konstrukcji komputera. Rozważa się np. wykorzystanie bakteriorodopsyny jako aktywnego elementu molekularnego. Bakteriorodopsyna wraz z ATP stanowią najprostsza maszynę biologiczną przetwarzającą energię promienistą w chemiczną (przenoszenie protonu). Pozwolę sobie w tym miejscu na dygresję o roli wiązań wodorowych w układach biologicznych. Bez przesady mówi się, że ten typ oddziaływania molekularnego jest kwintesencją życia. Z jednej strony, oddziaływanie to determinuje niezwykle złożoną architekturę układów biologicznych i ich stabilność. Najlepszym przykładem jest tutaj trwała struktura podwójnej helisy kwasów nukleinowych, w których zgromadzona jest informacja genetyczna. Z drugiej strony, w miejscach mostków wodorowych zachodzić może pod wpływem impulsów elementarny akt chemiczny przeniesienia protonu. W dynamice chemicznej układów biologicznych z udziałem enzymów takie elementarne procesy odgrywają bardzo ważną rolę. Tak więc można mówić o dualistycznej funkcji wiązań wodorowych w układach biologicznych.

Ale wracając do idei molekularnych elementów pamięci i przetwarzania informacji, wydaje się, że właśnie wzbudzenie optyczne połączone z przeniesieniem elektronu lub protonu mogłoby być wykorzystane w konstruowaniu komputerów nowej generacji. Podobno są już próby zbudowania komputera opartego na wzbudzeniu *charge-transfer* do stanu metastabilnego w nitroprusydkach.

W końcowej części mojego referatu chciałbym poruszyć fundamentalną kwestię poznawalności otaczającego nas świata, a mianowicie zrozumienia powstawania życia, tj. takich form molekularnych, które się rozmnażają, mają zdolność do uczenia się i adaptacji. U podstaw powstawania żywych zespołów molekularnych leży, jak się dziś wydaje, rozpoznawanie molekularne i jego rola w autokatalitycznej reakcji samoreplikacji. Molekuły rozpoznają się poprzez specyficzne oddziaływania między ich fragmentami, które dopasowują się wzajemnie zarówno przestrzennie, jak i elektronowo. Według Rebeka układ samoreplikujący się przedstawia się następująco. Dwa rozpoznane przez siebie komplementarne składniki A i B reagują ze sobą tworząc wzornik (szablon, matrycę – ang. *template*). Wskutek samokomplementarnej natury wzornika dwie dodatkowe jednostki A i B mogą tworzyć poczwórny kompleks z wzornikiem. Na wzorniku reagenty spotykają się z większym prawdopodobieństwem niż w objętości roztworu. Wzornik zmniejsza entropię procesu. Reakcja wewnątrz kompleksu prowadzi do wytworzenia dimeru z wzornikiem i kiedy fuzja składników jest kompletna, słabe siły międzymolekularne pozwalają na dysocjację dimeru. Prowadzi to do zwiększania koncentracji wzornika: reakcja jest autokatalityczna. Rozważania te zostały poparte doświadczeniami dla różnych rozpoznających się molekuł. Już w końcu lat osiemdziesiątych pokazano, że krótki samokomplementarny segment DNA może działać jak matryca dla

tworzenia samego siebie nawet bez pomocy enzymów. Proces matrycowania poprzez rozpoznawanie może zachodzić prawdopodobnie na drodze innych mechanizmów, np. poprzez tworzenie miceli lub gromadzenie się molekuł na granicy faz.

Dziś wiemy ponad wszelką wątpliwość, że na drodze ewolucji powstały wysoce zorganizowane układy molekularne zawierające wielkocząsteczkowe kwasy nukleinowe zawierające kilka podstawowych cegiełek w postaci 2 zasad purynowych i 2 zasad pirymidynowych. Tworzą one strukturę podwójnej helisy, której składowe są wzajemną kopią. W uszeregowaniu zasad zawarta jest pełna informacja genetyczna. Mówię o rzeczach na ogół dobrze znanych, ale jeszcze przypomnę, że trójki zasad są jakby literami alfabetu genetycznego: trójkom zasad przypisane są określone aminokwasy, z których syntezowane są w komórce peptydy, a zwłaszcza enzymy odpowiedzialne za wszystkie procesy biochemiczne. Zespoły trójek tworzą geny, odpowiedzialne za biosyntezę konkretnych struktur białkowych. Możemy powiedzieć, że geny zawierają informacje o konkretnych funkcjach organizmu. Coraz częściej słyszymy o doniesieniach, że odkryto geny odpowiedzialne za takie lub inne zachowanie się biologicznych indywiduów. Coraz częściej mówi się o genetycznych uwarunkowaniach chorób lub zachowań ludzi. Dziś jest to już pewnikiem.

Nie można się dziwić, że obecnie największym wyzwaniem dla biochemików jest rozpoznanie topografii genomów. Na razie udało się całkiem niedawno całkowicie odtworzyć uszeregowanie zasad w drożdżach. Podjęto również międzynarodową współpracę na wielką skalę zmierzającą do pełnego rozpoznania genomu ludzkiego. Zadanie jest gigantyczne. Trzeba rozpisać uszeregowanie zasad nukleinowych w ok. 80 tys. genów zawierających w sumie 3 miliardy molekuł rozmieszczonych w 24 chromosomach. Jeżeli posłużyć się analogią między trójkami zasad nukleinowych i literami alfabetu, to genom ludzki trzeba by zapisać w tysiącach woluminów. Zadanie ma być zrealizowane na początku XXI wieku. Jest to więc bliska perspektywa wyznaczająca jakąś tam granicę poznania w sensie chemicznym. Druga perspektywa, przedstawiająca się jeszcze nieco mgliście, ale też chyba realna, dotyczy zbudowania komputera molekularnego i inteligentnej maszyny, która byłaby zdolna do uczenia się.

W tych rozważaniach pojawiają się kuszące pytania co do ogólnych problemów filozoficznych i stosunku człowieka do otaczającego świata: albo agnostycznego, albo uznającego istnienie stwórcy. Otóż moim zdaniem ten zakres nauk, o których była mowa, i wszystkie ich osiągnięcia nie dają podstaw do jakichkolwiek spekulacji. Jest znamienne, że gdy pojawiła się rewelacyjna skądinąd informacja o istnieniu prymitywnych form życia na Marsie sprzed milionów lat, rzecznik watykański wydał szybko oświadczenie, że ten fakt jest zgodny z doktryną Kościoła. Istnienie tych form życia, które nas otaczają, jest nieuniknione w tych miejscach wszechświata, gdzie mogą powstać molekuły zdolne do samoorganizacji. Ale powstaje też pytanie, czy można zachowania

się człowieka i jego abstrakcyjne myślenie sprowadzić do uporządkowanych struktur molekularnych i ich dynamiki. Jako chemik wzdrygam się przed myślą, że genialny umysł Jana Sebastiana Bacha potrafił skomponować cudowne polifonie chwające stwórcę dzięki temu, że miał dobrze poukładane zasady nukleinowe w niektórych genach, a polski matematyk Stefan Banach wymyślił niewyobrażalne przestrzenie tylko dlatego, że posiadał odpowiednie geny. Ale chyba tak jest. Trudniej jednak wyobrazić sobie, jak ewolucja organizacji molekularnej doprowadziła do kreacji uniwersalnych wartości humanistycznych i powstania pojęcia dobra i zła.

Praca wpłynęła do Redakcji 4 listopada 1996

NOTATKI CHAOTYCZNE XIII. O BŁĘDACH. BŁĘDY PYCHY

Ignacy Z. Siemion

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

W moich notatkach zwracałem już uwagę na to, iż popełniane przez badaczy błędy częstokroć są wynikiem zwykłych, ludzkich słabości ich charakterów. Takie są zwłaszcza wymienione w tytule błędy pychy. Uczony, któremu się powiodło i który zdobył, jak się to mówi „liczący się autorytet”, łatwo może ulec przekonaniu o własnej wyjątkowości i nieomyślności. Wyniośle nie akceptuje krytycznych uwag kolegów. Nie może wprost uwierzyć, że ktoś inny może lepiej czy dokładniej od niego przeprowadzić pomiar. Odrzuca poglądy sprzeczne z jego własnymi przekonaniem.

Taka choroba nie omija nawet największych. Oto przykład przytoczony przez J. Hurwicę w jego szkicu o Kazimierzu Fajansie, a dotyczący osoby samego Waltera Nernsta [1]:

W programie zjazdu Towarzystwa imienia Bunsena (Bunsengesellschaft) w 1927 roku w Dreźnie figurował odczyt Walthera Nernsta o ciepłe rozcieńczania mocnych elektrolitów i doniesienie Ericha Langego, asystenta Fajansa, na ten sam temat. Podczas wieczoru powitalnego wielki Nernst zaproponował Fajansowi, by jego współpracownik wycofał swój komunikat i przekazał mu swe wyniki, które on przedstawi w swoim referacie. Fajans uważał jednak, iż lepiej będzie, gdy Lange sam zreferuje osiągnięte rezultaty. Tak się też stało [...] Fajans i Lange siedzieli obok siebie w audytorium. Nagle w drugim końcu sali wstał ze swego miejsca Nernst, podszedł do nich i oto taka wywiązała się rozmowa toczona półgłosem. Nernst zwrócił się do Langego:

– Panie Kolego, oczywiście nie opublikuje pan swych wyników, gdyż w przeciwnym razie musiałbym wysunąć poważne wątpliwości co do pańskich pomiarów.

Na to Fajans:

– Ale wtedy, Panie Geheimrat [Tajny Radca – tytuł, który przysługiwał Nernstowi], Lange wykazałby, że jego pomiary są znacznie dokładniejsze niż pańskie.

Nernst:

– Musicie jednak przyznać, że ja się na pomiarach znam lepiej niż wy obaj razem. Czyż nie byłem prezesem Państwowego Instytutu Fizyki Technicznej (Physikalisch-Technische Reichsanstalt)?

Wielki uczony w ogóle nie chciał przyjąć do wiadomości przypuszczenia, że ktoś inny od niego mógłby coś lepiej niż on sam wykonać.

Najjaskrawszych jednak bodaj przykładów takich „błędów pychy” może dostarczyć historia stereochemii organicznej. Jak wiadomo, jądrem teorii budowy przestrzennej związków organicznych J. H. Van't Hoffa była hipoteza o tetraedrycznym rozmieszczeniu podstawników wokół atomów węgla i wynikający z niej wniosek o nieidentyczności przestrzennej asymetrycznie podstawionych cząsteczek organicznych z ich odbiciami lustrzanymi.

W przypadku – pisał Van't Hoff – kiedy cztery wartościowości atomu węgla wysycone są czterema różnoimiennymi jednowartościowymi grupami, uzyskuje się dwa, i tylko dwa, różne od siebie tetraedry, które są wzajemnie odbiciami lustrzanymi i w żaden sposób nie mogą być na siebie myślowo nałożone, tj. mamy tu do czynienia z dwoma formami strukturalnymi przestrzennych izomerów. [2]

Tezy Van't Hoffa (ogłoszone w 1874 r.) nie spotkały się bynajmniej z powszechną aprobatą. Do zajadłych krytyków teorii Van't Hoffa należał zwłaszcza wpływowy organik tego czasu, H. Kolbe. Był on wydawcą wychodzącego w Lipsku czasopisma naukowego „Journal für praktische Chemie”, co sprawiało, że jego wpływ na poglądy społeczności chemicznej był znaczny. Kolbe był zawziętym przeciwnikiem teorii strukturalnej Kekulégo, a ona właśnie była punktem wyjścia rozważań Van't Hoffa. Wystąpienie Van't Hoffa maksymalnie poirytowało lipskiego profesora. Dał temu wyraz w notatce pt. *Znamiona czasu* (*Zeichen der Zeit*), którą zamieścił w 1877 r. w redagowanym przez siebie czasopiśmie.

Niejaki Dr. J. H. Van't Hoff – czytamy tam – ze Szkoły Weterynaryjnej w Utrechcie nie odnajduje, jak się zdaje, smaku w ścisłym badaniu chemicznym. Uważa, że przyjemniej jest dosiąść pęgaza (zapewne wypożyczonego w Szkole Weterynaryjnej) i powiadomić w swojej „La chimie dans l'espace”, jak z osiągniętej śmiałym lotem wysokości chemicznego Parnasu wygląda ułożenie atomów w przestrzeni Świata. Prozaiczne środowisko chemiczne nie znajduje ochoty do tych halucynacji, a przecież mimo to Dr F. Hermann z Instytutu Rolniczego w Heidelbergu pozwolił im się rozszerzyć dzięki własnemu niemieckiemu przekładowi. Nosi on tytuł „Die Lagerung der Atome im Raume, von Dr J. H. Van't Hoff; według broszury autora: La chimie dans l'espace opracował w języku niemieckim Dr F. Hermann, asystent Instytutu Rolniczego w Heidelbergu, z przedmową Dr Johanna Wislicenus, profesora chemii Uniwersytetu w Würzburgu, druk i nakład Friedricha Viewega i Syna, 1877”. Tego pisemka nie da się ocenić nawet stosując taryfę ulgową, gdyż całkowicie fantazyjne żarty odbierają mu wszelki realny grunt i dla dociekliwego badacza jest ono zupełnie niezrozumiałe [...] Jest znamienym dla naszych biednych, jeśli chodzi o krytykę, i nienawidzących krytyki czasów, że dwaj nieznanymi chemiczy, jeden ze szkoły weterynaryjnej, a drugi z instytutu rolniczego, wyrokuje z wielką pewnością siebie o najzawilszych problemach chemii, takich, które zapewne nigdy nie zostaną rozwiązane, a w szczególności o sprawie przestrzennego ułożenia atomów [...]

Jak już powiedziałem, nie przywiązywałbym do tej pracy żadnej uwagi, gdyby nie to, że Wislicenus – i jest to rzecz kompletnie niezrozumiała – poprzedził druk wstępem i ciepło polecił, jako godny uwagi, czym może skłonić wielu młodych, niedoświadczonych chemików, by tym bezpodstawnym spekulacjom przydać jakąś wartość [3].

Kolbe był dobrze znany ze swego polemicznego temperamentu i tendencji do bezapelacyjnych w sprawach chemii wyroków. Niedawno Z. Ruziewicz zwrócił uwagę na gromy, jakimi obsypał lwowskiego chemika, Bronisława

Lachowicza [4]. Lachowicz opublikował w czasopiśmie Kolbego (1883) pracę o zależnościach, rysujących się pomiędzy temperaturami topnienia i wrzenia a konstytucją związków organicznych. Postulował tam, że te charakterystyki zależą nie tylko od mas cząsteczkowych, ale i od kształtu cząsteczek. „Im bardziej – pisał – masa cząsteczki skupia się w jednym punkcie i im bardziej ten punkt zbliża się do geometrycznego środka cząsteczki, tym bardziej lotny jest związek” [5].

Kolbe opatrzył artykuł cierpką uwagą, że drukuje go tylko dlatego, iż chce w ten sposób pokazać, że chemia strukturalna prowadzi badacza do granicy fizyko-chemicznych absurdów [6]. Lachowicz odpowiedział grzecznie, że jego gest przyjaźni, jakim było przesłanie pracy do redakcji „Journal für praktische Chemie” został źle zrozumiany i że pozostaje przy swoim zdaniu, gdyż pozycja zajmowana przez redaktora „ani nie pozwoli mu iść dalej naprzód, ani uzyskać solidnych wyników” [7].

W kolejnej swojej wypowiedzi [8] Kolbe porównał Lachowicza do kurczątki, które chce uczyć starą kwokę.

Ale wróćmy przecież do stereochemii i Van't Hoffa. Jego teoria spotkała się z krytyką nie tylko Kolbego, ale i wybitnego francuskiego chemika, M. Berthelota. Jeszcze w roku 1875 skrytykował on poglądy Van't Hoffa na posiedzeniu Francuskiego Towarzystwa Chemicznego. Krytykował on postulat Van't Hoffa, iż optyczna czynność związków organicznych związana jest z obecnością w ich cząsteczkach asymetrycznie podstawionych atomów węgla. Styren – dowodził – otrzymany przezeń osobiście ze styraksu, wykazuje czynność optyczną, a przecież nie zawiera asymetrycznie podstawionych atomów. (Styraks to żywica kory drzewa *Liquidambos orientalis*.)

Krytyka ta zmusiła Van't Hoffa do tego, by osobiście sprawdzić, czy styren jest optycznie czynny. W dwóch kolejnych publikacjach [9] wykazał on, że pozorna czynność optyczna styrenu wynikała z obecności w preparacie otrzymanym ze styraksu optycznie czynnego zanieczyszczenia, które nazwał styrokamfenem.

Dodajmy, że jeszcze po śmierci Van't Hoffa (1911) jego teoria stereochemiczna była atakowana i to z pozycji doświadczalnych. W 1923 r. Mark i Weissenberg stwierdzili, że w kryształach pentaerytrytu atomy węgla mają konfigurację piramidalną, tzn. że cztery podstawniki hydroksymetylenowe obsadzają naroża podstawy piramidy tetragonalnej [10]. Wynik ten znalazł rychło dalsze eksperymentalne potwierdzenie [11]. Skłoniło to Weissenberga, by wystąpić z nową teorią budowy przestrzennej cząsteczek [12]. Zdawał on sobie, rzecz jasna, sprawę z tego, że masa nagromadzonych w międzyczasie faktów potwierdza idee Van't Hoffa. Dlatego zaproponował, aby konfigurację cząsteczek traktować dynamicznie. W parach oraz w roztworze mogą one istnieć w konfiguracji tetraedrycznej. W kryształach – w konfiguracji piramidalnej. Byłyby to wyróżnione minima energii potencjalnej cząsteczek, a przejście od jednej do drugiej konfiguracji wymagałoby pokonania określonej bariery

energetycznej. Takie dynamiczne traktowanie konfiguracji mogłoby, zdaniem Weissenberga, wyjaśnić wreszcie tajemnicę cyklu Waldena, od wielu lat dręczącą chemików.

Cóż, kiedy ta, interesująca nawet, teoria fundowana była na błędzie doświadczalnym.

Historia nauki wskazuje, że bardzo liczne rewolucyjne teorie i odkrycia napotykały co najmniej chłodne przyjęcie ze strony liczących się uczonych swojej doby. Kiedy Roentgen ogłosił, iż odkrył nowy rodzaj promieniowania, promienie X, nie kto inny jak lord Kelvin stwierdził, iż jest to drobiazgowo wypracowane oszustwo. Był on przekonany, że wytworzenie jakiegokolwiek nowego rodzaju promieniowania w rurkach katodowych jest zupełnie niemożliwe [13].

pozytywną cechą przytoczonych tu „błędów pychy” była ich pełna jawność. Ich autorzy nie ukrywali się przed okiem ludzi postronnych. Co więcej — Kolbe jadownicie skrytykował Lachowicza, ale przecież ogłosił jego pracę w wydawanym przez siebie czasopiśmie. A przecież znacznie cięższymi grzechami pychy są poufne werdykty, dyskwalifikujące przełomowe niekiedy osiągnięcia. Inna rzecz, że wynikają one często nie tyle z przekonania o swojej nieomyślności, ile ze zwykłego asekurantwa: „żeby się czasami nie okazało, że nie umiałem poznać się na głupstwie”. Pycha i asekurantwo to zresztą dwie strony tej samej monety. Jedno i drugie żywi się przesadną miłością własną ludzi. W obu przypadkach chodzi o to, by nasza miłość własna nie ucierpiała.

Przykładów błędnych werdyktów opiniodawczych można znaleźć doprawdy *multum*. Oto kilka — w miarę jaskrawych. Michał Cwiet (1872–1919), odkrywca chromatografii adsorpcyjnej (oraz autor terminów: „chromatografia” i „chromatogram”), publicznie zaprezentował swoje odkrycie na posiedzeniu oddziału biologicznego rosyjskiego Warszawskiego Towarzystwa Przyrodników. Odbyło się ono 8 marca 1903 r. Jak podają autorzy publikacji o warszawskim okresie życia i twórczości naukowej Cwieta [14], profesor S. J. Sokółow, który był obecny na posiedzeniu, zapamiętał atmosferę niedowierzania, panującą w audytorium, oraz bolesne rozczarowanie referenta. W ciągu wielu późniejszych lat Cwiet napotykał wielkie trudności, ubiegając się o profesurę na którymkolwiek z rosyjskich uniwersytetów. Uzyskał ją wreszcie na Uniwersytecie Dorpackim, w ostatnim już roku swego życia. W cytowanej publikacji znajdujemy fragment opinii W. K. Zaleskiego w sprawie profesury Cwieta:

Cwiet — czytamy tam — z punktu widzenia wartości swych prac naukowych znacznie ustępuje innym kandydatom na objęcie kierownictwa danej katedry [...] Cwiet nie opanował w pełni metody nauk doświadczalnych, które wymagają stosowania ścisłych sposobów prowadzenia badań oraz ostrożności w formułowaniu wniosków. Wypowiada on głośne twierdzenia i nieprzemyślane wnioski, nie mając krytycznego stosunku do faktów eksperymentalnych.

Sporo innych przykładów podobnie nieudanych opinii przynosi niedawny artykuł K. J. Leidlera [15]. Szczególnie pouczające są opowiedziane tam historie publikacji prac J. J. Waterstona (1811–1883) i H. Eyringa. J. J. Waterston

wysłał w 1853 r. do redakcji „Philosophical Transactions of the Royal Society” pracę o kinetycznej teorii gazów. Nie znalazła ona jednak uznania u recenzenta. Orzekł on, że traktowanie ciśnienia jako wyniku bombardowań molekularnych jest zupełnym nonsensem. Wiele lat później rękopis pracy „odkopał” J. W. Strutt (baron Rayleigh) i doprowadził do jego publikacji. Praca była już jednak wtedy wyłącznie historyczną ciekawostką.

Również znakomita praca H. Eyringa o teorii stanów przejściowych została odrzucona przez redaktora, tym razem „Journal of Chemical Physics” (H. C. Ureya) na podstawie krytycznych recenzji opiniodawców. Interwencja H. C. Taylora i E. Wignera spowodowała zmianę stanowiska redakcji. Publikacja ukazała się, choć ze znaczną zwłoką.

Przytoczone tu przypadki „błędów pychy” dotyczą uczonych dojrzałych, o sławnych nazwiskach. Uczonych zasłużonych przecież dla rozwoju chemii. Nie znaczy to, by błędów pychy mogli uniknąć młodzi i początkujący badacze. Ileż to razy niemal każdemu przychodzi się zetknąć z zjadłą i bezpardonową krytyką młodych ludzi, którzy czegoś tam nie zrozumieli albo nie doczytali, ale za to są absolutnie pewni swojego zdania. O takich pewien mój znajomy prawnik mawiał, że reprezentują jasność sądu nie zmaconą znajomością rzeczy.

Trzeba też powiedzieć, że nie tylko przesadna miłość własna jest podłożem powstawania wskazanego tu typu błędów. Znaczną rolę odgrywa tu (częstokroć usprawiedliwiona) obawa przed nowością, przed poglądami naruszającymi ustalony system przekonań, w którym wyrosliśmy i który przyjęliśmy za własny.

Gdyby zaś mój młody współpracownik zapytał mnie, jak unikać „błędów pychy” – to zalecałbym mu przede wszystkim ostrożność. Krytykować wyniki innych godzi się tylko wtedy, gdy jesteśmy zupełnie pewni wyników własnych. Jeśli moje wyniki doświadczalne bądź ich interpretacje godzą w to, co na ten temat powiedzieli inni badacze, to muszę wielokrotnie sprawdzić doświadczenie i wielokrotnie przemyśleć interpretację, zastanawiając się zwłaszcza nad tym, czy naprawdę nie dają się one pogodzić z tym, co powiedzieli inni? Musimy więc postarać się spojrzeć na badany problem z ich punktu widzenia. Bo może okazać się przecież, że sami byliśmy w błędzie.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J. Hurwic, *Wiadomości Chem.*, 1985, **39**, 312–313.
- [2] J. H. Van't Hoff, *Sur les formules de structure dans l'espace*, Arch. Néederlandaises des Sciences exactes et naturelles, 1874, **9**, 444–454. Korzystam tutaj z ros. tłumaczenia tego rzadkiego druku, zamieszczonego w książce: G. W. Bykow, *Istorija stierieochimii organicznych sojedinenij*, Izd. Nauka, Moskwa 1966, 41.
- [3] H. Kolbe, *J. prakt. Chem.*, N.F., 1877, **15**, 473–474.
- [4] Z. Ruziewicz, *Wiadomości Chem.*, 1996, **50**, 547.
- [5] B. Lachowicz, *J. prakt. Chem.*, N.F., 1883, **28**, 166–167.

- [6] H. Kolbe, J. prakt. Chem., N.F., 1883, 28, 167.
- [7] B. Lachowicz, J. prakt. Chem., N.F., 1883, 28, 269–270.
- [8] H. Kolbe, J. prakt. Chem., N.F., 1883, 28, 270.
- [9] J. H. Van't Hoff, Ber., 1878, 9, 5 i 1339.
- [10] H. Mark, K. Weissenberg, Z. f. Phys., 1923, 17, 301.
- [11] M. L. Huggins, S. B. Hendricks, J. Am. Chem. Soc., 1926, 48, 164.
- [12] K. Weissenberg, Ber., 1926, 59, 1526.
- [13] A. Kohn, *Falszywi prorocy. Oszustwo i błąd w nauce i medycynie*, PWN, Warszawa 1996, 122.
- [14] K. Sakodynski, I. Proskurowskaja, Wiadomości Chem., 1971, 25, 455.
- [15] K. J. Laidler, Acc. Chem. Res., 1995, 28, 187.

Praca wpłynęła do Redakcji 4 listopada 1996

W „Notatce chaotycznej”, zamieszczonej w zeszycie 11-12 „Wiadomości Chemicznych” z 1996 r. (tom 50, s. 954) zostało zniekształcone, nie z winy autora, nazwisko J. Zawadzkiego (napisano tam: Zawadzki), co niniejszym prostuję.

KRONIKA

XI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ORGANOSILICON CHEMISTRY

Montpellier, wrzesień 1996

Bardzo szybko minęły te trzy lata! W sierpniu 1993 r. gościliśmy w Poznaniu około 400 chemików, parających się chemią związków krzemooorganicznych z 27 krajów świata w ramach X International Symposium on Organosilicon Chemistry („Wiadomości Chemiczne”, 1993, 47, 691). W dniach 1-6 września 1996 r., już jako goście, a nie organizatorzy, uczestniczyliśmy na kolejnym XI Sympozjum zorganizowanym przez światowej klasy krzemorganika, Profesora R. J. P. Corriu na jego uczelni, Université Montpellier II na południu Francji. Była to impreza nieźle zorganizowana. Dodatkowe lokalne atuty – pogoda, niepowtarzalna przyroda, niezapomniane zabytki, francuska kuchnia, świetne wino, no i czarująca ludność południowej Francji wycisnęły znacząco piętno na przebiegu tego spotkania.

Sympozja z tej serii od lat grupują przedstawicieli uczelni, instytutów badawczych oraz instytutów i laboratoriów wielkich koncernów przemysłowych produkujących silany i silikony – środki niezbędne w wielu działach przemysłu nowoczesnej gospodarki krajów rozwiniętych. Program naukowy Sympozjum, na którym spotkało się ponad 400 uczestników, obejmował 4 wykłady plenarne, 38 wykładów proszonych, 106 wygłaszanych komunikatów, a także około 300 posterów.

W ramach wykładów plenarnych prof. P. Schleyer Von Rague z Erlangen (RFN) zaprezentował podobieństwa i odmienności krzemu od pozostałych pierwiastków 4 grupy, na podstawie komputerowej analizy charakteru połączeń tych pierwiastków z wodorem. Ostatnie postępy w chemii polisilanów, ze szczególnym uwzględnieniem blokowych kopolimerów polisilanów ze styrenem i metakrylanem metylu, przedstawił prof. H. Sakurai z Tokyo (Japonia). Trzeci wykład plenarny, wygłoszony przez prof. J. F. Harroda z Montrealu (Kanada) dotyczył zastosowania związków krzemooorganicznych do modyfikacji wybranych właściwości krzemowych materiałów ceramicznych, mających zastoso-

wanie w elektronice. Prof. G. A. Olah z Los Angeles (USA) – laureat Nagrody Nobla z chemii z 1994 roku – omówił chemię kationów organosililowych w roztworach, w kontekście chemii karbokationów. Zarówno wysoka ranga wykładowców, jak i aktualność tematyki przyciągnęły na te wykłady licznych słuchaczy.

Wykłady proszone i komunikaty ustne rozdzielono na 4 równoległe sekcje, co znacznie utrudniło wymienne korzystanie z wystąpień na poszczególnych sekcjach. Tematyka wykładów proszonych obejmowała całą współczesną tematykę chemii krzemooorganicznej – jej aspekty teoretyczne i strukturalne, mechanizmy reakcji, połączenia krzemu w nietypowych stanach koordynacyjnych, organiczną i nieorganiczną chemię krzemu, silikony i inne polimery zawierające krzem oraz materiały ceramiczne. Na zorganizowanych na terenie biblioteki trzech sesjach prezentowano komunikaty posterowe.

Z inicjatywy krzemooorganików z Niemiec i przewodniczącego Komitetu Organizacyjnego powołano grupę roboczą (N. Auner i H. Bock – Niemcy, A. R. Bassindale – Wielka Brytania, R. J. P. Corriu – Francja, B. Marciniak – Polska oraz J. Weis – Wacker Chemie i S. Brown – Dow Corning), do zorganizowania cyklu nowych, corocznych europejskich spotkań – „European Silicon Days” – nowego forum wymiany myśli i doświadczeń między przedstawicielami nauki i przemysłu. Pierwsze spotkanie (Monachium, 1998) będzie sprawdzianem tej formuły, nastawionej na pogłębienie europejskiej integracji i stymulację wzajemnego kontaktu uczestników spotkania, dotowanego, szczególnie dla doktorantów, przez wiodące koncerny silikonowe Europy.

Nasz kraj i naszą chemię krzemu prezentowało 19 osób, głównie z ośrodka łódzkiego (Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych, Politechnika) i poznańskiego (UAM). Prof. J. Chojnowski z CBMM (Łódź) oraz prof. B. Marciniak z UAM (Poznań) – jako jedyni przedstawiciele Europy Środkowej i Wschodniej – wygłosili wykłady proszone. Pierwszy na temat nowych aspektów procesów polikondensacji i polimeryzacji z otwarciem pierścienia, prowadzących do syntezy polisiloksanów. Drugi wykład dotyczył nowej reakcji – katalitycznego (kompleksy metali przejściowych) odwodorniającego sililowania olefin winylosilanami i winylosiloksanami. Siedem osób z kraju wygłosiło komunikaty (B. Becker – Gdańsk, M. Cypryk – Łódź, J. Guliński – Poznań, Z. Jedliński – Gliwice, J. Kozakiewicz – Warszawa, W. Stańczyk – Łódź, M. Zielecka – Warszawa), poza tym zaprezentowano 15 komunikatów posterowych. Polska reprezentacja aktywnie uczestniczyła w naukowym i pozanaukowym programie Sympozjum.

W ramach programu „socjalnego” uczestnicy mieli możliwość zakosztować tamtejszych win i serów, poznać uroki turystyczne delty Rodanu (Camargue), a także uczestniczyć w spektaklu katalońskiej corridy, poprzedzającej wspólną kolację – ryż z „owocami morza” pod dachem wielkiej stylowej stodoły.

Następne Sympozjum z tej serii odbędzie się w Japonii w 1999 roku. Będzie znowu okazja podsumować kolejne lata badań i wyznaczyć kierunki na przyszłość – na początek XXI wieku. Nie ukrywam, że bardzo chciałbym podzielić się z czytelnikami „Wiadomości Chemicznych” wrażeniami z tego ostatniego w XX wieku światowego spotkania krzemoorganików.

Jacek Guliński

Do Autorów i Czytelników

Redakcja, analizując materiały dotychczas publikowane i biorąc pod uwagę propozycje Czytelników, widzi możliwość druku na łamach „Wiadomości Chemicznych” interesujących rozpraw habilitacyjnych w formie zwartych monografii.

Prosimy nadsyłać prace tak przygotowane, aby spełniały wymogi regulaminu dla Autorów.

Zachęcamy Państwa do skorzystania z tej formy publikacji, widząc w tym korzyść obustronną, zarówno dla szerokiego grona Czytelników, jak i dla Autorów.

Redakcja zastrzega sobie prawo ostatecznej akceptacji rozpraw do druku.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

NOWE WYDAWNICTWA

Piotr Domański, *English in Science and Technology*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1996, wydanie drugie (wydanie pierwsze 1993 r.), 458 s.

Jest to niezwykła książka i chyba pierwsza, która, stosując metodę dwujęzyczną, pomaga bardzo skutecznie w stosowaniu języka angielskiego w szerokim rozumieniu tego słowa.

Odnosi się wrażenie, że Autor książki jest nie tylko świetnym znawcą języka, ale również doświadczonym nauczycielem i wie, jak dotrzeć do swojego odbiorcy. Porusza się również bardzo pewnie w gąszczu problematyki technicznej – w tym chemicznej. Sądzę, że książka będzie bardzo pomocna przede wszystkim pracownikom naukowym, a zwłaszcza chemikom, nie tylko w doskonaleniu umiejętności praktycznego stosowania języka angielskiego w mowie i czytaniu, ale przede wszystkim w tłumaczeniu własnych prac (tekstów) na język angielski. Większość pracowników naukowych samodzielnie tłumaczy teksty swoich prac, które następnie są wysyłane za granicę w celu opublikowania lub wygłoszenia. Wielu uczonych ma z tym sporo problemów. Niniejsza książka będzie im na pewno pomocna jako zbiór około 7500 wyrazów często stosowanych w tekstach naukowych i technicznych.

Książka może być bardzo przydatna dla tłumaczy tekstów prac naukowych, nie znających przedmiotu (dyscypliny naukowej), której praca dotyczy. Książka wprowadza poprzez ogólne sformułowania naukowe z zakresu chemii i fizyki do sformułowań bardziej specjalistycznych dotyczących np. pisania patentów lub przygotowywania prac do druku czy wygłoszenia jako referatów. Dla chemików szczególnie przydatne są rozdziały dotyczące terminologii chemicznej dotyczącej związków i urządzeń (aparatury) stosowanej w badaniach chemicznych.

Rozdział pt. „Varia” poszerza przydatność książki na inne obszary wiedzy i na inne zastosowania języka angielskiego.

Nie można nie docenić rozdziału poświęconego gramatyce w angielszczyźnie naukowo-technicznej, szczególnie przydatnego nie tylko tym, którzy sami tłumaczą teksty swoich prac naukowych, ale również tym, którzy profesjonalnie zajmują się tłumaczeniem.

Józef J. Ziółkowski

Tadeusz Spychaj, Stanisława Spychaj, *Farby i kleje wodorocieńczone*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1996, 323 s.

Farby i kleje wodorocieńczone – prosty tytuł nawiązujący do codziennych zastosowań. Książka jest natomiast doskonałym podręcznikiem, przydatnym w całości specjalistom z zakresu tworzyw powłokowych oraz we fragmentach – użytkownikom.

Jak podkreślają sami autorzy, „monografia jest pierwszą pracą w języku polskim z dziedziny chemii i technologii wodorocieńczalnych polimerów powłokotwórczych. Jest ona przeznaczona zarówno dla pracowników przemysłu, laboratoriów i instytutów badawczych, przedsiębiorców prywatnych, jak i studentów wyższych uczelni technicznych zainteresowanych technologią polimerów powłokotwórczych i ich stosowaniem w powiązaniu z ochroną środowiska”.

Książkę, którą Państwu polecam, nazwałam celowo podręcznikiem dla podkreślenia jej wartości dydaktycznej. W sposób wyważony dobrano materiał składający się na część wstępną – podstawy nauki – oraz technologiczną i zastosowania na podstawie nowoczesnego piśmiennictwa – monografii i przeglądów. Ze względu na szeroki zakres opracowanego materiału i nieuwzględnienie literatury źródłowej jest to bardziej podręcznik niż monografia.

Podręcznik składa się z 3 części:

A. Podstawowe wiadomości o wodorocieńczalnych substancjach powłokowych adhezyjnych (rozdział 2),

B. Przegląd najważniejszych polimerów i żywic wodorocieńczalnych do farb i klejów (rozdział 3),

C. Technologie produkcji farb, lakierów i klejów wodorocieńczalnych (rozdziały 4 i 5).

W części A na 25 stronach autorzy zestawili podstawowe wiadomości z zakresu adhezji i kohezji oraz rozpuszczalności i dyspergowalności polimerów i żywic w wodzie. Pomimo skromnej objętości tego rozdziału, materiał jest dobrze dobrany i opracowany wzorowo.

Na 140 stronach w części B scharakteryzowano najważniejsze polimery i żywice wodorocieńczalne stosowane do farb i lakierów. Autorzy uwzględnili grupę substancji pochodzenia naturalnego oraz produkty ich modyfikowania, np. pochodne celulozy, skrobię, oleje roślinne, kazeinę i kauczuk. Następnie omówili metody syntezy i właściwości polimerów winylowych, akrylowych i innych oraz żywic syntetycznych.

Ostatnie dwa rozdziały, liczące 149 stron, dotyczą technologii farb i lakierów wodorocieńczalnych oraz klejów. Zwrócono szczególną uwagę na wpływ wody i konsekwencje jej obecności w układach powłokowych oraz środków pomocniczych i napełniaczy. Opisano procesy wytwarzania i nanoszenia farb i lakierów oraz podano receptury podstawowych dyspersji. Bardzo cenne dla użytkowników będzie zestawienie asortymentów farb i lakierów wodorocieńczalnych oferowanych przez producentów krajowych, z krótką ich charakterystyką i zalecanym zastosowaniem.

Na końcu wypunktowano różnice pomiędzy tworzywami powłokowymi a adhezyjnymi, opisano te ostatnie i podano receptury otrzymywania klejów wodorocieńczalnych oraz produkty otrzymywane przez polski przemysł.

W ostatnich latach na świecie i również w Polsce obserwuje się dynamicznie rosnącą podaż wodorocieńczalnych farb, lakierów i klejów, ponieważ tworzywa wodorocieńczalne mają przewagę nad rozpuszczalnikowymi z ekonomicznego i ekologicznego punktu widzenia. Omawiany podręcznik zachęca do ich szerokiego stosowania.

Bożena N. Kolarz

Walenty Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1996, 420 s.

Szybki rozwój metod instrumentalnych w ostatnich latach przyczynił się do istotnego rozszerzenia możliwości analitycznego oznaczania pierwiastków i związków chemicznych, niezależnie od ich pochodzenia i miejsca występowania. Równocześnie nowoczesne przyrządy pomiarowe, chociaż wciąż stosunkowo kosztowne, stają się coraz bardziej dostępne w laboratoriach chemicznych w szkołach i w przemyśle. Z tych powodów książka W. Szczepaniaka prezentująca w sposób przystępny i zrozumiały nowoczesne, instrumentalne metody analizy jest pozycją godną uwagi.

Książka jest adresowana do różnych czytelników – uczniów i nauczycieli szkół średnich, studentów i pracowników wyższych uczelni oraz wszystkich tych, którzy pracując w przemyśle i gospodarce stykają się z problematyką analityczną. Poprawny język, jasny sposób tłumaczenia złożonych nawet zjawisk i logiczny układ treści pozwalają sądzić, że każdy z czytelników znajdzie w książce przydatne dla siebie wiadomości.

Część wstępna książki precyzuje zadania, jakie ma do rozwiązania chemia analityczna i określa ogólny schemat prowadzenia analizy ilościowej i jakościowej z uwzględnieniem sposobu przygotowania próbki, wyboru metody oraz oceny rzetelności uzyskanych wyników.

Omawiane metody instrumentalne są zgrupowane w 4 rozdziałach omawiających kolejno spektroskopię molekularną (UV-Vis, IR, spektrometria Ramana, NMR, spektrometria atomowa) metody elektroanalityczne (np. potencjometria, polarografia, konduktometria), metody chromatograficzne (chromatografia gazowa, HPLC) i inne metody (np. spektrometria mas, metody termooanalityczne).

Za warte podkreślenia należy uznać to, że czytelnik znajdzie w książce informacje o granicach stosowalności każdej metody, rodzajach i stężeniach oznaczanych substancji. Jest to bardzo istotne, ponieważ uzyskanie sensownego wyniku wymaga nie tylko wykonania precyzyjnego pomiaru, ale przede wszystkim odpowiedniego doboru metody i przygotowania próbek.

Metody instrumentalne w analizie chemicznej to wartościowa i potrzebna pozycja na rynku wydawnictw.

Anna M. Trzeciak

REGULAMIN DLA AUTORÓW

„Wiadomości Chemiczne” publikują artykuły referatowe, nie oryginalne prace doświadczalne, dotyczące wszystkich dziedzin chemii i nie drukowane przedtem w innych czasopismach. Artykuły wydrukowane w „Wiadomościach Chemicznych” nie mogą być bez zgody Redakcji drukowane w innych czasopismach. Treść artykułów powinna odpowiadać stanowi wiedzy w chwili pisania artykułu. Piśmiennictwo cytowane powinno uwzględniać najnowsze prace krajowe i zagraniczne z dziedziny, której dotyczy artykuł.

Maszynopisy (wydruki komputerowe) należy nadsyłać do Redakcji w dwóch egzemplarzach: oryginał i kopia lub kserokopia pisana jednostronnie, z zachowaniem podwójnej interlinii i marginesu szerokości 5 cm z lewej strony; pierwszy wiersz akapitu należy zaznaczyć wcięciem na 5 uderzeń w klawisz.

Pod tytułem polskim należy umieścić tytuł w języku angielskim, adres autora oraz obszernie streszczenie w języku angielskim (do dwóch stron maszynopisu, z cytowaniem piśmiennictwa i odsyłaczami do tabel i rysunków w tekście).

Artykuły należy opracowywać zwięźle i nie zamieszczać szczegółów, odsyłając czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego. Maszynopis nie powinien przekraczać 25 stron, wraz z tabelami i wykazem piśmiennictwa, lub 100 stron, jeśli jest monografią przeznaczoną do druku w „Bibliotece Wiadomości Chemicznych”. W wypadku prac wykonywanych za pomocą komputera, proszę zwrócić szczególną uwagę na jakość wydruku i czytelność wzorów. Jeśli nie będą wyraźne, to artykuł nie będzie przyjęty do Wydawnictwa. Redakcja prosi – jeżeli to możliwe – o dołączenie dyskietki z tekstem pracy wraz z informacją o używanym edytorze (i jego wersji). Redakcja zapewnia zwrot dyskietki.

Rysunki (mogą być kolorowe) należy nadsyłać w dwóch egzemplarzach (oryginały i kopie lub kserokopie). Oryginały rysunków muszą mieć taką formę graficzną, by nadawały się do reprodukcji. Na odwrotnej stronie należy podać ołówkiem nazwisko autora i numer rysunku i ten sam numer zaznaczyć w odpowiednim miejscu maszynopisu. Na osobnym arkuszu dołączyć podpisy pod rysunkami. Wzory chemiczne i schematy reakcji chemicznych, których nie można w prosty sposób napisać na maszynie, powinny być wpisane ręcznie, w odpowiednich miejscach tekstu. Niezależnie od tego do pracy należy dołączyć jeden komplet wzorów i schematów narysowanych oddzielnie w formie nadającej się do reprodukcji.

Tabele należy ponumerować cyframi arabskimi oraz podać ich tytuł.

Piśmiennictwo zestawia się w kolejności cytowania w tekście: powinno ono zawierać kolejno inicjały imion i nazwisko, skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, tom podkreślony i numer pierwszej strony cytowanej pracy. Wykaz skrótów ważniejszych czasopism chemicznych jest podany w „Wiadomościach Chemicznych”, 1989, 43, 979. Jeśli część piśmiennictwa zebrana jest w monografiach lub innych wydawnictwach, nie należy podawać szczegółowo wykazu tego piśmiennictwa, lecz cytować odnośne wydawnictwo.

O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny. Maszynopisy nie odpowiadające podanym warunkom nie będą przez Komitet rozpatrywane. Artykuły nie zakwalifikowane do druku Redakcja zwraca, zachowując kopię maszynopisu. Autorzy przeprowadzają korektę tekstu. Po zakwalifikowaniu pracy do druku nie będą uwzględniane żadne poprawki rysunków.

Honoraria za wydrukowane prace są wypłacane wyłącznie tym Autorom, których artykuły zostały zamówione przez Redakcję. Autorzy wydrukowanych prac otrzymują bezpłatnie 20 nadbitek.

SPIS TREŚCI

Nobel 1996 w dziedzinie chemii: fulereny	111
Paweł KAFARSKI: Racjonalne projektowanie herbicydów – inhibitorów biosyntezy Aminokwasów	125
Danuta KONOPIŃSKA: Proktolina – neuropeptyd owadów	145
Grażyna STOCHEL, Marek PAWELEC, Zofia STASICKA: Wybrane aspekty chemii i biochemii tlenu azotu	163
Adam HULANICKI: Analiza specjacyjna próbek biologicznych	189
Andrzej KASPEROWICZ: Jak powstał dynamit?	205
Agnieszka BUKOWSKA, Wiktor BUKOWSKI, Henryk GALINA: Reakcje kwasów karboksylowych z oksiranami	217
Felieton naukowy	
Lucjan SOBCZYK: Granice poznania w oczach chemika	235
Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne XIII. O błędach. Błędy pychy	243
Kronika	249
Nowe wydawnictwa	253