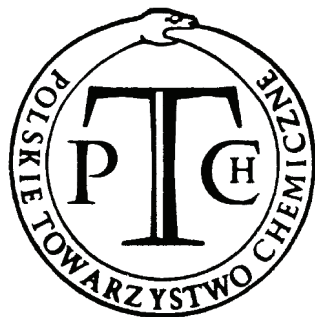
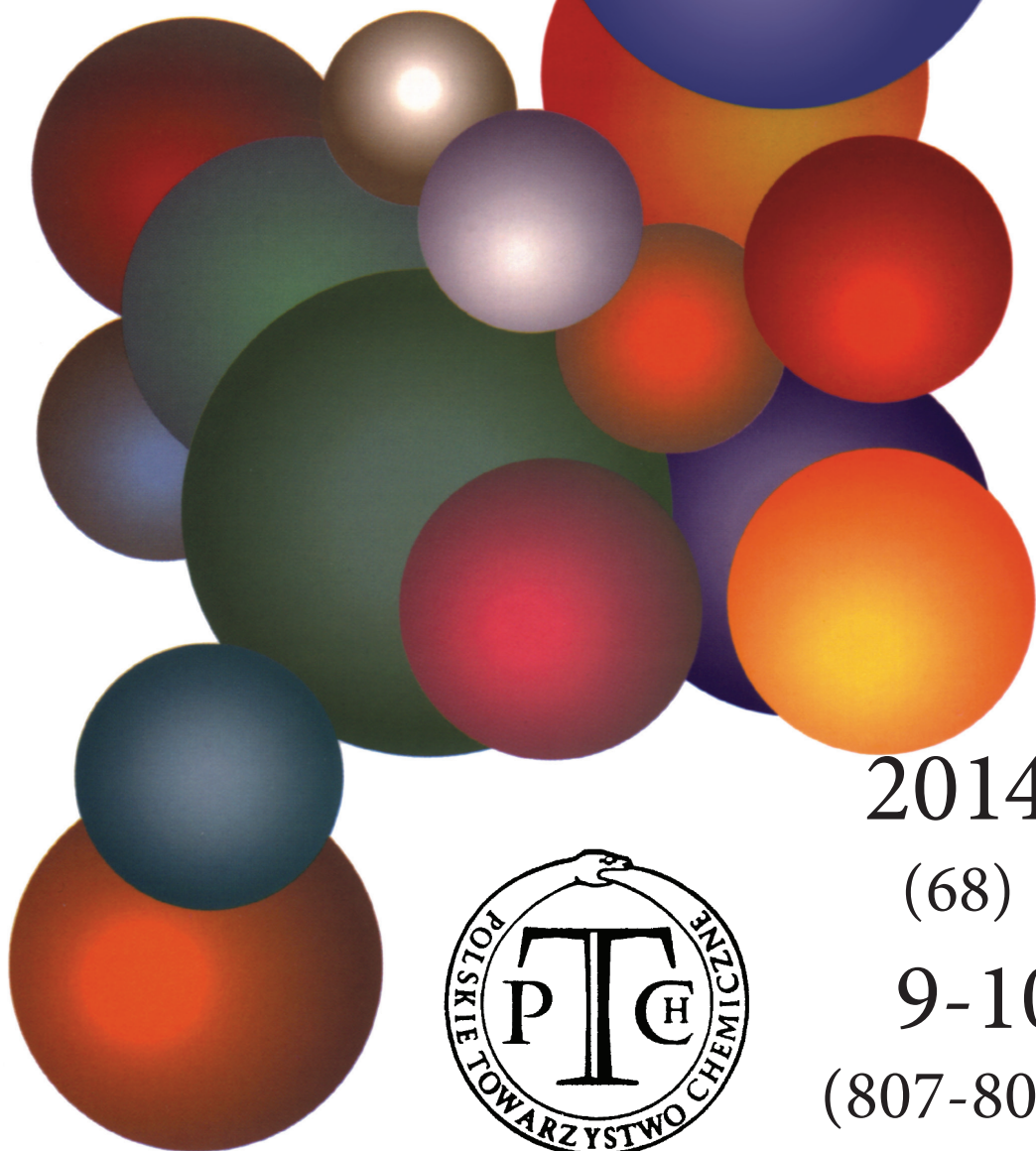


# WIADOMOŚCI *chemiczne*



2014

(68)

9-10

(807-808)

# CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez MNiSW

## RADA REDAKCYJNA

RYSZARD ADAMIAK, IRENA BARANOWSKA, ANDRZEJ BARAŃSKI,  
JERZY BŁAŻEJOWSKI, ANATOL KOJŁO, TADEUSZ M. KRYGOWSKI, ANDRZEJ KUTNER,  
PIOTR PANETH (PRZEWODNICZĄCY), K. MICHAŁ PIETRUSIEWICZ, DARIUSZ POGOCKI,  
MAREK POTRZEBOWSKI, GRZEGORZ SCHROEDER, ANDRZEJ SOKALSKI, ARTUR P. TERZYK

## KOMITET REDAKCYJNY

JERZY P. HAWRANEK, ADAM JEZIERSKI, LUDWIK KOMOROWSKI, MIROSŁAW SOROKA,  
MARIA SUSZYŃSKA, SŁAWOMIR SZAFERT, ANDRZEJ TROCHIMCZUK

## REDAKTOR NACZELNY

ZDZISŁAW LATAJKA

## SEKRETARZ REDAKCJI

BEATA ŚWIĄTEK-TRAN

BARBARA LATKO (FINANSE)

KAZIMIERA LUKJAN (KOLPORTAŻ)

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

tel.: 71 375 73 89, tel./fax: 71 322 14 06

e-mail: [wchem@wchuwr.pl](mailto:wchem@wchuwr.pl)

## INTERNET

<http://www.wchuwr.pl/wiadchem.htm> (English abstracts)

<http://www.dbc.wroc.pl> (pełne teksty publikacji od roku 2006)

„Wiadomości Chemiczne” są wydawane w ramach serii *Acta Universitatis Wratislaviensis*

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2014

pISSN 0043-5104

eISSN 2300-0295

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy: lipiec-październik 2014

Przygotowanie do druku i druk:

Firma Wydawnicza K2, al. Stanów Zjednoczonych 51, 04-026 Warszawa

tel. 22 517 78 12, fax 22 517 78 11, e-mail: [k2@druk-k2.pl](mailto:k2@druk-k2.pl)

**ENANCJOSELEKTYWNA ENZYMATYCZNA  
DESYMETRYZACJA KATALIZOWANA  
OKSYDOREDUKTAZAMI.  
DEHYDROGENAZY W REAKCJI REDUKCJI – CZĘŚĆ I**

**ENANTIOSELECTIVE ENZYMATIC  
DESYMMETRIZATION CATALYZED  
BY OXIDOREDUCTASES.  
DEHYDROGENASES IN REDUCTION REACTIONS  
– PART I**

**Renata Kołodziejska<sup>\*1</sup>,  
Aleksandra Karczmarzka-Wódzka<sup>\*1</sup>,  
Agnieszka Tafelska-Kaczmarek<sup>2</sup>, Renata Studzińska<sup>3</sup>,  
Marcin Wróblewski<sup>1</sup>, Beata Augustyńska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika,  
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

<sup>2</sup> *Katedra Chemii Organicznej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika,  
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń*

<sup>3</sup> *Katedra i Zakład Chemii Organicznej,  
Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika,  
ul. dr. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz*

*\*e-mail: Renatakol@poczta.fm*

*\*e-mail: akar@cm.umk.pl*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Mechanizm enzymatycznej redukcji dehydrogenazami

2. Przykłady enzymatycznej reakcji desymetryzacji związków karbonylowych; 2.1. Enzymatyczna reakcja redukcji prostych ketonów mikroorganizmami lub komórkami roślinnymi; 2.2. Enzymatyczna reakcja redukcji prostych ketonów izolowanymi reduktazami; 2.3. Enzymatyczna reakcja redukcji karbonylowych związków azotu 2.4. Enzymatyczna reakcja redukcji ketonów acetylenowych

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

---



**Dr Aleksandra Karczmarska-Wódzka**, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



**Dr Renata Kołodziejka**, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki związane są z badaniami nad regio- i stereoselektywnymi właściwościami biokatalizatorów oraz modyfikacją analogów nukleozydów pirymidynowych.



**Dr Agnieszka Tafelska-Kaczmarek**, pracownik Katedry Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad asymetryczną syntezą fluoropochodnych związków biologicznie czynnych.



**Dr Renata Studzińska**, pracownik Katedry i Zakładu Chemii Organicznej Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki związane są z badaniami nad syntezą układów heterocyklicznych m.in. zmodyfikowanych analogów nukleozydów pirymidynowych o potencjalnej aktywności biologicznej.



**Dr Marcin Wróblewski**, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autora obejmują syntezę organiczną z wykorzystaniem enzymów jak również syntezę zmodyfikowanych nukleozydów pirymidynowych.



**Dr hab. n. med. Beata Augustyńska**, kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują ocenę stanu oksydacyjnego z zastosowaniem enzymatycznych i nieenzymatycznych wykładników.



## ABSTRACT

Enzymes act as biocatalysts whether are also mediating in all anabolic and catabolic pathways, playing an extremely important role in the cells of all life forms. Catalytic potential of oxidoreductases is most commonly used in reduction reactions. Dehydrogenases and reductases catalyze the reversible desymmetrization reactions of meso and prochiral carbonyl compounds and alkenes. The oxidoreductase-catalyzed reactions require cofactors to initiate catalysis. In most cases, it is nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) or its phosphorylated derivative (NADPH), which acts as a hydride donor. The necessity of employing expensive cofactors was, for the long time, one of the main limitations to the use of dehydrogenases. This problem was solved by developing a regeneration system of a cofactor in the reaction environment. Various systems are used for the cofactor recycling. In the case of a carbonyl compound reduction, an irreversible oxidation of formic acid to carbon dioxide is most frequently used. In this paper, selected examples of whole-cell and isolated enzymes applications in the carbonyl compound reduction are discussed. The application of baker's yeast, microorganisms and dehydrogenases in enantioselective enzymatic desymmetrization (EED) of prochiral ketones leads to a broad spectrum of chiral alcohols used as intermediates in the syntheses of many pharmaceuticals and compounds presenting a potential biological activity.

Keywords: asymmetric reduction, alcohol dehydrogenase, cofactor

Słowa kluczowe: asymetryczna redukcja, dehydrogenaza alkoholowa, kofaktor

---

## WPROWADZENIE

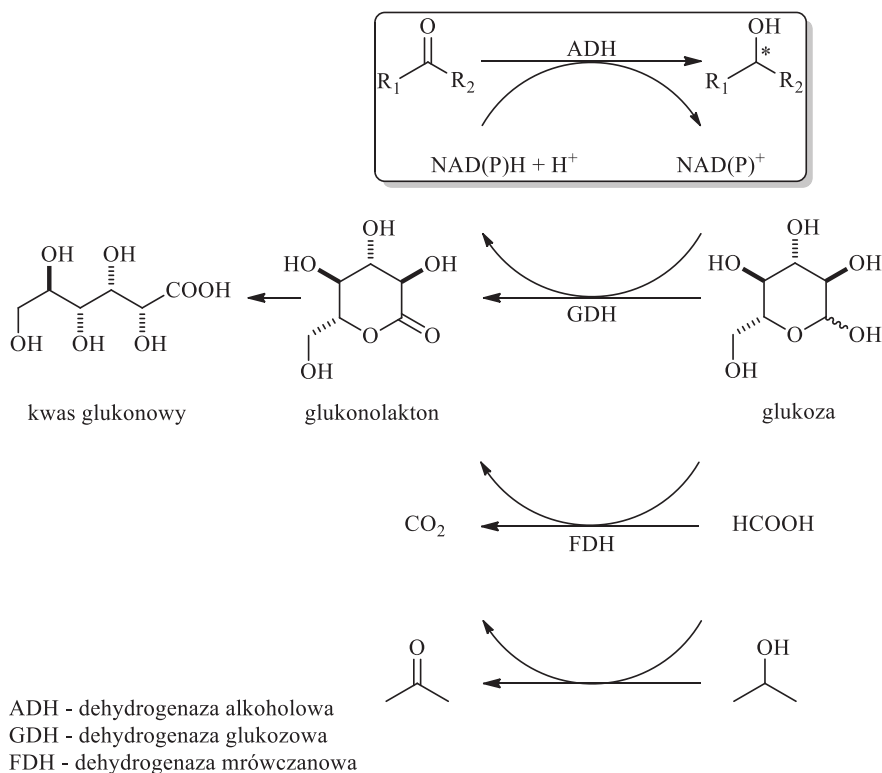
Enzymy działające jako biokatalizatory uczestniczą, czy też pośredniczą we wszystkich szlakach anabolicznych oraz katabolicznych, odgrywając niezwykle ważną rolę w komórkach organizmów żywych. W celu uregulowania i ujednoznaczenia nazewnictwa enzymów, Komitet Nazewnictwa (ang. *Nomenclature Committee*) Międzynarodowej Unii Biochemii i Biologii Molekularnej (ang. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) w latach 1956–1972 opracował dla nich nomenklaturę naukową – numer EC. Według niej, każdy enzym jest opisany przez ciąg czterech segmentów cyfr, oddzielonych od siebie kropką, poprzedzonych literami „EC” (*Enzyme Commission* lub *Enzyme Catalogue*): EC x.xx.xx.xx. Pierwsza cyfra dzieli enzymy, według mechanizmu reakcji przez nie katalizowanych, na sześć głównych klas: ketonów. Białko to występuje bardzo powszechnie w komórkach bakterii, grzybów, zwierząt i roślin. U grzybów i u ludzi w miejscu aktywnym tego enzymu

	Nazwa	Ilość	Sposób i zakres działania
1.x.x.x	Oksydoreduktazy	258	katalizują reakcje redoks
2.x.x.x	Transferazy Transaminazy	133	przenoszą grupy funkcyjne
3.x.x.x	Hydrolazy	780	katalizują hydrolizę różnych wiązań
4.x.x.x	Liazy	71	rozcinają różne wiązania na drodze innej niż hydroliza czy utlenianie
5.x.x.x	Izomerazy	28	katalizują zmiany izomeryczne cząsteczek
6.x.x.x	Ligazy	8	katalizują powstawanie wiązań chemicznych pomiędzy cząsteczkami, zużywając do tego energię pochodzącą z hydrolizy ATP

W pracy tej omówiono enzymatyczne metody enancjoselektywnych transformacji prochiralnych związków karbonylowych do odpowiednich chiralnych alkoholi. Enzymy, które katalizują asymetryczne reakcje redukcji nazywane są dehydrogenazami alkoholowymi (ADH) lub ketoreduktazami (KRED). Klasyfikuje się je jako enzymy klasy 1.1.x.x (EC 1.1.x.x) [1]. Dehydrogenaza alkoholowa (EC 1.1.1.1) katalizuje reakcje redukcji związków karbonylowych do odpowiednich alkoholi oraz reakcje utleniania przekształcające alkohole do odpowiadających im aldehydów lub ketonów. Białko to występuje bardzo powszechnie w komórkach bakterii, grzybów, zwierząt i roślin. U grzybów i u ludzi w miejscu aktywnym tego enzymu znajduje się atom cynku, u bakterii zawiera żelazo, a u owadów enzym ten nie zawiera żadnego metalu.

## 1. MECHANIZM ENZYMATYCZNEJ REDUKCJI DEHYDROGENAZAMI

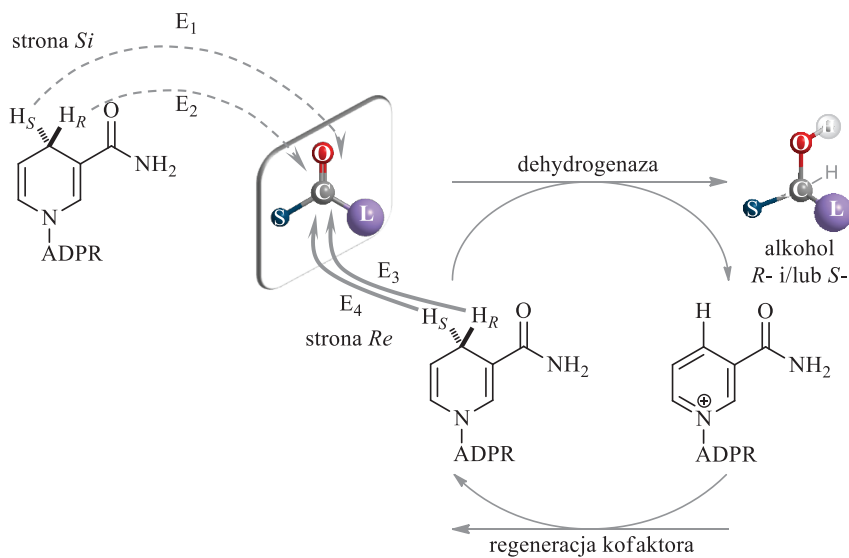
Potencjał katalityczny oksydoreduktaz wykorzystuje się najczęściej w reakcjach redukcji. Dehydrogenazy i reduktazy katalizują odwracalne reakcje desymetryzacji *mezo*- i prochiralnych związków karbonylowych i alkenów. Reakcje katalizowane oksydoreduktazami wymagają obecności kofaktorów. W przypadku dehydrogenaz jest to zredukowany dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH) lub jego fosforan (NADPH). NADH oraz NADPH pełnią formalnie rolę donora anionu wodorowego. Konieczność stosowania bardzo drogich kofaktorów przez długi czas, było jednym z głównych argumentów przemawiających przeciwko stosowaniu dehydrogenaz. Problem ten został rozwiązany przez opracowanie systemu prowadzącego do regeneracji kofaktora w środowisku reakcji. Do regenerowania kofaktora stosowane są różne układy. W przypadku redukcji grupy karbonylowej, najlepiej sprawdza się reakcja nieodwracalnego utleniania mrówczanu do tlenku węgla(IV), którą katalizuje dehydrogenaza mrówczanowa. Układy regenerujące zostały przedstawione na Schemacie 1.



Schemat 1. Układy regenerujące kofaktor

Scheme 1. Cofactor regeneration systems

Reakcja redukcji związków karbonylowych za pomocą dehydrogenazy alkoholowej zachodzi przez przeniesienie jednego z diastereotopowych atomów wodoru pierścienia dihydropirydynowego koenzymu (w postaci jonu wodorkowego) do określonego lica wiązania C=O. W cząsteczce kofaktora w pozycji 2 znajdują się dwa równocenne atomy wodoru. W momencie ataku jeden atom wodoru, w postaci jonu wodorkowego, ulega przyłączeniu do karbonylowego atomu węgla, drugi natomiast jako proton atakuje atom tlenu. Atak następuje od strony *si* lub *re* na atom węgla o hybrydyzacji  $sp^2$  w grupie karbonylowej przez jon wodorkowy pro-*S* ( $H_S$ ) lub pro-*R* ( $H_R$ ) kofaktora (NAD(P)H) (Schemat 2). W etapie E1 i E2 następuje atak od przodu (od strony *si*), natomiast w E3 i E4 atak zachodzi od tyłu (od strony *re*) [2]. Dehydrogenazy mogą przenosić selektywnie jon wodorkowy pro-*S* lub pro-*R* na węgiel karbonylowy ze strony *si* lub *re*. Dehydrogenazy alkoholowe z *Pseudomonas sp.*, *Lactobacillus kefir*, drożdży piekarskich, wątroby końskiej oraz *Moraxella sp.* przenoszą jon wodorkowy pro-*R*, z tą jednak różnicą, że w przypadku dwóch pierwszych dehydrogenaz atak następuje na lico *si* (E1), w przypadku pozostałych na lico *re* (E3). Dehydrogenaza glicerolowa z *Geotrichum candidum* oraz reduktaza dihydroksyacetonowa z *Mucor javanicus* selektywnie przenoszą jon wodorkowy pro-*S* na lico *si* (E2) [1].



Schemat 2. Mechanizm regio- i stereoselektywnego przeniesienia jonu wodorkowego z kofaktora NAD(P)H na karbonylowy atom węgla

Scheme 2. Mechanism of the regio- and stereoselective hydride transfer from the cofactor NAD(P)H to the carbonyl carbon atom

Kofaktory, często stosowane w ilościach katalitycznych, można regenerować *in situ*. Najczęściej jednak w syntezie organicznej używa się całych komórek mikroorganizmów, komórki/tkanki roślinne i zwierzęce.

## 2. PRZYKŁADY ENZYMATYCZNEJ REAKCJI DESYMETRYZACJI ZWIĄZKÓW KARBONYLOWYCH

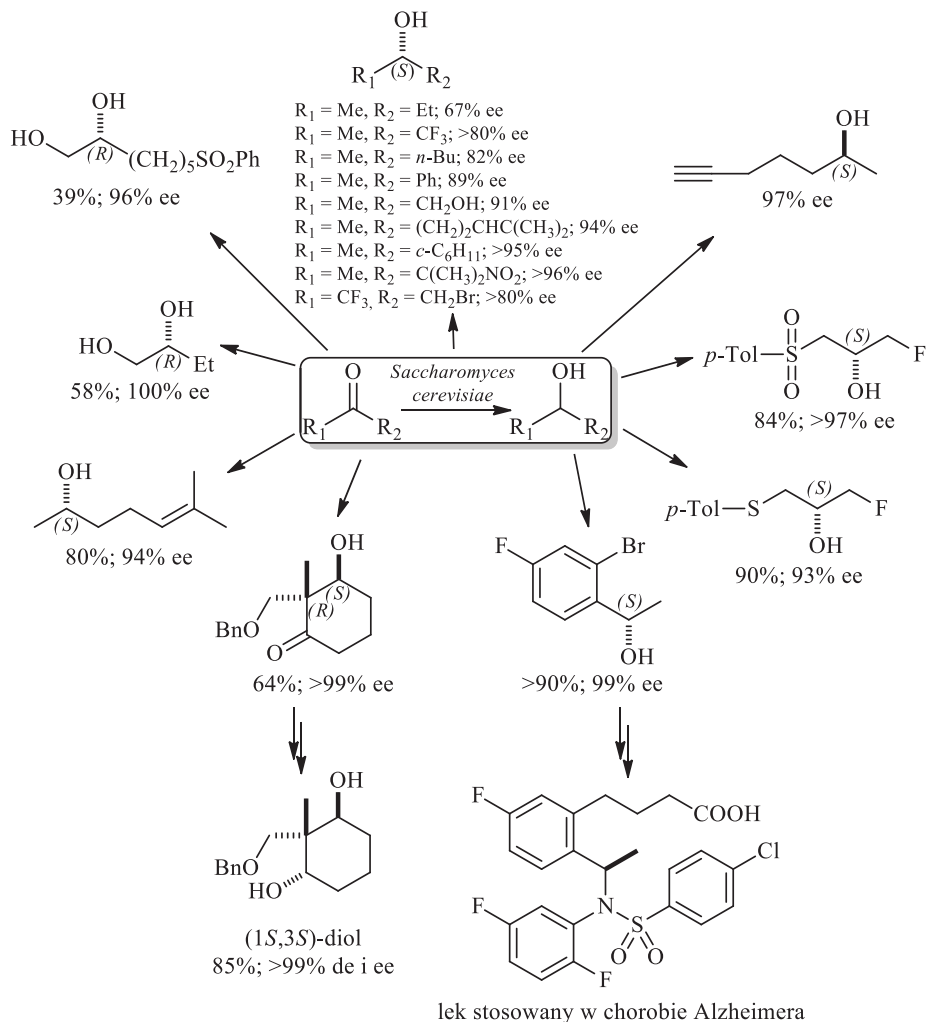
### 2.1. ENZYMATYCZNA REAKCJA REDUKCJI PROSTYCH KETONÓW MIKROORGANIZMAMI LUB KOMÓRKAMI ROŚLINNYMI

Do asymetrycznej redukcji związków karbonylowych powszechnie używanym mikroorganizmem są drożdże piekarskie *Saccharomyces cerevisiae*. Głównie ze względu na nieograniczoną dostępność, niską cenę oraz łatwość hodowli. Szeroki zakres działania drożdży piekarskich jest uwarunkowany obecnością wielu dehydrogenaz, jak również dużą tolerancją substratową. Jednak dehydrogenazy zawarte w mikroorganizmie posiadają najczęściej różne preferencje stereochemiczne. W konsekwencji może to prowadzić do zmniejszenia czystości optycznej uzyskanego produktu. Istnieje wiele sposobów, które umożliwiają usunięcie niekompatybilności enzymatycznej. Na przykład, selektywne wyłączenie przeszkadzającego biokatalizatora, zmiana stężenia i struktury substratów, zastosowanie rozpuszczalnika organicznego, liofilizacja i immobilizacja mikroorganizmu oraz modyfikacje genetyczne.

Reakcje w obecności drożdży, można przeprowadzić zarówno w środowisku wodnym, jak również w rozpuszczalnikach organicznych. W warunkach fermentacyjnych żywe komórki syntetyzują i regenerują enzymy i kofaktory. Tę metodę zastosować można tylko do wąskiej grupy substratów rozpuszczalnych w wodzie.

Obok drożdży piekarskich, w asymetrycznej syntezie, wykorzystuje się potencjał katalityczny enzymów zawartych w innych mikroorganizmach. Na przykład, w innych drożdżach *Rhodotorula rubra*, *Geotrichum candidum*, *Saccharomyces ontanus*, *Rhodotorula glutinis*, *Zygosaccharomyces balii*, bakteriach *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus fermentum*, *Corynebacterium* lub w całych komórkach roślinnych takich jak marchwi zwyczajnej (*Daucus carota*), bielunia dziedzierzawy (*Datura stramonium*). Najlepsze rezultaty w bioredukcji, głównie jeśli chodzi o czystość optyczną uzyskanych produktów, dają wyizolowane enzymy. Aspekt ekonomiczny, w wielu przypadkach, powoduje że większość syntez w obecności wyizolowanych enzymów nie opuszcza stołu laboratoryjnego. Syntezy tanie i łatwe w wykonaniu chętniej wykorzystuje się w procesach biotechnologicznych. Zastosowanie drożdży piekarskich w enancjoselektywnej enzymatycznej desymetryzacji (EED) prochiralnych ketonów prowadzi do otrzymania całej gamy chiralnych alkoholi. Mogą one stanowić cenne półprodukty w syntezie farmaceutyków, czy innych związków chemicznych o potencjalnym działaniu biologicznym.

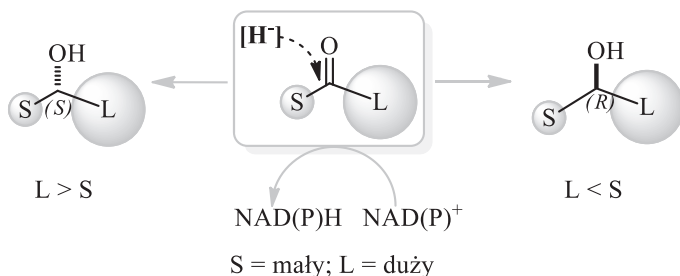
Na schemacie 3 przedstawiono niektóre przykłady zastosowania drożdży w asymetrycznej syntezie chiralnych alkoholi drugorzędowych, otrzymanych w wyniku redukcji alifatycznych, aromatycznych, alifatyczno-aromatycznych i cyklicznych ketonów [3–9].



Schemat 3. EED prochiralnych ketonów wobec drożdży piekarskich  
 Scheme 3. EED of prochiral ketones via baker's yeast

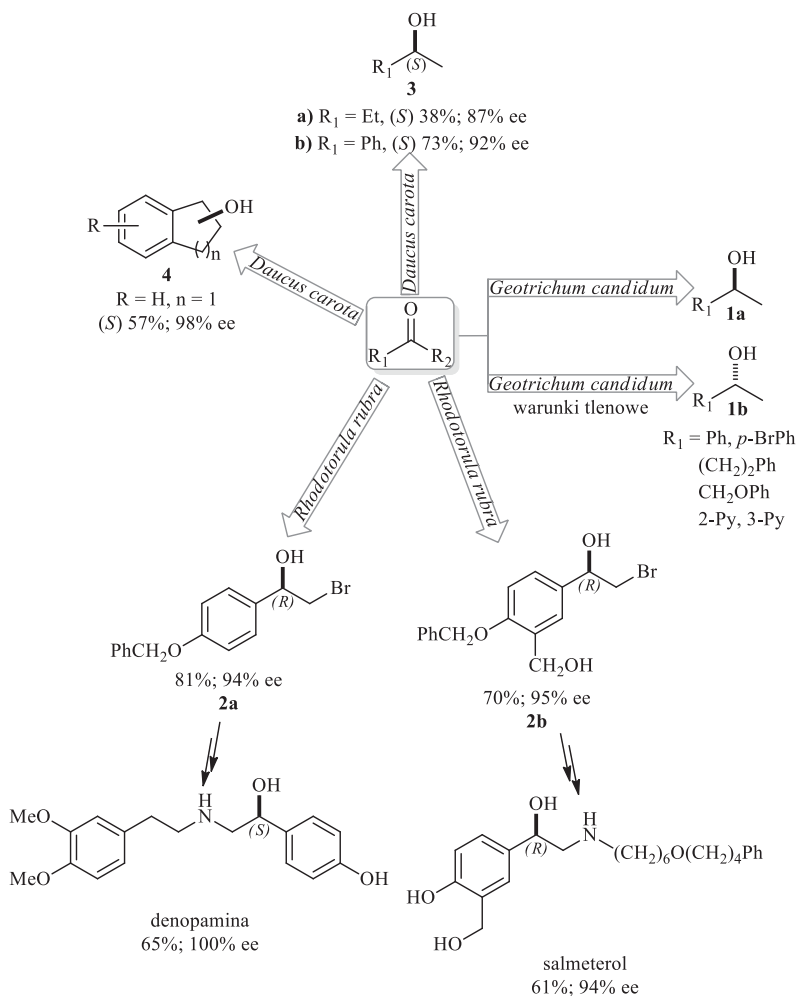
Stereochemia produktu redukcji w przypadku prostych ketonów określona jest regułą Preloga. Jon wodorkowy atakuje karbonylowy atom węgla od strony *re*. Z tego powodu w warunkach fermentacyjnych w obecności drożdży najczęściej otrzymuje się alkohole o konfiguracji (*S*), o ile podstawnik mniejszy objętościowo jest mniej ważny od podstawnika dużego objętościowo ( $S < L$ ). [10] Jeśli pierwszeństwo ulegnie zmianie (jak na przykład w hydroksyketonach), to w obecności drożdży, w wyniku ataku na lico *re* powstaje enancjomer o konfiguracji (*R*) (Schemat 4) [11, 12].





Schemat 4. Stereochemia produktu podczas redukcji enzymatycznej  
 Scheme 4. Stereochemistry of the product in the enzymatic reduction

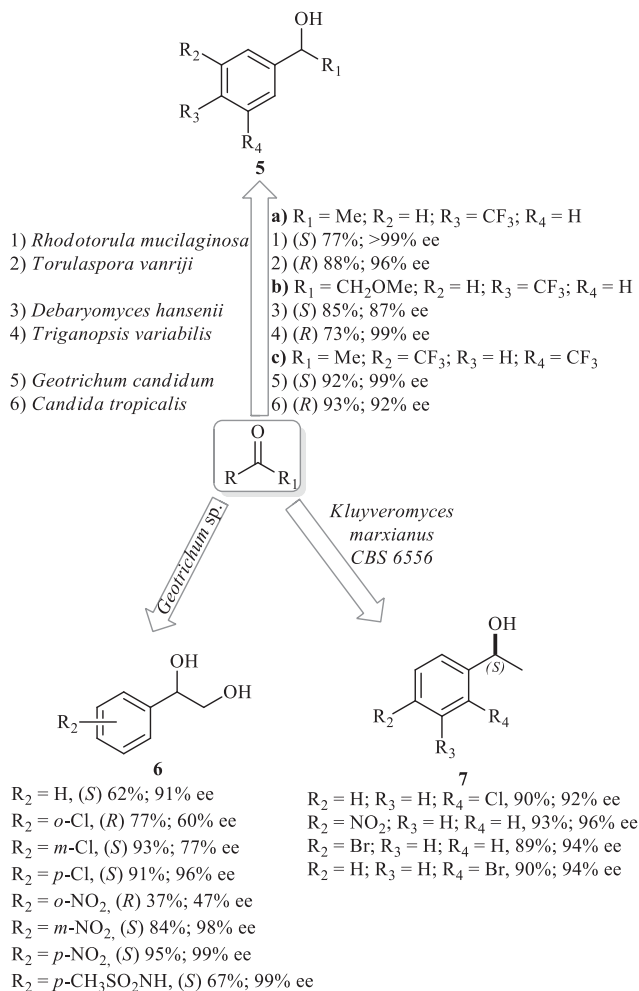
Skuteczność katalizy mikroorganizmami jest w dużym stopniu uwarunkowana budową substratu. Drożdże piekarskie nie reagują z małymi alifatycznymi ketonami, za wyjątkiem ketonów metylowych zawierających również alifatyczną resztę węglowodoru długołańcuchowego. Istotne jest, aby podstawniki przy karbonylowym atomie węgla różniły się wielkością, wtedy przeprowadzenie selektywnej katalizy jest możliwe [13]. Jednym z mikroorganizmów, który umożliwia selektywną redukcję najprostszych alifatycznych ketonów (na przykład pentan-2-onu, butan-2-onu, heksan-3-onu) jest grzyb *Geotrichum candidum*. Podobnie jak w przypadku drożdży piekarskich uzyskuje się alkohole o konfiguracji (S) (Schemat 5, **1a**). Zastosowanie tego samego mikroorganizmu z dodatkiem adsorbenta polimerowego Amberlit XAD-7, w reakcji innych ketonów aromatyczno-alifatycznych z dostępem tlenu atmosferycznego, prowadzi do alkoholu o konfiguracji (R) (Schemat 5, **1b**). Natomiast w warunkach beztlenowych otrzymano enancjomer o konfiguracji przeciwnej. Prawdopodobnie tlen atmosferyczny utlenia selektywnie (S)-alkohol do odpowiedniego ketonu, ponieważ proces ten, w przeciwieństwie do redukcji prowadzącej do (R)-enancjomeru, jest odwracalny [14]. Bromoalkohole o konfiguracji (R) otrzymano w reakcji redukcji mikroorganizmem *Rhodotorula rubra* z wysoką wydajnością i enancjoselektywnością. Najlepsze rezultaty uzyskano z zastosowaniem siarczanu laurylu jako środka powierzchniowo czynnego, w warunkach beztlenowych (w atmosferze argonu). Związki **2a** i **2b** (Schemat 5) używane są jako półprodukty w syntezie denopaminy i salmeterolu [15, 16]. Całe komórki korzenia marchwi (*Daucus carota*) również z powodzeniem stosowane są w bioredukcjach. Jest to nie tylko tania metoda, ale również bardzo skuteczna. Za pomocą dehydrogenaz zawartych w komórkach *D. carota* można redukować ketony alifatyczne, alifatyczno-aromatyczne, jak również cykliczne nie tylko z dobrą wydajnością, ale przede wszystkim selektywnie (Schemat 5, **3, 4**). W każdym przypadku uzyskano produkty o konfiguracji (S) [17].



Schemat 5. Selektowna redukcja ketonów alifatycznych  
 Scheme 5. Selective reduction of aliphatic ketones

Trifluorometylopodstawione aromatyczno-alifatyczne ketony zredukowano w obecności różnych mikroorganizmów otrzymując alkohole drugorzędowe o różnej konfiguracji absolutnej w zależności od użytego preparatu enzymatycznego. Otrzymane produkty **5** mają zastosowanie w farmakologii (Schemat 6). Związki **5a** i **5b** są stosowane jako leki przeciwwirusowe antagoniści receptora CC chemokin typu 5, natomiast **5c** jako lek przeciwdepresyjny antagonistą receptora neurokininowego NK1 [18]. 1,2-, 1,3-, 1,4- (*R*)-Podstawione hydroksymetyloetany zredukowano w obecności *Geotrichum sp.* do odpowiednich 1,2-dioli. Czystość optyczna, jak również konfiguracja absolutna otrzymanych produktów była uzależniona od położenia podstawnika w pierścieniu aromatycznym. W reakcji z 1,2-podstawionymi ketonami otrzymano (*R*)-diol z umiarkowanym nadmiarem enancjomerycznym, natomiast

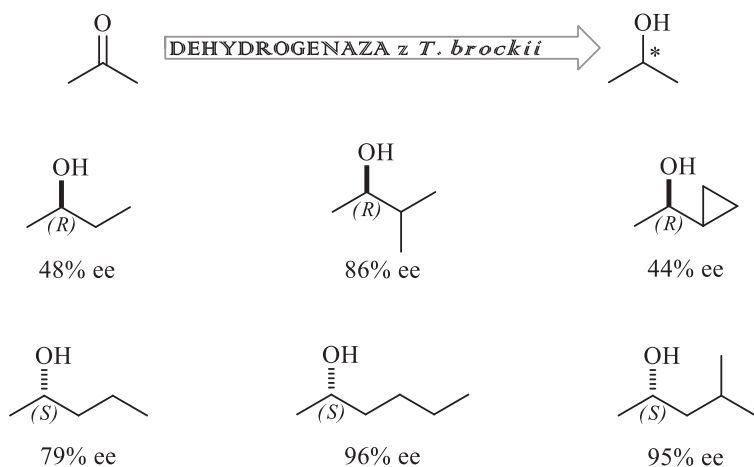
1,3- i 1,4-podstawione ketony dawały enancjomery o konfiguracji przeciwnej z dobrą lub bardzo dobrą czystością optyczną (Schemat 6, 6) [19]. Badano również stereoselektywność reakcji redukcji prochiralnych acetofenonów zawierających grupy elektronodonorowe (Me, OMe) lub elektroakceptorowe (Cl, Br, NO<sub>2</sub>). Redukcja acetofenonów zawierających podstawniki elektroakceptorowe w pozycji orto- lub para- za pomocą *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 zachodzi enancjoselektywnie ze znakomitą wydajnością dając odpowiednie alkohole o konfiguracji (S). Obecność podstawnika elektronodonorowego w pozycji para wpływa na pogorszenie selektywności (Schemat 6, 7) [20].



Schemat 6. Mikroorganizmy w reakcji redukcji ketonów aromatyczno-alifatycznych  
Scheme 6. Microorganisms in the reduction reaction of the aromatic-aliphatic ketones

## 2.2. ENZYMATYCZNA REAKCJA REDUKCJI PROSTYCH KETONÓW IZOLOWANYMI REDUKTAZAMI

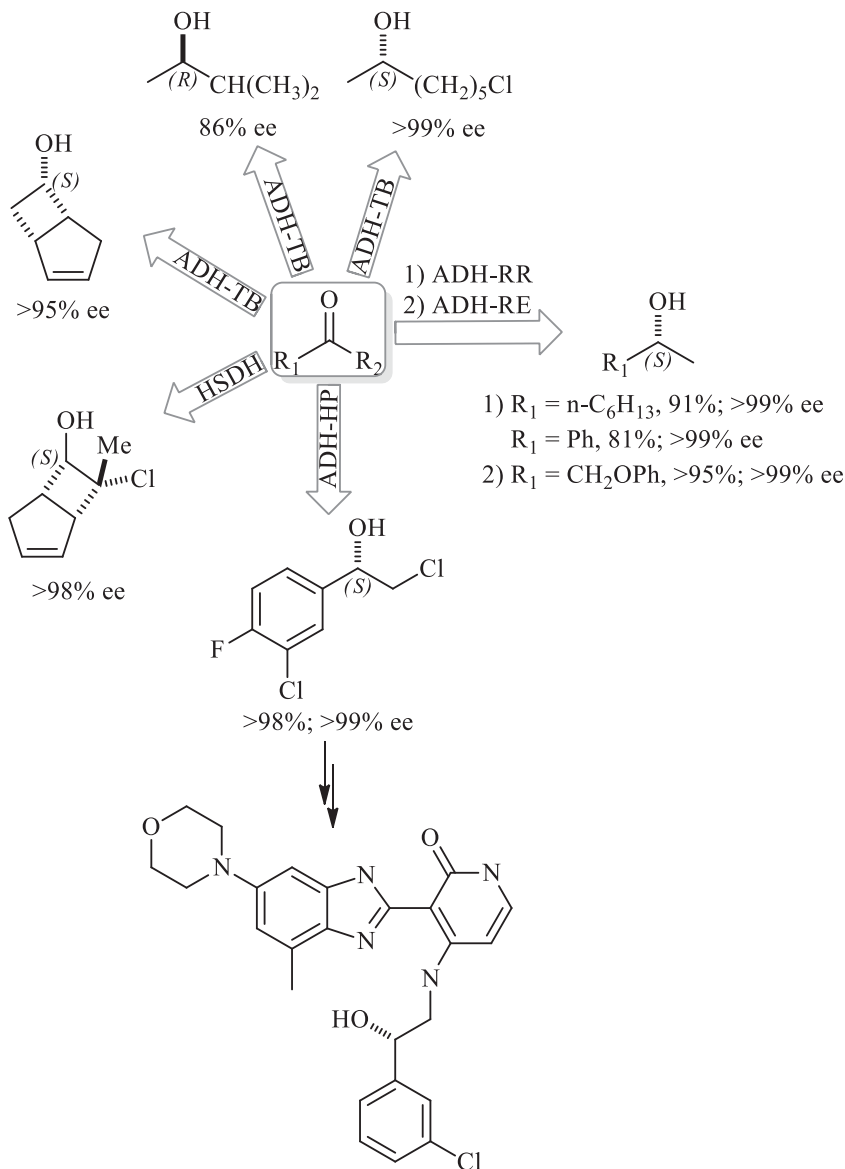
Zastosowanie wyizolowanych enzymów jak całych komórek do bioredukcji ketonów umożliwia uzyskanie drugorzędowych alkoholi o wysokiej czystości optycznej. W odróżnieniu do mikroorganizmów i komórek roślinnych, pojedyncze dehydrogenazy, wykazują specyficzną stereopreferencję, dlatego w sposób całkowicie selektywny można otrzymać określony enancjomer. Spośród całej gamy różnych dehydrogenaz, wybiera się enzymy (*R*)- lub (*S*)-stereospecyficzne, które prowadzą do otrzymania produktu zgodnego lub niezgodnego z regułą Preloga. Do grupy (*R*)-stereospecyficznych dehydrogenaz można zakwalifikować enzymy z *Pseudomonas* sp., *Lactobacillus kefir*, dehydrogenazę alkoholową z drożdży, dehydrogenazę alkoholową z końskiej wątroby, *Moraxella* sp., dehydrogenazę alkoholową z *Thermoanaerobium brockii*. Natomiast dehydrogenazy o (*S*)-stereopreferencji głównie izoluje się z *Geotrichum candidum*, *Mucor javanicus*, *Candida parapsilosis*. Nie należy jednak zapominać, że na enancjopreferencję biokatalizatorów, w dużym stopniu, ma wpływ budowa wyjściowego reagenta, jak również warunki prowadzenia reakcji. Przykładem dehydrogenazy, która w zależności od budowy substratu wykazuje zróżnicowaną stereopreferencję jest dehydrogenaza alkoholowa z *Thermoanaerobium brockii* (ADH-TB). Małe ketony (metylowo-etylowy, metylowo-izopropylowy czy metylowo-cyklopropylowy) są redukowane przez ADH-TB do (*R*)-enancjomerów, natomiast duże ketony są selektywnie przekształcane w alkohole o konfiguracji przeciwnej (Schemat 7) [21].



Schemat 7. Redukcja ketonów w obecności ADH-TB

Scheme 7. Reduction of ketones via ADH-TB

Na Schemacie 8 przedstawiono niektóre przykłady zastosowania wybranych dehydrogenaz w reakcji bioredukcji prostych ketonów [22–30].

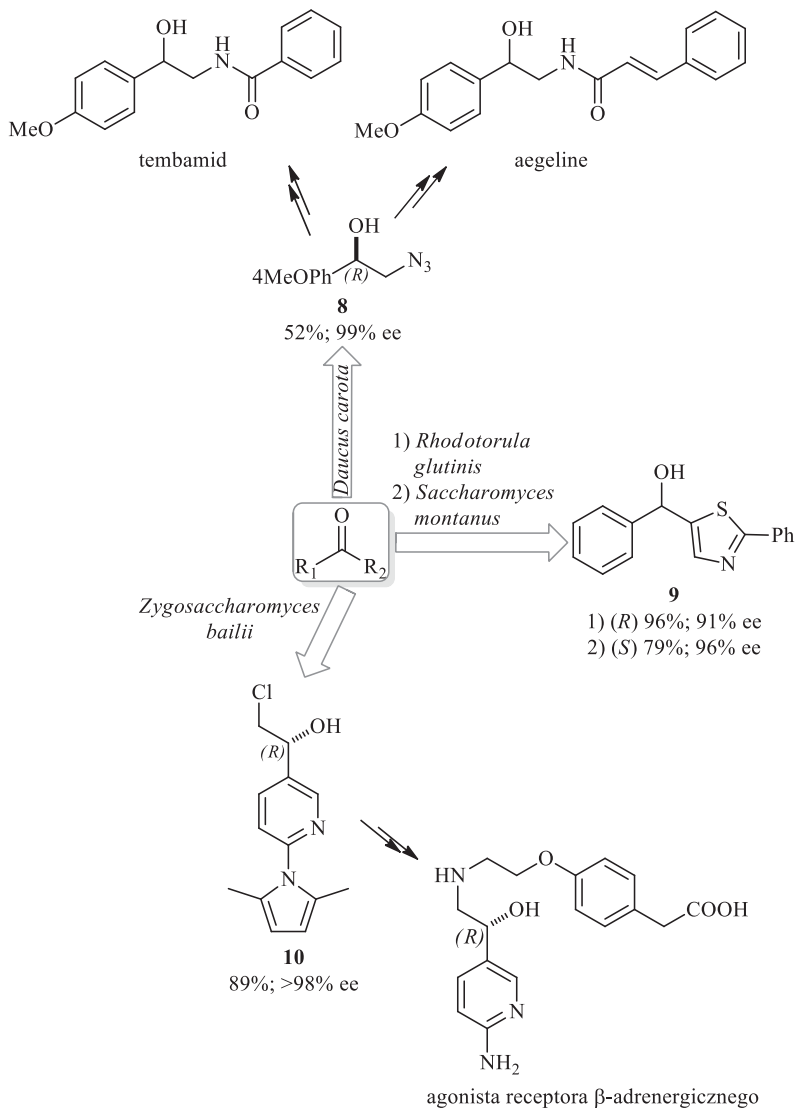


Schemat 8. Bioredukcja ketonów za pomocą dehydrogenazy ADH-HP, HSDH, ADH-TB, ADH-RR (dehydrogenaza alkoholowa z *Rhodococcus ruber*), ADH-RE (dehydrogenaza alkoholowa z *Rhodococcus erythropolis*)

Scheme 8. Bioreduction of ketones by various dehydrogenases ADH-HP, HSDH, ADH-TB, ADH-RR (alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus ruber*), ADH-RE (alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis*)

## 2.3. ENZYMATYCZNA REAKCJA REDUKCJI KARBONYLOWYCH ZWIĄZKÓW AZOTU

Obok prostych związków karbonylowych, dehydrogenazy izolowane lub zawarte w mikroorganizmach, komórkach roślinnych czy zwierzęcych mogą również selektywnie redukować ketony zawierające dodatkowe grupy funkcyjne.



Schemat 9. Reakcje redukcji katalizowane przez mikroorganizmy

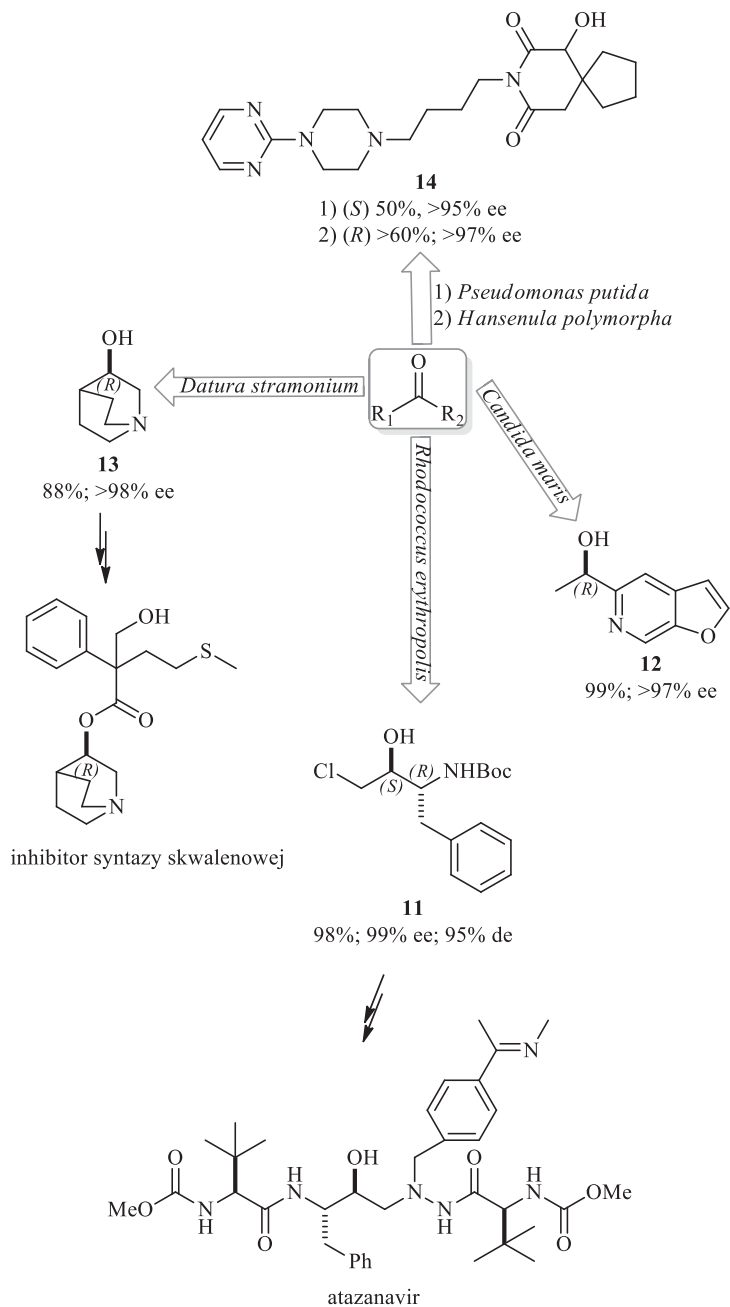
Scheme 9. Reduction reactions catalyzed by microorganisms



Substancje zawierające azot są szczególnie ważną grupą związków, ponieważ mają zastosowanie w farmakologii. Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja ketonów 2-azydo-1-arylowych katalizowana enzymami pochodzącymi z korzenia *D. carota* prowadzi do otrzymania odpowiednich chiralnych (*R*)-azydoalkoholi, które znalazły zastosowanie jako związki budulcowe do syntezy (*R*)-(-)-tembamidu (*N*-[2-hydroksy-2-(4-metoksyfenilo)etylo]benzamid) i (*R*)-(-)-aegeline (amid kwasu 2-hydroksy-2-(4-metoksyfenilo)etylo]cynamonowego) (Schemat 9, 8) [31]. Inne 2-azydo-1-arylowe pochodne (*R*)-alkoholi drugorzędowych uzyskano w reakcji bioredukcji drożdżami piekarskimi w obecności alkoholu allilowego jako inhibitora (*S*)-dehydrogenazy. W ten sposób powstają wyłącznie optycznie czyste (*R*)-izomery 2-azydo-1-aryloetanoli [32]. Rozbudowane przestrzennie ketony także z powodzeniem ulegają desymetryzacji katalizowanej drobnoustrojami. Podczas mikrobiologicznej redukcji w obecności *Saccharomyces ontanus* CBS 6772 i *Rhodotorula glutinis* var. *dairenensis* MUCL 30607 powstaje (*R*)- i (*S*)-1-fenilo-1-(2-fenylotiazol-5-yl)-metanol. *R. glutinis* var. *dairenensis* MUCL 30607 umożliwia otrzymanie enancjomeru o konfiguracji (*R*). Natomiast zastosowanie *S. ontanus* CBS 6772 prowadzi do (*S*)-produktu (Schemat 9, 9) [33]. W podobny sposób uzyskano chiralne pochodne  $\beta$ -chlorohydryny. Obecność mikroorganizmu *Zygosaccharomyces bailii* ATCC No. 38924 w reakcji redukcji 2-chloro-1-[6-(2,5-dimetylopirol-1-yl)-pirydyn-3-yl]etanonu zapewnia wysoką wydajność chemiczną i optyczną, dając enancjomerycznie czystą (*R*)-chlorohydrynę. Związek ten jest intermediatem w syntezie agonistów receptora  $\beta$ -adrenergicznego (Schemat 9, 10) [34].

Chlorohydryna **11** otrzymana w enzymatycznej reakcji asymetryzacji jest prekursorem atanazawiru. Atanazawir jest lekiem przeciwwirusowym będącym aza-peptydowym inhibitorem proteaz stosowanym w supresji wirusa HIV-1 (Schemat 10, 11) [35, 36]. Najlepszą czystość optyczną zapewniło użycie do reakcji szczepów *Rhodococcus* sp. oraz *Streptomyces nodosus* SC 13149. Inny związek azotu (*R*)-5-(1-hydroksyetylo)furo[2,3-*c*]pirydyna jest intermediatem w syntezie inhibitora odwrotnej transkryptazy wirusa HIV oraz chiralnym blokiem budulcowym w asymetrycznej syntezie (Schemat 10, 12). Spośród przetestowanych mikroorganizmów tylko szczep *Candida maris* IFO1003 umożliwił otrzymanie enancjomeru tego związku o konfiguracji (*R*) [37, 38]. W obecności reduktazy wyizolowanej z bielunia dziedzierzawy *Datura stramonium* otrzymano czysty optycznie aminoalkohol 3-chinuklidynol o konfiguracji (*R*) z wysoką wydajnością (Schemat 10, 13) [39]. Związek ten jest ważnym reagentem pośrednim w uzyskaniu związków biologicznie czynnych. Wykorzystuje się go między innymi do syntezy inhibitora syntazy skwalenowej. Mikrobiologiczna redukcja 6-oksobuspironu prowadzi do otrzymania (*R*)- i (*S*)-6-hydroksybuspironu o potencjalnych właściwościach przeciwłękowych (Schemat 10, 14) [40]. Spośród 150 przetestowanych mikroorganizmów *Rhizopus stolonifer* SC 13898, *R. stolonifer* SC16199, *Neurospora crassa* SC 13816, *Mucor racemosus* SC 16198, i *Pseudomonas putida* SC 13817 umożliwiają uzyskanie czystych optycznie enancjomerów o konfiguracji (*S*), natomiast szczepy drożdży *Hansenula*

*polymorpha* SC 13845 i *Candida maltosa* SC 16112 dają (*R*)-produkt z wysokim nadmiarem enancjomerycznym.

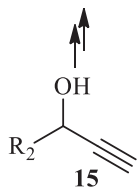
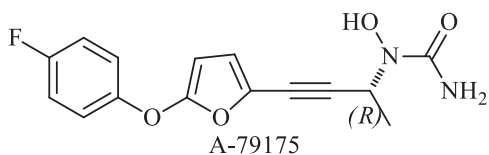


Schemat 10. Enancjoselektywna mikrobiologiczna redukcja ketonów

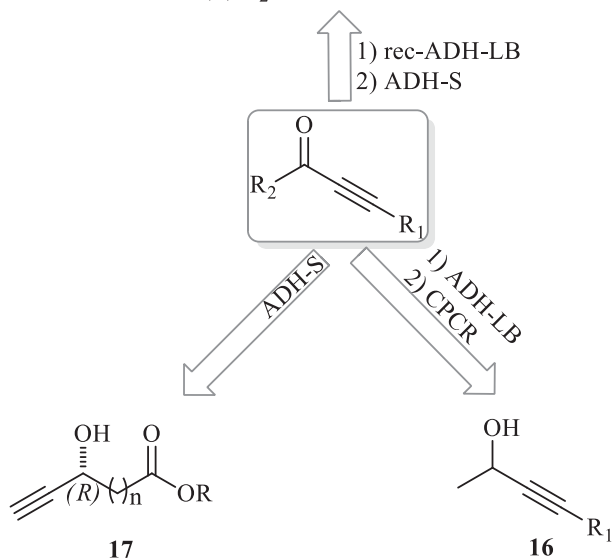
Scheme 10. Enantioselective microbial reduction of ketones

## 2.4. ENZYMATYCZNA REAKCJA REDUKCJI KETONÓW ACETYLENOWYCH

Związki z wiązaniem potrójnym są chętnie stosowane w chemii organicznej szczególnie w tzw. chemii „click”. Koncepcja ta została wprowadzona stosunkowo niedawno przez Sharpless’a w 2001 roku. Proces polega na szybkim generowaniu substancji przez łączenie małych jednostek razem. Reakcja zachodzi tylko w określonym kierunku, stereospecyficznie oraz z bardzo dużą wydajnością. Aby móc reakcję chemiczną zaliczyć do reakcji typu chemii „click” to jej główny produkt musi być łatwy do oczyszczenia i rozdzielenia od pozostałych, które powstają w nieznaczącej ilości. Sztandarowym przykładem reakcji chemii „click” jest cykloaddycja Huisgena katalizowana jonami miedzi(I) terminalnych alkinów z azydami organicznymi, która umożliwia otrzymanie 1,4-dipodstawionych 1,2,3-triazoli [41, 42]. Ketony acetylenowe w enzymatycznej desymetryzacji, w obecności dehydrogenaz są chemo-selektywnie przekształcane do odpowiednich alkoholi propargilowych. Różne ketony propargilowe zredukowano w obecności dehydrogenaz otrzymując alkohole o konfiguracji (*R*) lub (*S*) w zależności od zastosowanej dehydrogenazy. Dla przykładu, dehydrogenaza alkoholowa *Lactobacillus brevis* (rec-ADH-LB) jest *R*-stereospecyficzna, natomiast reduktaza karbonylowa z *Candida parapsilosis* (CPCR) oraz drugorzędowe dehydrogenazy alkoholowe (ADH-S) z *Thermoanaerobacter ethanolicus* są (*S*)-stereospecyficzne. W wyniku reakcji redukcji ketonów propargilowych z zabezpieczoną grupą acetylową w większości przypadków, w obecności dehydrogenazy rec-ADH-LB z rekombinatu *E. coli* otrzymano produkty o konfiguracji *R*, podczas gdy dehydrogenazy CPCR oraz ADH-S dają (*S*)-enancjomery. Jeśli jednak podstawnik *R* jest większy objętościowo i grupa acetylenowa nie jest zabezpieczona, dehydrogenazy rec-ADH-LB i ADH-S dają enancjomery o konfiguracji przeciwnej, enancjomery (*S*) ( $R_2 > \text{Me}$ ), ADH-S enancjomery (*R*) ( $R_2 > \text{Pr}$ ) (Schemat 11, 15) [43]. Generalnie jednak ketony z niezabezpieczoną grupą acetylenową z dodatkowo niewielką grupą *R*, na przykład metylową, są redukowane mało selektywnie. Dla większych objętościowo podstawników obserwuje się poprawę enancjoselektywności. Dehydrogenazy preferencyjnie atakują jedną ze stron prochiralnego ketonu, jeśli jest duża różnica pomiędzy podstawnikami przy karbonylowym atomie węgla. Dlatego ketony z resztami aryłowymi lub grupami silylowymi zabezpieczającymi grupę acetylenową są redukowane z wyjątkową selektywnością do czystych optycznie alkoholi (Schemat 11, 16) [44]. Natomiast w przypadku ketoestrów etynylowych selektywność reakcji redukcji była uzależniona od wielkości reszty acylowej oraz ilości grup metylenowych pomiędzy karbonylowym atomem węgla i resztą estrową. Redukcja przebiega z wysoką czystością optyczną i wydajnością chemiczną im więcej jest reszt metylenowych ( $n > 2$ ) i większy objętościowo acyl (Schemat 11, 17) [45]. Grupa estrowa pełni istotną rolę w miejscu aktywnym dehydrogenaz, dlatego niezależnie od wielkości reszty alkoholowej w obecności ADH-S otrzymano tylko enancjomery o konfiguracji (*R*).



- 1) (*S*)  $R_2 = \text{Et}$ , 90%; 34% ee  
 (*S*)  $R_2 = \text{nPr}$ , 100%; >99% ee  
 (*S*)  $R_2 = \text{nPn}$ , 100%; >99% ee  
 2) (*S*)  $R_2 = \text{Et}$ , 32%; 80% ee  
 (*S*)  $R_2 = \text{iPr}$ , 50%; >98% ee  
 (*R*)  $R_2 = \text{iBu}$ , 20%; 50% ee  
 (*R*)  $R_2 = \text{iPn}$ , 55%; 80% ee



$R = \text{iPr}$ ,  $n = 2$ , 88%; >98% ee  
 $R = \text{Et}$ ,  $n = 3$ , 76%; 97% ee  
 $R = \text{Me}$ ,  $n = 4$ , 68%; >98% ee

**a)**  $R_1 = \text{Ph}$   
 1) (*R*) >99%; >99% ee  
 2) (*S*) 80%; >99% ee  
**b)**  $R_1 = \text{SiMe}_2\text{Ph}$   
 1) (*R*) 60%; >99% ee  
 2) (*S*) 80%; >99% ee

Schemat 11. Redukcja dehydrogenazą ketonów acetylenowych

Scheme 11. Dehydrogenase-reduction of acetylene ketones

## UWAGI KOŃCOWE

Od wielu lat powszechne jest poszukiwanie wydajnych i opłacalnych metod otrzymywania czystych enancjomerów. W przedstawionej pracy opisano metody redukcji enzymatycznej prochiralnych związków karbonylowych. Zastosowany w przytaczanych reakcjach enzym to dehydrogenaza alkoholowa, używana w postaci izolowanego enzymu lub też bez wyodrębniania, w postaci całych komórek bakterii, grzybów lub roślin.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G.A.Ed. Molander, G. Thieme, *Science of Synthesis, Stereoselective Synthesis 2*, Stuttgart, New York 2011.
- [2] K. Nakamura, R. Yamanaka, T. Matsudab, T. Haradab, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 2659.
- [3] T. Sato, Y. Okumura, J. Itai, T. Ujisawa, *Chem. Lett.*, 1988, **17**, 1537.
- [4] R. MacLeod, H. Prosser, L. Fikentscher, J. Lanyi, H.S. Mosher, *Biochemistry*, 1964, **3**, 838.
- [5] R. Bernardi, P. Bravo, R. Cardillo, D. Ghiringhelli, G. Resnati, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1988, 283.
- [6] M. Iwamoto, H. Kawada, T. Tanaka, M. Nakada, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 7239.
- [7] R.N. Patel, A. Goswami, L. Chu, M.J. Donovan, V. Nanduri, S. Goldberg, R. Johnston, P.J. Siva, B. Nielsen, J. Fan, W.X. He, Z. Shi, K.Y. Wang, R. Eiring, D. Cazzulino, A. Singh, R. Mueller, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**, 1247.
- [8] C.V.C. Prasad, S. Vig, D.W. Smith, Q. Gao, C.T. Polson, J.A. Corsa, V.L. Guss, A. Loo, D.M. Barten, M. Zheng, K.M. Felsenstein, S.B. Roberts, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, **14**, 3535.
- [9] D. Schenk, D. Games, P. Seubert, *J. Mol. Neurosci.*, 2001, **17**, 259.
- [10] Z. Guo, Y. Chen, A. Goswami, R.L. Hanson, R.N. Patel, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 1589.
- [11] S. Kawano, M. Horikawa, Y. Yasohara, J. Hasegawa, Biosci., *Biotechnol., Biochem.*, 2003, **67**, 809.
- [12] R.N. Patel, L. Chu, R. Mueller, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 3105.
- [13] R.N. Patel, *Adv. Synth. Catal.*, 2001, **343**, 527.
- [14] K. Nakamura, K. Takenaka, M. Fujii, Y. Ida, *Tetrahedron Lett.*, 2002, **43**, 3629.
- [15] A. Goswami, R.L. Bezbaruah, J. Goswami, N. Borthakur, D. Dey, A.K. Hazarika, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 3701.
- [16] J. Goswami, R.L. Bezbaruah, A. Goswami, N. Borthakur, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**, 3343.
- [17] J.S. Yadav, S. Nanda, P.T. Reddy, A.B. Rao, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 3900.
- [18] M.J. Homann, R.B. Vail, E. Previte, M. Tamarez, B. Morgan, D.R. Dodds, A. Zaks, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 789.
- [19] Z.-L. Wei, G.-Q. Lin, Z.-Y. Li, *Bioorg. Med. Chem.*, 2000, **8**, 1129.
- [20] P. Vitale, C. D'Introno, F.M. Perma, M.G. Perrnone, A. Scilimati, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2013, **24**, 389.
- [21] K. Faber, *Biotransformations in organic chemistry*, Springer, Berlin, 1992.
- [22] W. Stampfer, B. Kosjek, C. Moitzi, W. Kroutil, K. Faber, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 1014.
- [23] M. Wittman, J. Carboni, R. Attar, B. Balasubramanian, P. Balimane, P. Brassil, F. Beaulieu, C. Chang, W. Clarke, J. Dell, J. Eummer, D. Frennesson, M. Gottardis, A. Greer, S. Hansel, W. Hurlburt, B. Jacobson, S. Krishnananthan, F.Y. Lee, A. Li, T.-A. Lin, P. Liu, C. Ouellet, X. Sang, M.G. Saul-

- nier, K. Stoffan, Y. Sun, U. Velaparthy, H. Wong, Z. Yang, K. Zimmermann, M. Zoeckler, D. Vyas, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 5639.
- [24] R.L. Hanson, S. Goldberg, A. Goswami, T.P. Tully, R.N. Patel, *Adv. Synth. Catal.*, 2005, **347**, 1073.
- [25] S. Butt, H.G. Davies, M.J. Dawson, G.C. Lawrence, J. Leaver, S.M. Roberts, M.K. Turner, B.J. Wakefield, W.F. Wall, J.A. Winders, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1987.
- [26] W. Hummel, K. Abokitse, K. Drauz, C. Rollmann, H. Gröger, *Adv. Synth. Catal.*, 2003, **345**, 153.
- [27] D. Zhu, Y. Yang, L. Hua, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 4202.
- [28] E. Burda, W. Hummel, H. Gröger, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 9551.
- [29] T. Matsuda, T. Harada, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 157.
- [30] T. Ema, H. Moriya, T. Kofukuda, T. Ishida, K. Maehara, M. Utaka, T. Sakai, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 8682.
- [31] J.S. Yadav, P.T. Reddy, S. Nanda, A.B. Rao, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**, 3381.
- [32] J.S. Yadav, S. Nanda, P. Thirupathi Reddy, A. Bhaskar Rao, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 3900.
- [33] S. Roy, V. Alexandre, M. Neuwels, L. Le Texier, *Adv. Synth. Catal.*, 2001, **343**, 738.
- [34] M.P. Burns, J.W. Wong, *Chem. Abstr.*, 2002, **137**, 2466.
- [35] G. Bold, A. Fässler, H.-G. Capraro, R. Cozens, T. Klimkait, J. Lazdins, J. Mestan, B. Poncioni, J. Rösel, D. Stover, M. Tintelnot-Blomley, F. Acemoglu, W. Beck, E. Boss, M. Eschbach, T. Hürliemann, E. Masso, S. Roussel, K. Ucci-Stoll, D. Wyss, M. Lang, *J. Med. Chem.*, 1998, **41**, 3387.
- [36] B.S. Robinson, K.A. Riccardi, Y.-F. Gong, Q. Guo, D.A. Stock, W.S. Blair, B.J. Terry, C.A. Deminie, F. Djang, R.J. Colonna, P.-F. Lin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, **44**, 2093.
- [37] E.N. Kadnikova, N.M. Kostić, *J. Non-Cryst. Solids*, 2001, **63**, 283.
- [38] E.N. Kadnikova, N.M. Kostić, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 2600.
- [39] H. Yamamoto, M. Ueda, P. Ritsuzui, T.E. Hamatani, *Chem. Abstr.*, 2003, **139**, 35200.
- [40] R.N. Patel, L. Chu, V.N. Nanduri, L. Jianqing, A. Kotnis, W.L. Parker, M. Liu, R. Mueller, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 2778.
- [41] C. Spiteri, J.E. Moses, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **49**, 31.
- [42] M. Meldal, C.W. Tornøe, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 2952.
- [43] T. Kolasa, A.O. Stewart, C.D.W. Brooks, *Tetrahedron Asymmetry*, 1996, **7**, 729.
- [44] T. Schubert, W. Hummel, M.-R. Kula, M. Müller, *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, **22**, 4181.
- [45] C. Heiss, R. S. Phillips, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2000, 2821.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 czerwca 2014



# POLIMERY Z ODCISKIEM MOLEKULARNYM JAKO BIOMIMETYKI METALOENZYMÓW

## MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS AS BIOMIMETICS OF METALLOENZYMES

**Joanna Czulak\*, Andrzej Trochimczuk,  
Anna Jakubiak-Marcinkowska**

*Zakład Materiałów Polimerowych i Węglowych, Wydział Chemiczny,  
Politechnika Wroclawska  
ul. C.K. Norwida 4/6, 50-373 Wrocław  
\*e-mail: joanna.czulak@pwr.edu.pl*

---

Abstract

Wstęp

1. Biomimetyki metaloenzymów

- 1.1. Układy zawierające w swoim centrum aktywnym jony Cu(II)
- 1.2. Układy zawierające w swoim centrum aktywnym jony Co(II)
- 1.3. Układy zawierające w swoim centrum aktywnym jony Zn(II)
- 1.4. Układy zawierające w swoim centrum aktywnym jony Ni(II)
- 1.5. Układy zawierające w swoim centrum aktywnym jony Fe(III)

Piśmiennictwo cytowane

---



**Mgr inż. Joanna Czulak** ukończyła studia na kierunku Technologia Chemiczna na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej w 2010 roku. W tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie na kierunku Chemia. W ramach badań zajmuje się syntezą oraz badaniem polimerów z odciskiem molekularnym do zastosowań w katalizie oraz analityki. Jej badania skupiają się głównie na biomimetykach metaloenzymów oraz sorbentach beta-blokerów.



**Prof. dr hab. inż. Andrzej Trochimczuk** (r. 1959), absolwent Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej z roku 1983 roku. Doktorat (1990) i habilitację (2001) uzyskał na macierzystym Wydziale, a w roku 2008 otrzymał tytuł profesora nauk chemicznych. Specjalista w zakresie chemii polimerów, syntezy polimerów specjalnych, takich jak jonity, żywice chelatujące i adsorbenty, a także w zakresie technik separacyjnych wykorzystujących te materiały. Opublikował ponad 150 prac, które były cytowane w literaturze ponad 1100 razy.



**Dr inż. Anna Jakubiak-Marcinkowska** ukończyła studia na kierunku Biotechnologia na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej w 2003 roku. W 2008 roku uzyskała tytuł doktora nauk chemicznych w dyscyplinie biotechnologia, specjalności biotechnologia molekularna, po czym w tym samym roku rozpoczęła pracę w Zakładzie Materiałów Polimerowych i Węglowych Politechniki Wrocławskiej. Jej zainteresowania naukowe dotyczą głównie polimerów specjalnych – metod ich syntezy oraz możliwości wykorzystania jako m.in. katalizatory, sorbenty, sensory, nośniki enzymów i substancji biologicznie aktywnych. Od czasów studiów doktoranckich głównym tematem prowadzonych przez nią badań są układy polimerowe naśladujące cząsteczki naturalne dla zastosowań w ochronie środowiska, chemii organicznej, medycynie i farmacji.

## ABSTRACT

This paper presents methods of the synthesis and applications of biomimetic catalytic systems produced from molecularly imprinted polymers (MIP). MIPs contain cavities, which are complementary to the imprinted template, thus possess high selectivity and affinity for the molecules resembling template. MIPs have various applications such as: sorption, chromatography, solid phase extraction, drugs transport and catalysis. However, this article is a review of catalytic systems containing in their active sides one of the selected metal ions: copper(II), cobalt(II), zinc(II), iron(III) or nickel(II). Presented catalytic systems are used in hydrolysis, oxidations, hydrogenations and aldol condensation reactions. This review deals with papers published till 2013.

Keywords: molecularly imprinted polymers, biomimetic catalytic systems, hydrolysis, oxidations, hydrogenations, aldol condensations

Słowa kluczowe: polimery z odciskiem molekularnym, biomimetyki metaloenzymów, kataliza, reakcjach hydrolizy, reakcje utleniania, reakcje uwodornienia, kondensacja aldolowa

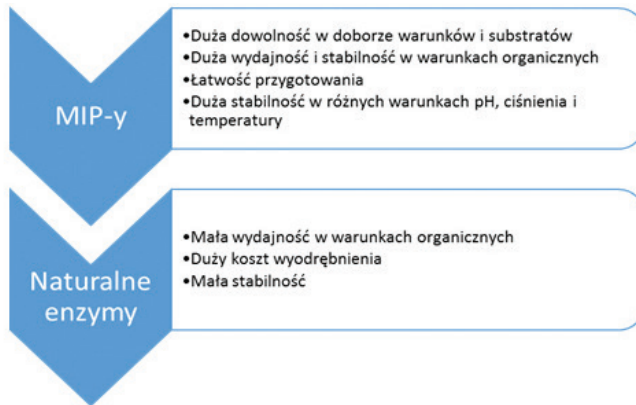
---

---

## WSTĘP

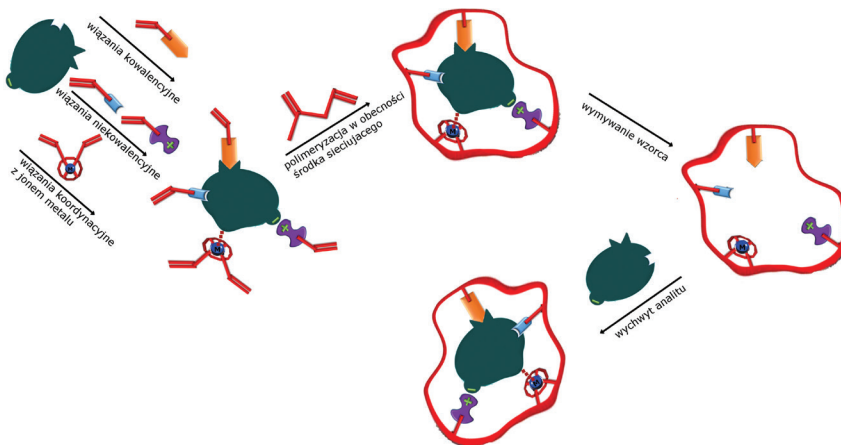
Znakomita większość reakcji chemicznych wykorzystywanych przemysłowo to reakcje katalizowane. Stąd też w wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania dotyczące syntezy nowych katalizatorów oraz ulepszania już znanych układów katalitycznych. Jednocześnie obserwuje się stałą tendencję dostosowywania się do zasad 'zielonej chemii'. W syntezie chemicznej i katalizie polega to na takim dopasowaniu układu katalitycznego by reakcja mogła zachodzić z bardzo dobrą wydajnością oraz selektywnością w możliwie najniższej temperaturze oraz, jeśli to możliwe, w układzie bez rozpuszczalnika lub w rozpuszczalniku przyjaznym środowisku. W tym obszarze badań enzymy cieszą się powszechnym zainteresowaniem ze względu na zdolność katalizowania różnych reakcji oraz ich selektywność. Dodatkowo reakcje takie mogą przebiegać w temperaturach tylko nieznacznie wyższych od temperatury pokojowej. Dzięki temu enzymy mają szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym i poza nim [1, 2]. Jedną z ciekawych grup enzymów są oksydoreduktazy, które wykorzystuje się m.in. w przemyśle piekarniczym, mleczarskim i piwowarskim. Największym zainteresowaniem cieszą się hydrolazy, które oprócz wyżej wymienionych zastosowań mają duży udział przy produkcji soków, karmy dla zwierząt [3], jedzenia dla niemowląt, w przemyśle tekstylnym [4], przemyśle papierniczym oraz przy wytwarzaniu kosmetyków, środków do prania, pozostałych detergentów czyszczących, w procesach oczyszczania wody oraz w przemysłowych reakcjach polimeryzacji. Jednak z wykorzystaniem enzymów wiążą się liczne problemy, jak na przykład trudność ich izolacji, a co za tym idzie duże koszty, dezaktywacja enzymów w pH odbiegającym znacząco od pH natywnego, temperatury lub pod wpływem organicznych rozpuszczalników (Rys. 1). Wady te można wprawdzie ograniczyć np. poprzez immobilizację enzymów na nierozpuszczalnych nośnikach, ale zwykle wiąże się to ze zmniejszeniem aktywności enzymu i problemem stabilności układu nośnik-enzym w czasie. Interesującym rozwiązaniem problemu jest zsyntetyzowanie sztucznych analogów enzymów, które nie posiadając wad enzymów natywnych związanych z podatnością na denaturację, będą działać ze zbliżoną do nich efektywnością i selektywnością. W taki sposób rozpoczęto badania nad polimerowymi matrycami z odciskiem molekularnym MIP (ang. *Molecularly Imprinted Polymers*). W MIP-ach starano się odtworzyć centrum aktywne enzymów poprzez przestrzenne uporządkowanie grup funkcyjnych polimeru wokół cząsteczki wzorca.

W literaturze jest dostępnych kilka artykułów przeglądowych, poruszających tematykę syntezy i zastosowania układów MIP [5–12]. Technika wdrażania molekularnego znalazła szerokie zastosowanie, między innymi przy syntezie materiałów do chromatograficznego rozdzielania enancjomerów z mieszanin racemicznych, w sensoryce [10], w analizie sorpcyjnej, ekstrakcji i zateżaniu substancji. MIP-y wykorzystuje się również przy wykrywaniu antybiotyków i innych związków opartych na konkurencyjnej wymianie grup, które są zdolne do fluorescencji [13] z miejsc wiążących w matrycy polimerowej, a także jako selektywne nośniki leków, uwalniające substancję czynną w pożądanym miejscu [11, 14, 15].



Rysunek 1. Porównanie właściwości naturalnych biocząsteczek oraz układów MIP [16]  
 Figure 1. Comparison of the properties of native biomolecules and MIPs [16]

Technika wdrukowywania molekularnego polega na polimeryzacji monomeru funkcyjnego (lub monomerów) z monomerem sieciującym w obecności wzorca oraz porotwórczego rozpuszczalnika [17]. Dzięki obecności porów w matrycy polimerowej jest możliwe usunięcie wzorca poprzez ekstrakcję odpowiednim rozpuszczalnikiem lub zmianę pH. W końcowym etapie powstają wnęki katalityczne komplementarne kształtem i funkcjonalnością do odciskanego wzorca (Rys. 2).



Rysunek 2. Mechanizm wdrukowywania molekularnego [17]  
 Figure 2. Schematic illustration of molecular imprinting technique [17]

Jedną z obiecujących technik wdrukowywania jest odcisk powierzchniowy, polegający na polimeryzacji emulsji W/O. Emulsja ta jest stabilizowana przez alifatyczny surfaktant, który tworzy na granicy faz kompleks z wzorcem i monomerami funkcyjnymi, co pozwala na odpowiednią ich orientację w przestrzeni. Wprowadzając dodatkową fazę wodną (emulsja W/O/W) możliwe jest otrzymanie sferycznych

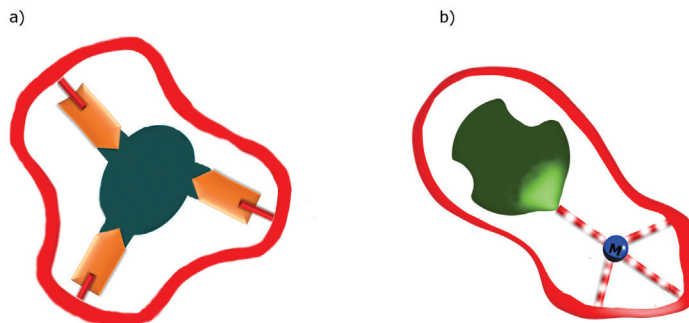
kulek polimerowych, bez konieczności kruszenia i przesiewania powstałego polimeru. Dodatkowo pozwala to na umieszczenie wnęk wiążących na powierzchni matrycy polimerowej, ułatwiając tym samym dotarcie do nich substratu i wyeliminowanie problemów z dyfuzją do wnętrza matrycy.

Podstawowy podział monomerów funkcyjnych obejmuje ich charakter chemiczny. Możemy wyróżnić monomery kwasowe, zasadowe i obojętne. Dobór odpowiedniego rodzaju monomeru dyktowany jest, między innymi przez rodzaj użytego wzorca i analizowanej substancji. Monomer sieciujący odgrywa kluczową rolę, ponieważ w zależności od jego ilości można uzyskać różne właściwości fizykochemiczne i morfologię polimeru (m.in.: całkowitą powierzchnię aktywną, objętość i średnicę porów, stopień pęcznienia polimeru oraz sztywność matrycy polimerowej) [18, 19]. Jedną z wielu zalet techniki wdrukowywania molekularnego jest fakt, że wdrukowywaniu może ulegać bardzo wiele związków (wzorców). Natomiast rozpuszczalniki, nie biorące udziału w procesie polimeryzacji (porogeny), wpływają zarówno na dynamikę procesu wdrukowywania jak i na budowę fizyczną polimeru i związane z tym cechy układów MIP (struktura porów, rozkład wielkości porów, pęcznienie, morfologia, odporność na obciążenia dynamiczne [17]).

W zależności od zastosowanych reagentów i warunków wdrukowywania molekularnego, możemy uzyskać różne rodzaje wiązań we wnękach polimeru: kowalencyjne, niekowalencyjne, wiązania koordynacyjne z jonami metali w centrum aktywnym. W przypadku enzymów reaktywne centra z jonem metalu są umieszczone w cząsteczce białka w ściśle zdefiniowanym miejscu, kompensując brak selektywności jonów metalu. MIP-y o dużym stopniu usieciowania z jonem metalu w centrum aktywnym są idealnymi matrycami do prowadzenia katalizowanych reakcji, z jonem metalu przejściowego, jako że dostęp do substratu jest ograniczony przez szkielet polimeru i geometrię miejsc aktywnych. Kombinacja immobilizowanego metalu przejściowego z układami MIP tworzy system katalityczny bardzo zbliżony do tych istniejących w metaloenzymach, jako że proces katalityczny jest kontrolowany przez warunki koordynacyjne panujące w dobrze zdefiniowanej wnęce. Powstała wnęka z odpowiednim jonem metalu powinna stabilizować stan przejściowy znacznie silniej niż stan podstawowy substratów oraz produktów, zapobiegając inhibicji wnęki [6]. Można spotkać się z dwoma głównymi strategiami tworzenia układów MIP o właściwościach katalitycznych: pierwsza to wprowadzanie do wnęki odpowiednich grup funkcyjnych aktywnych katalitycznie i zdolnych do wychwytu substratu, natomiast druga metoda opiera się na immobilizacji jonu metalu lub kompleksu metalu o małej masie, który już sam w sobie wykazuje właściwości katalityczne [20, 21]. W przypadku drugiej metody następuje znaczny wzrost selektywności i aktywności powstałych w ten sposób biomimetyków enzymów, co znacznie zwiększa jej atrakcyjność. Dodatkowo w bliskim sąsiedztwie jonów metalu (kompleksu zawierającego jon metalu), tworzy się wnęka zdolna do wychwytu substratu (Rys. 3), poprzez wdrukowywanie kompleksu metal-wzorec. Tak wytworzone polimerowe analogi enzymów znalazły zastosowanie w wielu reakcjach takich jak: dehydrofluorowanie,



hydroliza, reakcje Dielsa–Aldera, kondensacja aldolowa, izomeryzacja, reakcje stereoselektywne i regioselektywne [5, 16, 19, 22–24].



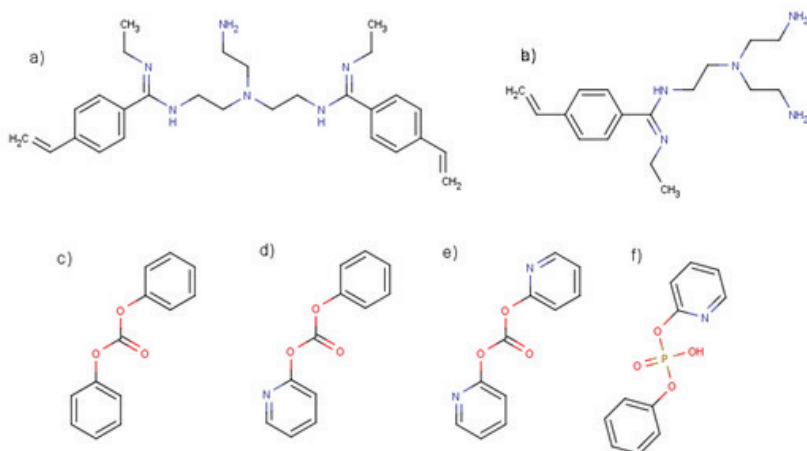
Rysunek 3. Strategie tworzenia układów MIP o właściwościach katalitycznych: a) tworzenie wnęki z grupami funkcyjnymi aktywnymi katalitycznie przy użyciu stabilnego analogu stanu przejściowego, b) wdrukowywanie kompleksu metal–wzorzec

Figure 3. Strategies for creating of MIP with catalytic properties: a) formation of the cavity with catalytically active functional groups using the stable transition state analogue, b) imprinting of metal-templated complex

## 1. BIOMIMETYKI METALOENZYMÓW

### 1.1. UKŁADY ZAWIERAJĄCE W SWOIM CENTRUM AKTYWNYM JONY $\text{Cu(II)}$

Układy z jonami miedzi wykazują dużą stabilność i często dużo lepszą aktywność katalityczną w porównaniu do układów zawierających inne metale. Zespół Wulffa, próbując wytworzyć system katalityczny zbliżony swoją budową do karboksypeptydazy A, zastąpił jony cynku(II), występujące naturalnie w tym enzymie, jonami miedzi(II) w celu utworzenia bardziej stabilnego kompleksu między monomerami, wzorcem oraz jonem metalu [25]. Przeprowadzono reakcję hydrolizy trzech różnych substratów węglanowych: węglanu difenyłu (Rys. 4c), węglanu fenylo-2-pirydylowego (Rys. 4d) oraz węglanu di-2,2-pirydylowego (Rys. 4e) na katalizatorze zsyntetyzowanym w obecności stabilnego analogu stanu przejściowego (fosforan fenylo-2-pirydylowy, Rys. 4f). Jako monomer funkcyjny zastosowano pochodną winylobenzamidyny (Rys. 4a), zawierającą trzy atomy azotu zdolne do tworzenia wiązań koordynacyjnych z jonem miedzi(II), dzięki czemu uzyskano dwufunkcyjny katalizator (PCu4a,4f – liczby oznaczają kolejno monomer a oraz wzorzec f).

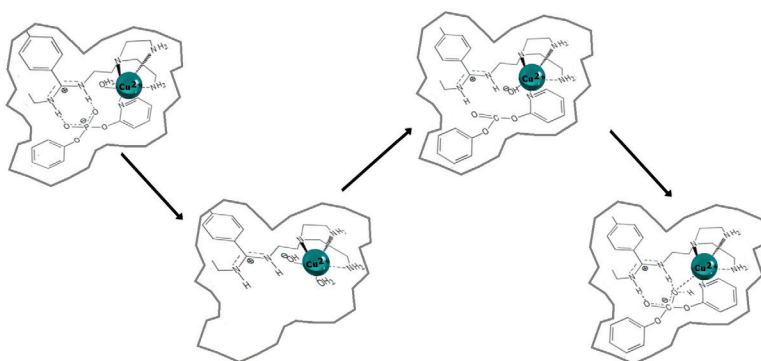


Rysunek 4. Wzory związków użytych do syntezy MIP-ów oraz substratów wykorzystanych w reakcjach katalizy [25, 26]

Figure 4. Compounds used in the synthesis of described MIPs and substrates used in catalytic reactions [25, 26]

Reakcję prowadzono w mieszaninie buforu HEPES i acetonitrylu (1:1, pH = 7,3) w temperaturze 20°C. Dla porównania przeprowadzono reakcje bez katalizatorów (w środowisku buforu) lub w obecności polimerów kontrolnych zsyntetyzowanych bez udziału wzorca (CPCu4a).

Zastosowanie nowych substratów, zawierających jedną lub dwie grupy pirydylowe (Rys. 4d i 4e) pozwoliło na lepsze ich związanie w centrum aktywnym. W trakcie katalizowanej reakcji najpierw następuje atak grupy hydroksylowej na węgiel grupy karbonylowej substratu. Następnie protonowa forma grupy amidynowej aktywuje całą grupę karbonylową (Rys. 5).



Rysunek 5. Mechanizm tworzenia odcisku molekularnego oraz reakcji katalizowanej w biomimetykach karboksypeptydazy A [25]

Figure 5. The mechanism of formation of molecularly imprinted polymers and reaction catalyzed with biomimetics of carboxypeptidase A [25]

Tabela 1. Porównanie wyników reakcji hydrolizy dla polimerów kontrolnych i biomimetyków karboksypeptydazy A z jonami Cu(II) w zależności od użytego substratu [25, 26]

Table 1. Comparison of the hydrolysis reaction's results for control polymers and biomimetics of carboxypeptidase A with Cu (II) ions, according as the chosen substrate [25, 26]

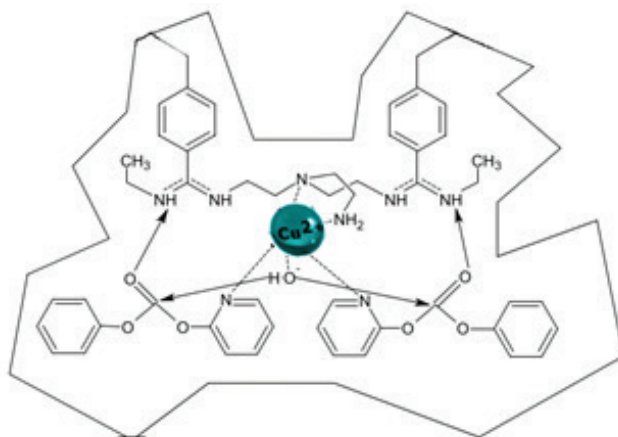
Polimer (zastosowany monomer/wzorzec)	Substrat (rys.)	$k_{\text{impr}}/k_{\text{soln}}$	$k_{\text{impr}}/k_{\text{kont}}$	$k_{\text{kat}}/k_{\text{soln}}$	$k_{\text{kat}}^{[\text{min}^{-1}]}$	$K_m$ [mM]
PCu(4a/4f)	4c	8 015	49,0	–	–	–
PCu(4a/4f)	4d	15 700	76,9	75 700	2,87	0,65
CPCu(4a)	4d	–	–	946	0,035	4,25
PCu(4a/4f)	4e	76 570	80,1	110 000	28	0,58
CPCu(4a)	4e	–	–	1 450	0,37	6,10
Karboksypeptydaza A	4c	–	–	810	–	–
PZn(4a/4f)Cu	4d	9 250	63,2	40100	10,2	0,73
PCu(4b/4f)	4d	98 200	50,2	–	–	–
PCu(4b/4f)	4e	217 000	53,8	413 000	105	0,36

$k_{\text{impr, kont}}$  – stała szybkości reakcji pierwszego rzędu katalizowanej polimerami z odciskiem molekularnym, bez odcisku (polimer kontrolny)  
 $k_{\text{soln}}$  – stała szybkości reakcji biegnącej w roztworze buforu HEPES/MeCN (1:1)  
 $k_{\text{kat}}$  – aktywność molekularna (liczba cząsteczek substratu, które w danej jednostce czasu mogą zostać przekształcone w produkt przez enzym w pełni wysycony substratem)

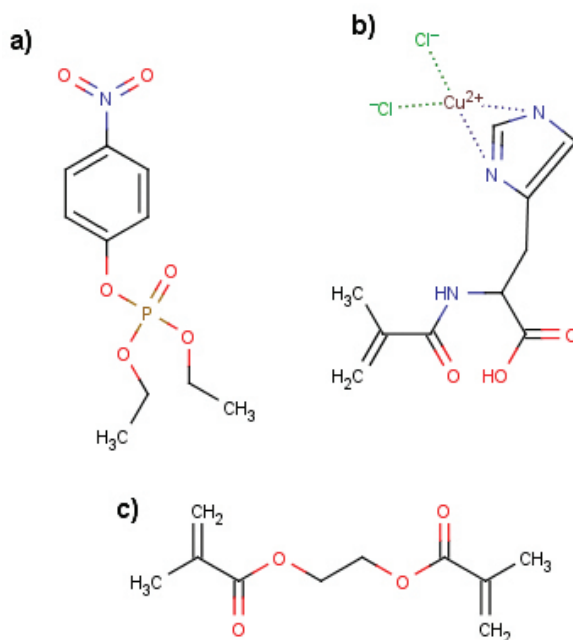
Jak przedstawiono w tabeli powyżej, dla katalizowanej reakcji substratu z dwiema grupami pirydyłowymi stosunek  $k_{\text{impr}}/k_{\text{soln}}$  jest prawie 5 razy większy niż dla pochodnej z jedną grupą pirydyłową, a stała Michaelisa ( $K_m$ ) dla takich układów jest mniejsza, co wskazuje na większe powinowactwo centrum aktywnego katalizatora do substratu. W przypadku substratów z grupami pirydyłowymi (Rys. 4d i 4e) reakcja w obecności układów z odciskiem molekularnym jak i bez odcisku molekularnego zachodzi lepiej niż dla naturalnego enzymu ( $k_{\text{kat}}/k_{\text{soln}}$ , Tab. 1). Otrzymane wyniki pozwalają stwierdzić, iż już sama obecność jonów miedzi(II) zwiększa aktywność katalityczną w porównaniu do karboksypeptydazy A zawierającej jony cynku(II).

W dalszych badaniach tego samego zespołu, wytworzono układy, w których dwie grupy amidynowe znajdują się w jednym centrum aktywnym (Rys. 6) [26]. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu nowego monomeru funkcyjnego (zsyntezowanego również przez tych samych badaczy), którego dwie grupy są koordynowane przez jon miedzi(II) (Rys. 4b). Tak wytworzone katalizatory wykazują znacznie większą aktywność katalityczną w porównaniu do układów zawierających w centrum aktywnym po jednej grupie amidynowej (monomer Rys. 4a). Warto podkreślić, iż jest to najwyższa aktywność katalityczna jaką udało się do tej pory uzyskać dla polimerów z odciskiem molekularnym. Dodatkowo wyniki badań wykazują, iż jony miedzi(II) – zastosowane już na etapie polimeryzacji (PCu4b,4f) – znacznie zwiększają zdolność MIP-ów do hydrolizy substratu d i e (Rys. 4). W przypadku gdy do syntezy biomimetyków wykorzystano jony Zn(II), a następnie zastąpiono je jonami miedzi(II) (PZn4a,4fCu), nie uzyskano tak dużych stopni przereagowania jak w przypadku

polimeru PCu4b,4f. Jednakże ten sam katalizator wykazuje większą aktywność w porównaniu do reakcji prowadzonych w obecności MIP-ów zawierających jony Zn(II) w centrum katalitycznym (Tab. 1).



Rysunek 6. Schemat centrum aktywnego zawierającego dwie grupy amidynowe [26]  
Figure 6. Schemat of active side with two amidinium groups [26]



Rysunek 7. Wzory monomerów oraz wzorca zastosowanego przez R. Say do wytworzenia biomimetyków hydrolaz triestrów fosforowych [27]  
Figure 7. Monomers and template used by Say to produce biomimetics of triphosphate hydrolase [27]

W celu wytworzenia efektywnych biomimetyków hydrolaz triestrów kwasów fosforowych, zdolnych do hydrolizy pestycydów, Say z zespołem zsyntetyzowali polimer z odciskiem molekularnym fosforanu dietylo-4-nitrofenylowego (pełniącego jednocześnie funkcję substratu, Rys. 7a). Polimeryzację monomeru funkcyjnego (kompleksu metakrylanu histydyny-Cu(II), MAH-Cu(II), Rys. 7b) oraz monomeru sieciującego (dimetakrylanu glikolu etylenowego, EDMA, Rys. 7c) przeprowadzono metodą odcisku powierzchniowego (w obecności acetonitrylu jako porogenu) [27]. Zastosowanie MAH-Cu(II) pozwala na uzyskanie we wnęce katalitycznej pKa zbliżonego do tego występującego w naturalnych enzymach (pKa = 6,2, dzięki obecności grupy histydylowej). Dodatkowo grupa histydylowa umożliwia polaryzację wiązania fosfor – tlen obecnego w cząsteczce substratu. Zbadano również wpływ pH na aktywność katalityczną, a optymalne warunki reakcji ustalono dla pH = 9.

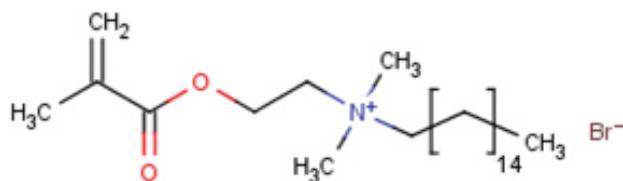
Autorzy, porównując kinetykę Michealisa-Menten naturalnych enzymów z wytworzonymi katalizatorami (w odniesieniu do analogów fosforanu dietylo-4-nitrofenylowego), stwierdzili, że przy zbliżonej wartości  $K_m$ , zsyntetyzowany enzym wykazuje mniejszą aktywność molekularną (Tab. 2). Jednakże biomimetyki te mogą być wykorzystywane kilkakrotnie bez znacznego zmniejszenia ich aktywności katalitycznej. Po 5 cyklach istnieje możliwość ponownego użycia katalizatora, a maksymalne zmniejszenie jego aktywności było równe 17%.

Tabela 2. Porównanie parametrów Michaelisa-Menten dla polimerów z odciskiem molekularnym (PIB-Cu, NIPO-Cu), polimerów kontrolnych (NIB-Cu, NIPO-Cu) i naturalnego enzymu [27, 28]

Table 2. Comparison of Michaelis-Menten parameters for imprinted (PIB-Cu, NIPO-Cu), non-imprinted polymers (NIB-Cu, NIPO-Cu) and native enzymes [27, 28]

Polimer	$K_m$ [mM]	$k_{kat}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]
PIB-Cu	1,28	$1,58 \cdot 10^{-3}$
NIB-Cu	4,17	–
PIPO-Cu	0,18	$3,10 \cdot 10^{-2}$
NIPO-Cu	2,66	$0,08 \cdot 10^{-2}$
fosfotriesteraza wyodrębniona z <i>Pseudomonas diminuta</i>	$0,09 \cdot 10^{-3}$	$1,32 \cdot 10^5$

Ten sam zespół opublikował w 2010 roku wyniki badań nad zmodyfikowanym nanokompozytem z odciskiem molekularnym [28]. Zastosowano ten sam wzorzec (Rys. 7a), monomer funkcyjny (MAH-Cu(II), Rys. 7b) oraz monomer sieciujący (EDMA, Rys. 7c), jako porogenu ponownie użyto acetonitrylu. Jednak tym razem całość zsyntetyzowano w obecności zmodyfikowanego smektytu, gdzie funkcję modyfikatora pełnił bromek (2-metakryloiloksyetylo)-dimetyloheksadecyloamoniowy (MOEDMAC<sub>16</sub>, Rys. 8) przedstawiony na rysunku poniżej:

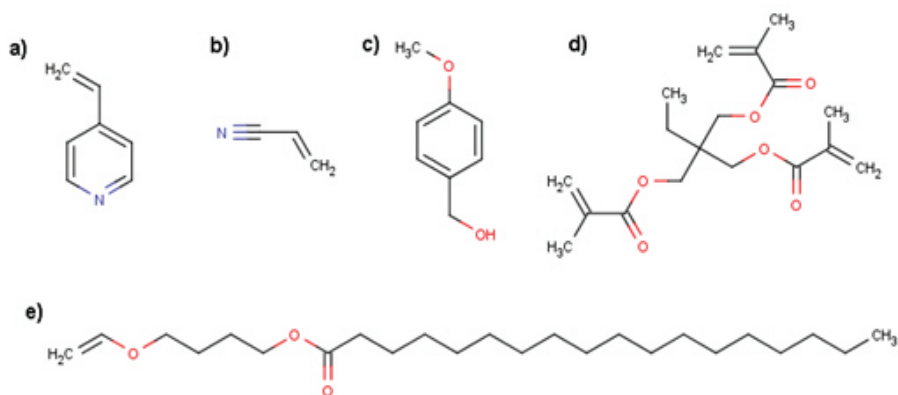


Rysunek 8. Wzór środka modyfikującego MOEDMAC<sub>16</sub> wykorzystanego przy tworzeniu nanokompozytów z odciskiem molekularnym [28]

Figure 8. Modifying agent MOEDMAC<sub>16</sub> used in formation of nanocomposites with molecular imprinting [28]

Właściwości fizykochemiczne i budowę zsyntetyzowanego katalizatora z odciskiem molekularnym (określanego jako PIPO-Cu) porównano z katalizatorem bez odcisku molekularnego (NIPO-Cu) oraz ze zmodyfikowanym (OM) i niemodyfikowanym montmorylonitem (M). Skład ilościowy uzyskanych katalizatorów potwierdzono poprzez badania w podczerwieni (FTIR). Chłonność wody była większa dla katalizatora z odciskiem, co wiąże się z obecnością wnęk po wzorcu (52% vs 48% dla katalizatora bez odcisku). Ta sama tendencja przekłada się na całkowitą powierzchnię porów, która rośnie w kolejności  $M < OM < NIPO-Cu < PIPO-Cu$  (kolejno  $35,6 < 37,1 < 48,1 < 77,1$  m<sup>2</sup>/g). Zarówno PIPO-Cu i OM wykazują większą odporność na degradację termiczną do 200°C niż M. Jak oczekiwano katalizator z odciskiem molekularnym wykazuje większą aktywność katalityczną ( $k_{kat}/K_m$ ) niż polimer zsyntetyzowany bez obecności wzorca (387 razy). Jednocześnie aktywność molekularna ( $k_{kat}$ ) dla PIPO-Cu jest 20-krotnie większa niż dla wcześniej opisanego katalizatora NIP-Cu [27]. Jednak uzyskane układy wciąż wykazują mniejszą aktywność katalityczną niż naturalne hydrolazy triestrów kwasu fosforowego (Tab. 2). PIPO-Cu charakteryzuje się dużą selektywnością w stosunku do fosforanu dietylo-4-nitrofenylowego, a jego aktywność katalityczna ( $k_{kat}/K_m$ ) w tej reakcji jest 391 razy większa niż w przypadku hydrolizy analogu substratu (fosforotnianu O-(4-nitrofenylo)-O,O-dietylowego).

Kolejnym przykładem układów zsyntetyzowanych metodą odcisku powierzchniowego są katalizatory wytworzone na bazie 4-winylopiirydyny (Rys. 9a, seria A), akrylonitrylu (AN, Rys. 9b, seria B) oraz trimetakrylanu 2-etylo-2-hydroksymetylo-1,3-propanodiolu (TMPMA – monomer sieciujący, Rys. 9d). Polimeryzację przeprowadzono w obecności wzorca (alkoholu *p*-metoksybenzylowego – MBA, Rys. 9c) oraz porotwórczego rozpuszczalnika (cykloheksanolu) [29].



Rysunek 9. Wzory związków użytych do syntezy układów MIP wykorzystywanych w reakcji utleniania pochodnych fenoli [29]

Figure 9. Compounds used in the synthesis of MIPs applied in the oxidation of phenol derivatives [29]

W pierwszym etapie badań polimery otrzymano metodą odcisku objętościowego. W serii B – po wprowadzeniu AN do mieszaniny polimerizacyjnej – wykorzystano metodę odcisku powierzchniowego przy zastosowaniu monomeru powierzchniowo czynnego (stearynianu 4- winylooksybutylowego, Rys. 9e). Aktywność katalityczną sprawdzano w reakcji utleniania hydrochinonu (H<sub>2</sub>Q) oraz 2,5-di-*tert*-butylohydrochinonu w obecności nadtlenu wodoru. Skład ilościowy zsyntetyzowanych katalizatorów został potwierdzony w badaniach w podczerwieni metodą FTIR. Wykazano, iż aktywność katalityczna wytworzonych układów zależy między innymi od obecności jonów miedzi(II) na etapie polimeryzacji oraz od stopnia obsadzenia jonami metalu podczas reakcji (określanego, jako ilość milimoli jonów metali przypadająca na jeden gram suchego polimeru [mmolCu<sup>2+</sup>/g]). Analiza EPR katalizatorów obsadzonych jonami metalu wskazała na istnienie centrów aktywnych głównie typu N2O2, gdzie jon miedzi(II) koordynuje dwie grupy pirydynowe oraz dwie grupy karboksylowe powstałe w wyniku hydrolizy TMPMA lub cząsteczki wody. Tego typu kompleksy są, obok N3O, najczęściej spotykane w naturalnych enzymach miedzowych i są odpowiedzialne za ich dużą aktywność katalityczną.

Porównując katalizatory z serii A (bez AN), ten o mniejszym obsadzeniu (0,02 mmol Cu<sup>2+</sup>/g) wykazuje większą aktywność katalityczną (40% przereagowania H<sub>2</sub>Q) niż polimer o większym obsadzeniu (0,04 mmolCu<sup>2+</sup>/g, 15%). Tą samą tendencję można zaobserwować dla katalizatorów z serii B, zawierających w swojej budowie AN – zmniejszenie ilości Cu(II) związanej na nośniku polimerowym pozwoliło na lepszą izolację centrów aktywnych. Dodatkowo katalizatory z serii B mające zbliżone obsadzenie do katalizatorów z serii A wykazują znacznie lepszą aktywność katalityczną bez względu czy zostały otrzymane metodą odcisku objętościowego (0,03 mmol Cu<sup>2+</sup>/g, 75% ubytku substratu) czy powierzchniowego (0,02 mmol Cu<sup>2+</sup>/g, 100%). Wprowadzenie akrylonitrylu jako drugiego monomeru



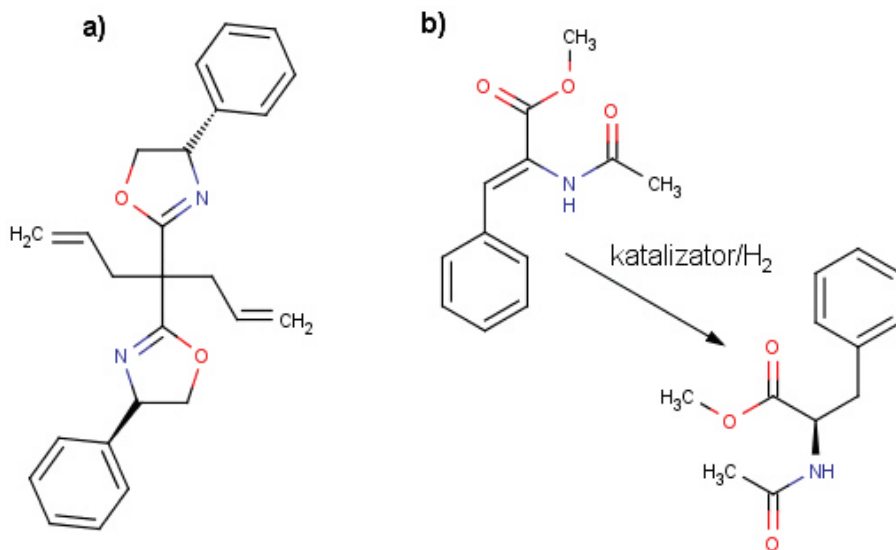
spowodowało zwiększenie porowatości oraz sztywności układu, ułatwiając wnikanie substratu do centrum aktywnego. Dodatkowo polarne grupy -CN zwiększają oddziaływania substrat – matryca polimerowa, co jest widoczne jako wzrost aktywności oraz selektywności układów w stosunku do polimerów bez AN. Jednocześnie zastosowanie metody odcisku powierzchniowego pozwoliło na zwiększenie stopnia przereagowania względem hydrochinonu z 75% do 100%.

W przeprowadzonych badaniach te same układy polimerowe wykazują większą aktywność katalityczną względem drugiego substratu: 2,5-di-*tert*-butylohydrochinonu. Jednocześnie wzrost obsadzenia jonami metalu powoduje znacznie mniejszy spadek stopnia przereagowania w porównaniu do reakcji utleniania hydrochinonu.

W kolejnych badaniach tego samego zespołu 4-winylopirydynę zastąpiono 1-winyloimidazolem, jako analogiem grup histydylowych enzymów, co jednocześnie pozwoliło na dalszą modyfikację w celu uzyskania ugrupowań będących analogami cieczy jonowych, które mogą korzystnie wpływać na środowisko reakcji [30]. Modyfikację wyjściowych polimerów MIP przeprowadzono w dwóch etapach: poprzez alkilowanie a następnie wymianę jonów bromkowych na aniony tetrafluoroboranowe lub trifluorooctanowe. Wszystkie polimeryzacje zostały przeprowadzone metodą odcisku powierzchniowego. Powstałe układy, których nie poddano modyfikacji, wykazywały mniejszą aktywność katalityczną w porównaniu do polimerów z 4VP (12% konwersji H<sub>2</sub>Q po 60 minutach; 0,05 mmol Cu<sup>2+</sup>/g). Aktywność katalityczna wzrosła jednak po wprowadzeniu wolnych, naładowanych grup usytuowanych w centrum aktywnym wokół kompleksów z jonami miedzi(II), jednocześnie zauważono, że aniony trifluorooctanowe wpływają na wzrost selektywności oraz stopnia przereagowania H<sub>2</sub>Q bardziej niż aniony tetrafluoroboranowe. Takie zachowanie układów jest tłumaczone przez silny efekt indukcyjny atomów fluoru na grupy karboksylowe i wzrost siły kwasowej w centrum aktywnym, co wpływa na lepszą stabilizację reagentów w trakcie modelowej reakcji. Jednocześnie długość łańcucha alkilowego przy azocie grupy imidazoliowej nie wpływa na stopień konwersji H<sub>2</sub>Q (grupa etylowa, butylowa, pentyłowa i heksylowa). W przypadku tak zsyntetyzowanych katalizatorów (analogi cieczy jonowej) nie zauważono wpływu obsadzenia jonami miedzi(II) w centrum aktywnym na aktywność katalityczną (jak to miało miejsce w układach z 4VP). Dla przykładu polimer z łańcuchem pentyłowym i anionami tetrafluoroboranowymi wykazywał nieznaczny wzrost stopnia przereagowania z 80% do 86% przy zmianie obsadzenia z 0,06 na 0,03 mmol Cu<sup>2+</sup>/g.

Kolejnym przykładem na zastosowanie jonów miedzi(II) w centrum aktywnym sztucznych katalizatorów są wytworzone przez Lee, Bernarda i Liu układy z chiralnymi ligandami *bis*-oksazoliny (Rys. 10a) jako monomerem funkcyjnym (4,4-bis-(4-fenyl-2-oksazolino)hepta-1,6-dien), wykorzystywane do asymetrycznego uwodornienia amin czwartorzędowych (w tym przypadku  $\alpha$ -N-acetamidocynamonianu metylu, MAC) [31].





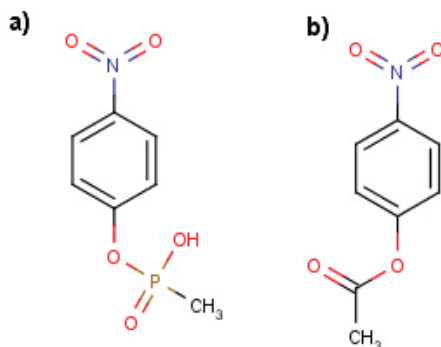
Rysunek 10. a) Wzór substratu wykorzystanego do tworzenia układów MIP dla zastosowań w reakcjach chiralnego uwodornienia, b) reakcja chiralnego uwodornienia MAC-u

Figure 10 a) Substrate used to create MIPs applied in a chiral hydrogenation reactions, b) the reaction of a chiral MAC hydrogenation

Jest to pierwszy przykład zastosowania jonów miedzi(II) w katalizie chiralnej – wcześniej wykorzystywano metale takie jak ruten lub rod, które dawały dobrą enancjoselektywność otrzymanego produktu (L enancjomeru). Wytworzony katalizator z odciskiem molekularnym Cu-MAC, w przeciwieństwie do układów z jonami Rh(I), charakteryzuje się dużą enancjoselektywnością w kierunku D enancjomeru (nadmiar enancjomeryczny –  $ee = 82\%$ ). Wartość nadmiaru enancjomerycznego dla tego układu jest prawie dwukrotnie większa niż dla polimeru kontrolnego ( $ee = 46\%$ ) oraz 27-krotnie niż dla reakcji prowadzonej w środowisku soli miedzowej kwasu trifluorometanosulfonowego ( $ee=3\%$ ) (rys. 10b).

## 1.2. UKŁADY ZAWIERAJĄCE W SWOIM CENTRUM AKTYWNYM JONY Co(II)

Układy zawierające w centrach aktywnych jony kobaltu(II) wykazują dużą zdolność katalityczną. Jako jedni z pierwszych badania nad nimi rozpoczęli Robinson oraz Mosbach, którzy w matrycy poli[4(5)-winyloimidazolowej], z monomere sieciującym (1,4-dibromobutan) odwzorowali analog stanu przejściowego (fosfonian *p*-nitrofenylowy, Rys. 11a) [32].

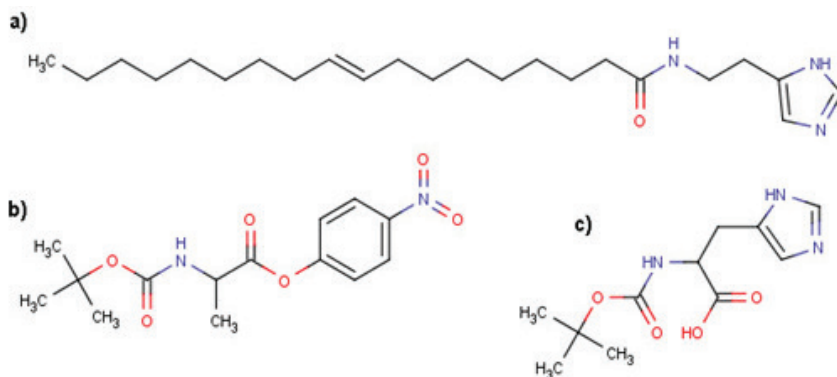


Rysunek 11. Wzory substratu i wzorca użytego przez Robinsona i Mosbacha w syntezie układów MIP z jonami kobaltu(II) [32]

Figure 11. Substrate and template used by Robinson and Mosbach in the synthesis of MIPs with cobalt(II) [32]

Tak wytworzone katalizatory zostały wykorzystane w reakcji hydrolizy octanu *p*-nitrofenylowego (Rys. 11b). Układy z odciskiem molekularnym wykazały ok. 60% zwiększenie aktywności katalitycznej w stosunku do polimeru kontrolnego (syntetyzowanego bez udziału wzorca). Dodatkowo, w reakcji inhibitowanej wzorcem, wraz ze wzrostem jego stężenia aktywność katalityczna znacznie zmalała, podczas gdy w przypadku polimeru kontrolnego nie zauważono takiej zależności. Takie wyniki są potwierdzeniem obecności wnęki katalitycznej komplementarnej kształtem i funkcjonalnością do wzorca.

Pracę nad podobnymi układami przeprowadził Toorisaka [33]. Zastosował on technikę odcisku powierzchniowego z wykorzystaniem specjalnie zsyntetyzowanego monomeru (N[2-(1H-imidazolo-4-ylo)etylenoamid kwasu oktadeka-9-eno-owego, 1C18IM, Rys. 12a) o dużej aktywności na granicy faz woda/olej. Jako wzorca użyto  $N\alpha$ -*tert*-butoksykarbonylo-L-histydynę ( $N\alpha$ -*t*-Boc-L-histydynę, Rys. 12c) będącą analogiem substratu (estru *p*-nitrofenylowego *t*-Boc-L-alaniny, Rys. 12b). Aktywność katalityczną wytworzonych układów sprawdzano w reakcji hydrolizy w zależności od rodzaju monomeru (1C18IM, 4VP), jego aktywności międzyfazowej, rodzaju rozpuszczalnika wykorzystanego w procesie hydrolizy oraz rodzaju substratu.



Rysunek 12. Wzory związków użytych do syntezy układów MIP metodą odcisku powierzchniowego [33]  
 Figure 12. Compounds used in the synthesis of MIP by surface imprinting method [33]

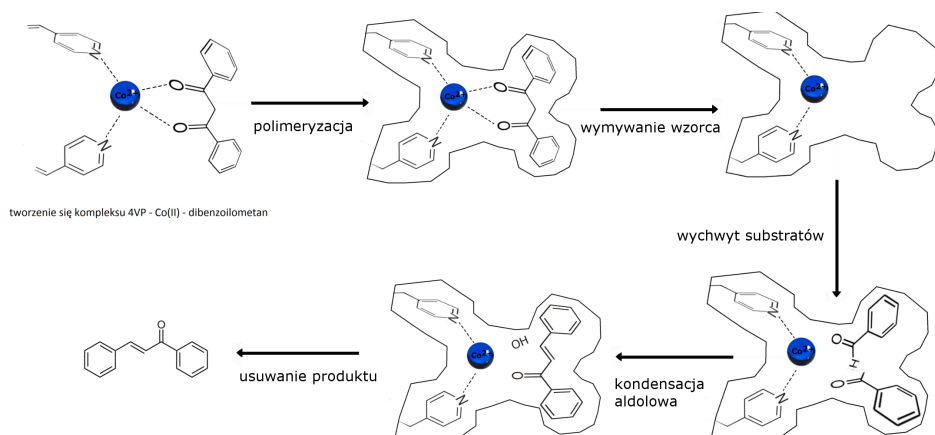
Wyniki wskazują, iż zastosowanie nowego monomeru znacznie wpływa na aktywność katalityczną w porównaniu z 4-winylopirydyną, która nie wykazuje aktywności międzyfazowej. W przypadku polimerów z 4VP centra aktywne występują również w objętości matrycy, przez co dostęp do nich jest utrudniony i pewnym stopniu zablokowany. Stopień hydrolizy po godzinie dla polimeru z 1C18IM dochodzi do około 100%, gdy dla katalizatora z 4VP nie osiąga nawet 20%.

Zastosowanie rozpuszczalników organicznych o budowie liniowej lub rozgałęzionej (*n*-tetradekan, izooktan) znacznie zwiększa aktywność katalityczną w porównaniu z rozpuszczalnikami o budowie cyklicznej (cykloheksan) i aromatycznej (toluen, *p*-ksylen). W celu sprawdzenia komplementarności wnęk zastosowano substraty o różnym stopniu podobieństwa do wzorca. Zgodnie z przypuszczeniami reakcja hydrolizy przebiegła najefektywniej dla substratu najbardziej zbliżonego swoją budową do wzorca. Podobnie jak w przypadku badań Mosbacha i Robinsona [32], przeprowadzono reakcje w obecności wzorca w różnym stosunku względem substratu. Wyniki ponownie potwierdziły, iż reakcje katalityczne zachodzą w wytworzonych na etapie polimeryzacji wnękach.

W pracy [34] wytworzono MIP-y z układem katalitycznym zbliżonym do tego występującego w hydrolazach triestrów kwasu fosforowego. Podobnie jak w opisywanej już pracy [27] zsyntetyzowano monomer z L-histydyny oraz chlorku kwasu metakrylowego, jednak jony miedzi(II) zastąpiono jonami kobaltu(II) (Rys. 7b). Całość poddano polimeryzacji suspensyjnej w obecności EDMA, jako monomeru sieciującego oraz fosforanu dietylo-4-nitrofenylowego (Rys. 7a) jako wzorca (i jednocześnie substratu). Polimeryzację przeprowadzono metodą odcisku powierzchniowego. Uzyskane katalizatory z odciskiem molekularnym PIB-Co wykazują większą aktywność katalityczną w stosunku do polimerów bez odcisku molekularnego NIP-Co ( $K_m^{\text{PIB-Co}} = 0,25 \text{ mM}$ ,  $K_m^{\text{NIP-Co}} = 0,83 \text{ mM}$ ). Porównano również wpływ obecności wzorca w trakcie polimeryzacji na morfologię i porowatość uzyskanych

polimerów. Zarówno powierzchnia całkowita porów, powierzchnia mikroporów oraz udział mikroporów w całkowitej powierzchni porów są większe dla układów z odciskiem molekularnym w porównaniu do polimerów kontrolnych. Natomiast średni wymiar porów oraz średni rozmiar perełek dla obu układów jest zbliżony. Układy bez odcisku molekularnego również wykazują zwiększenie szybkości reakcji w porównaniu do reakcji niekatalizowanej, co wskazuje, że już sama obecność grup histydylowych wystarczy, aby reakcja zaszła. Dodatkowe badania wykazały, że stała szybkości reakcji rośnie wraz ze wzrostem temperatury w zakresie 25–50°C. Jednocześnie wraz ze wzrostem energii aktywacji reakcji hydrolizy fosforanu dietylo-4-nitrofenolowego maleje jej wydajność. Tak wytworzone układy wykazywały większą aktywność katalityczną od wcześniej zsyntetyzowanych polimerów z jonami Cu(II) w centrum aktywnym ( $K_m^{\text{PIB-Cu}} = 1,28 \text{ mM}$ ) [27].

Po wielu badaniach nad reakcjami hydrolizy w obecności katalizatorów polimerowych z odciskiem molekularnym Matsui, Nicholls i Mosbach zastosowali takie układy w kondensacji aldolowej do wytworzenia wiązań C–C [35]. Jako wzorzec wykorzystano analog produktu pośredniego (dibenzoilometanu, DBM), który odwzorowano w matrycy składającej się z 4-winylopirydyny/styrenu/diwinylobenzenu (Rys. 13). Otrzymany katalizator porównano z trzema polimerami kontrolnymi: bez odcisku molekularnego, zsyntetyzowanymi w obecności jonów Co(II) oraz wzorca. Badania powinowactwa dibenzoilometanu do otrzymanego polimeru przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej HPLC, a jako fazę stałą zastosowano wytworzone wcześniej polimery. Największą wartość współczynnika retencji ( $r$ ) wobec DBM wykazał polimer zsyntetyzowany w obecności kompleksu DBM – Co(II) ( $r = 9,3$ ), nieco mniejszą układ wytworzony tylko z jonami kobaltu(II) ( $r = 7,0$ ), najmniejsze powinowactwo do DBM wykazały polimery zsyntetyzowane w obecności jedynie DBM ( $r = 2,5$ ) oraz bez odcisku molekularnego ( $r = 3,6$ ). Wyniki te wskazują jednoznacznie, że obecność jonów kobaltu(II) jest niezbędna do wytworzenia układów katalitycznych o dużej selektywności względem wzorca. Aktywność zsyntetyzowanych polimerów zbadano w reakcji kondensacji acetofenonu i alkoholu benzyłowego. Zgodnie z przypuszczeniami największą efektywność wykazał układ z odciskiem molekularnym kompleksu Co(II)-DBM. Wydajność reakcji była 8 razy większa w porównaniu z reakcją prowadzoną w środowisku octanu kobaltu i 2 razy większa dla katalizatora zsyntetyzowanego jedynie z jonami kobaltu(II).



Rysunek 13. Schemat wytworzenia wnęki komplementarnej do wzorca oraz katalizowanej reakcji kondensacji aldolowej [35]

Figure 13. Scheme of formation of cavity complementary to the template and catalyzed aldol condensation reaction [35]

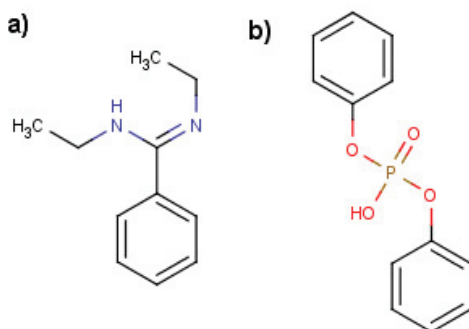
Układami z jonami Co(II) zajęto się również jako kontynuacją badań przedstawionych w [29] zamieniając jony Cu(II) na Co(II) już na etapie polimeryzacji [36]. Syntezę prowadzono metodą odcisku objętościowego (KO-Co) oraz powierzchniowego (KP-Co), a aktywność katalityczną sprawdzano w modelowej reakcji utleniania hydrochinonu. Powierzchnia właściwa ( $p$ ) oraz średnia szerokość porów ( $s$ ) dla KP-Co była mniejsza niż dla KO-Co ( $p = 70,11\text{m}^2/\text{g}$ ,  $s = 1119,41\text{\AA}$  dla KP-Co,  $p = 136,53\text{m}^2/\text{g}$ ,  $s = 1336,35\text{\AA}$  dla KO-Co). Taką samą tendencję zauważono dla układów zawierających w swoich centrach aktywnych jony Cu(II). Ponownie zastosowanie metody odcisku powierzchniowego poprawiło właściwości katalityczne KP-Co względem KO-Co. Jednak stopień przereagowania hydrochinonu był niższy w obu przypadkach w porównaniu do polimerów z jonami Cu(II). Dodatkowo układy KO-Co i KP-Co charakteryzowały się słabą stabilnością. Po okresie 10 miesięcy ponowne obsadzenie wnęk katalitycznych jonami Co(II) było niemożliwe, a co za tym idzie układów tych nie można było wykorzystać w ponownej reakcji utleniania  $\text{H}_2\text{Q}$ .

### 1.3. UKŁADY ZAWIERAJĄCE W SWOIM CENTRUM AKTYWNYM JONY Zn(II)

Prac nad układami zawierającymi w swych centrach aktywnych jony cynku(II) jest tylko kilka. Takie układy często pojawiają się przy porównywaniu aktywności układów MIP z innymi jonami (głównie miedzi(II)). Cynk(II) jest także zastępowany innym metalem dla zwiększenia stabilności i aktywności katalitycznej układów.

Jedne z pierwszych badań nad układami katalitycznymi zawierającymi jony cynku(II) zostały opisane w artykule Meng, Yamazaki i Sode [37]. Wykorzystu-

jąc jako monomery 4(5)-winyloimidazol, kwas metakrylowy (MAA) oraz DVB, wytworzono centra aktywne naśladujące działanie fosfotriesteraz (PTE). Jako wzorzec zastosowano fosfonian dietylo(4-nitrobenzylowy), będący analogiem substratu (fosforanu dietylo-*p*-nitrofenylowego). Szybkość reakcji hydrolizy wzrosła 105 razy, przy zastosowaniu MIP-ów z jonami  $Zn^{2+}$ , w porównaniu do reakcji zachodzącej w buforze. Wprowadzenie odcisku powierzchniowego zwiększyło aktywność katalityczną biomimetyków PTE o 30%. Autorzy udowodnili również, iż zastosowanie kwasu metakrylowego poprawia aktywność katalityczną o 100% w stosunku do MIP-ów niezawierających MAA. Grupy karboksylowe umożliwiają odpowiednią pozycję jonu metalu w centrum aktywnym, a dodatkowo wprowadzają hydrofilowe środowisko (podobnie jak we wnękach katalitycznych PTE). Badania wskazują również, iż aktywność molekularna  $k_{kat}$  wzrasta ponad dwukrotnie dla polimerów wytworzonych w niższej temperaturze (4°C, polimeryzacja metodą radiacyjną,  $k_{kat} = 4,44 \text{ min}^{-1}$ ). Dla porównania  $k_{kat}$  dla układów zsyntezowanych w 45°C wyniosło około  $2,10 \text{ min}^{-1}$ . Takie wyniki można wytłumaczyć wpływem temperatury na oddziaływania elektrostatyczne (monomery-wzorzec) – im niższa temperatura tym oddziaływania silniejsze. Pomimo odpowiedniego dobrania warunków syntezy aktywność katalityczna takich układów jest mniejsza niż dla naturalnych fosfotriesteraz.



Rysunek 14. Związki wykorzystane podczas syntezy biomimetyków karboksypeptydazy A z jonami cynku(II) oraz substrat reakcji katalizowanej [38]

Figure 14. Compounds used in the synthesis of biomimetics of carboxypeptidase A with Zn(II) ions and substrate for the catalyzed reaction [38]

Dość obszerne badania nad wytworzeniem układu z jonami Zn(II), naśladującego karboksypeptydazę A opisano w [38]. W celu opracowania efektywniejszych MIP-ów sprawdzano aktywność katalityczną w zależności od użytego monomeru (monomer 1 – pochodna winylobenzamidyny – Rys. 14a, monomer 2 – pochodna monomeru 1 zawierająca trzy atomy azotu zdolne do tworzenia wiązań koordynacyjnych – Rys. 4a), wzorca (wzorzec 1 – fosforan difenylu – Rys. 14b, wzorzec 2 – fosforan fenylu-2-pirydylowy – Rys. 4f) oraz obecności jonów cynku w reakcji hydrolizy węglanu difenylu (Rys. 4c). Polimery zsyntetyzowano z zastosowaniem

metakrylanu metylu jako komonomeru oraz EDMA jako monomeru sieciującego. Wytworzone układy wykazały dużo większą aktywność w porównaniu do reakcji prowadzonej w buforze HEPES (w stosunku 1:1 z acetonitrylem). Dla polimeru P(14a/14b) wytworzonego z monomeru 1 oraz wzorca 1 bez udziału jonów cynku(II), stała szybkości reakcji była ponad 450 razy większa od stałej szybkości reakcji w buforze. Zamiana monomeru na związek z dodatkową aminą trzeciorzędową (Rys. 4a) oraz wprowadzenie jonów cynku (PZn(4a/14b)) spowodowało wzrost stosunku stałych szybkości do ok. 1800. Wprowadzenie pierścienia pirydynowego do wzorca (PZn(4a/4f)) dodatkowo zwiększyło aktywność katalityczną polimerów (tab. 2), również w porównaniu do naturalnych enzymów. W celu sprawdzenia wpływu rodzaju wzorca oraz efektu odwzorowania na szybkość prowadzonej reakcji porównano je z polimerem kontrolnym, który został zsyntetyzowany bez obecności wzorca oraz jonów cynku(II). Wyniki przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Porównanie właściwości fizykochemicznych biomimetyków karboksypeptydazy A z jonami cynku(II) w zależności od użytego monomeru funkcyjnego [38]

Table 3. Comparison of the physicochemical properties of carboxypeptidase A biomimetics with Zn(II) ions according as the functional monomer [38]

Polimer (zastosowany monomer/ wzorzec)	$k_{\text{impr}}/k_{\text{soln}}$	$k_{\text{impr}}/k_{\text{kont}}$	$k_{\text{kat}}/k_{\text{soln}}$	$K_m$ [mM]	$k_{\text{kat}}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]
P(14a/14b)	455	10,7	–	–	–
PZn(4a/14b)	1806	34,0	–	–	–
PZn(4a/4f)	3264	61,5	6900	2,01	0,035

$k_{\text{impr}}$  – stała szybkości reakcji katalizowanej polimerami z odciskiem molekularnym  
 $k_{\text{soln}}$  – stała szybkości reakcji biegnącej w roztworze buforu HEPES  
 $k_{\text{kat}}$  – aktywność molekularna

Erdem w swoich badaniach skupił się na badaniu morfologii wytworzonych układów oraz jej wpływu na ich aktywność katalityczną [34]. Katalizatory zostały wytworzone poprzez polimeryzację kompleksu metakrylohistydyny (MAH) z jonami Zn(II) w obecności EDMA jako monomeru sieciującego oraz wzorca (fosforanu dietylo-4-nitrofenyloвого – Rys. 7a), będącego również substratem reakcji kontrolnej. Zarówno polimer kontrolny NIB-Zn (bez odcisku molekularnego wzorca) jak i katalizator PIB-Zn wykazały zwiększenie początkowej szybkości reakcji w stosunku do reakcji prowadzonej w roztworze buforu o pH = 9. Jednak polimer z odciskiem molekularnym wykazał znacznie większą aktywność w porównaniu z polimerem bez odcisku molekularnego (NIB-Zn) (Tab. 4). Zastosowanie wzorca na etapie polimeryzacji spowodowało również zwiększenie całkowitej powierzchni porów w PIB-Zn w porównaniu do NIB-Zn, przez co substrat ma znacznie łatwiejszy dostęp do centrów aktywnych zawierających jony cynku.

Tabela 4. Porównanie właściwości katalitycznych układów MIP z jonami cynku(II) w centrum aktywnym z polimerami kontrolnymi [34]

Table 4. Comparison of the catalytic properties of Zn(II) – MIPs with the control polymers [34]

Polimer	$K_m$ [mM]	$k_{kat}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]
PIB-Zn	1,18	$1,19 \cdot 10^{-4}$
NIB-Zn	1,36	$2,48 \cdot 10^{-5}$

#### 1.4. UKŁADY ZAWIERAJĄCE W SWOIM CENTRUM AKTYWNYM JONY Ni(II)

Układy zawierające jony nikielu w swoim centrum katalitycznym są nieliczne. W naturze nikiel występuje na drugim stopniu utlenienia w centrum aktywnym ureazy, która jest odpowiedzialna za hydrolizę mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla. Wzmiankę na temat takich układów można odnaleźć w opisanym już wcześniej artykule Erdem'a, w którym aktywność katalityczna i morfologia zostały porównane z układami zawierającymi jony miedzi(II) lub cynku(II) [34]. Tak samo jak w przypadku katalizatorów zawierających pozostałe jony tak i w tym przypadku polimer kontrolny NIB jak i katalizator PIB wykazały zwiększenie początkowej szybkości reakcji w stosunku do reakcji prowadzonej w roztworze buforu o pH = 9. Jednak w przypadku nikielu wzrost ten jest znacznie większy niż dla układów z jonami cynku (ok. 2,5 razy większa aktywność dla polimeru z odciskiem substratu). Również w tym przypadku potwierdza się zależność aktywności katalitycznej od porowatości, PIB wykazując ok. 4,9 razy większą całkowitą powierzchnię porów niż NIB (Tab. 5).

Tabela 5. Porównanie właściwości katalitycznych układów MIP z jonami nikielu(II) w centrum aktywnym z polimerami kontrolnymi [34]

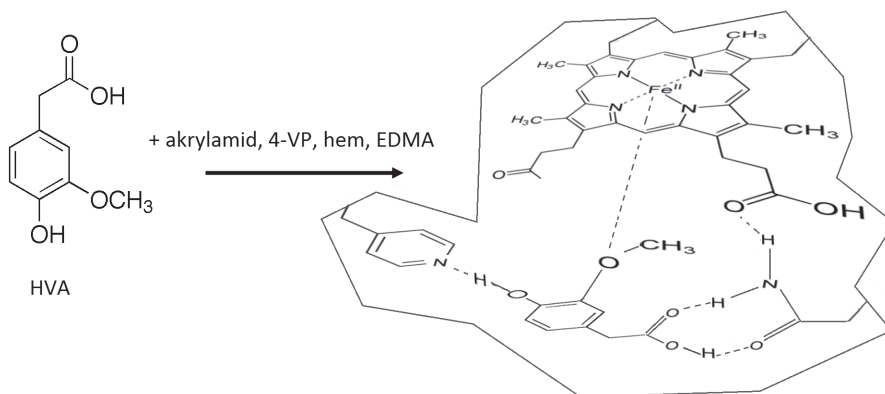
Table 5. Comparison of the catalytic properties of Ni(II) – MIPs with the control polymer [34]

Polimer	$K_m$ [mM]	$k_{kat}$ [ $\text{min}^{-1}$ ]
PIB-Ni	0,92	$2,72 \cdot 10^{-4}$
NIB-Ni	0,96	$4,44 \cdot 10^{-5}$

#### 1.5. UKŁADY ZAWIERAJĄCE W SWOIM CENTRUM AKTYWNYM JONY Fe(III)

Jony żelaza są często wprowadzane do układów MIP wraz z hemem, a nie jako oddzielna jednostka. Biomimetyki peroksydaz z sukcesem wytworzono wykorzystując 4-winylopirydynę, akryloamid (ACM) oraz EDMA (monomer sieciujący) (Rys. 15). Aktywność katalityczną wytworzonych układów sprawdzano w reakcji utleniania kwasu homowanilinowego HVA w obecności nadtlenu wodoru [19].





Rysunek 15. Schemat odcisku molekularnego oraz wychwytu substratu przez polymer z odciskiem molekularnym HVA [19]

Figure 15. Scheme of active side and uptake of substrate by polymer molecularly imprinted with HVA [19]

Dodatkowo zostały przeprowadzone badania wpływu ilości monomeru sieciującego, hemu, komonomerów, a także obecności odcisku molekularnego wzorca (w tym przypadku substratu) na wydajność reakcji utleniania oraz wychwyty substratu. Te same badania porównawcze zostały przeprowadzone z wykorzystaniem różnej zawartości procentowej porogenu w mieszaninie. Zarówno ilość środka sieciującego jak i porogenu (aceton) mają znaczący wpływ na wychwyty substratu i aktywność katalityczną uzyskanego układu. Najpierw wraz ze wzrostem ich zawartości  $K_m$  (wychwyty substratu) maleje a  $k_{kat}/K_m$  (wydajność reakcji katalizowanej) wzrasta, po czym osiąga optimum i następuje zmniejszenie (dla porogenu jest to ilość ok. 40% w mieszaninie, dla EDMA przy stosunku HVA:hem:ACM:4VP:EDMA = 1:1:2:2:20). Zarówno dodatek 4VP jak i ACM powoduje wzrost aktywności katalitycznej układu, brak odcisku molekularnego oraz obecności hemu – znaczne jej zmniejszenie (Tab. 6).

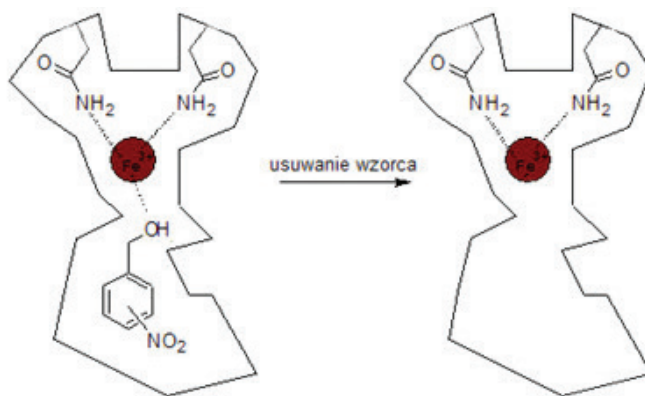
Tabela 6. Wpływ zawartości poszczególnych składników mieszaniny polimerizacyjnej na końcowe właściwości katalityczne i wychwyty substratu przez wytworzone układy [19]

Table 6. The influence of components content in the polymerization mixture on the final catalytic properties and substrate uptake by produced systems [19]

Polimer	HVA:hem:ACM:4VP:EGDMA	$K_m$ [mM]	$k_{kat}/K_m$ [ $M^{-1}min^{-1}$ ]
P 1	1:1:2:2:10	4,63	$1,68 \cdot 10^8$
P 2	1:1:2:2:20	3,18	$3,85 \cdot 10^8$
P 3	1:1:2:2:40	4,07	$2,54 \cdot 10^8$
P 4	1:1:2:0:20	9,25	$9,84 \cdot 10^7$
P 5	1:1:2:4:20	2,32	$1,36 \cdot 10^8$
P 6	1:2:2:2:20	2,51	$5,39 \cdot 10^8$

Polimer	HVA:hem:ACM:4VP:EGDMA	$K_m$ [mM]	$k_{kat}/K_m$ [ $M^{-1}min^{-1}$ ]
P 7	1:0:2:2:20		
P 8	0:1:2:2:20	9,89	$5,05 \cdot 10^7$

Podobne układy zostały zsyntetyzowane przez Diaz-Diaz w celu wytworzenia biomimetyków chloroperoksydaz zdolnych do oksydacyjnej degradacji 2,4,6-trichlorofenolu (TCP) [39]. Jako monomery zastosowano chloroporfirynę z jonami Fe(III), metakryloamid (MA), 4-winylopirydynę oraz EDMA. Polimeryzację przeprowadzono w obecności wzorca (TCP) oraz porotwórczego DMSO. Dodatkowo dobierano różny stosunek MA:4VP (3:1, 9:1, 1:1), chcąc wytworzyć centra aktywne o zbliżonym składzie aminokwasowym do chloroperoksydazy (3:1; zasada:kwas). Aktywność katalityczną MIP-ów porównano z polimerami bez odcisku molekularnego. Największą wydajność reakcji katalizowanej, określanej jako  $k_{kat}/K_m$ , osiągnięto dla układu 9:1 zarówno dla polimerów z odciskiem jak i bez odcisku molekularnego. Wprowadzenie wzorca na etapie polimeryzacji spowodowało zwiększenie wielkości porów w matrycy polimerowej oraz wartości  $k_{kat}/K_m$  z  $3,8 \cdot 10^3$  do  $4,5 \cdot 10^3$  [ $M^{-1}min^{-1}$ ]. Jednak są to wartości wciąż znacznie mniejsze niż dla naturalnych enzymów (które wahają się w granicach  $10^9$ – $10^{10}$ ).



Rysunek 16. Schemat centrum katalitycznego polimerów z odciskiem molekularnym alkoholu nitrobenzylowego [40]

Figure 16. Scheme of active site of polymer molecularly imprinted with nitrobenzyl alcohol [40]

Jednym z nielicznych przykładów zastosowania jonów żelaza(III) – wprowadzonego bez układu porfiryнового, jest praca Suna, który wykorzystał akryloamid (AM) oraz EDMA jako monomery funkcyjne [40]. Wytworzone układy zostały przebadane w reakcji utleniania alkoholi nitrobenzylowych (*orto*-, *para*-, oraz *meta*-, Rys. 16), a ich zdolność katalityczną porównano z polimerami bez odcisku molekularnego i bez jonów Fe(III) (NIP) lub z jonami Fe(III) (Fe-NIP). Badania porównawcze zsyntezowanych polimerów jednoznacznie wskazują na potrzebę zastosowania jonów żelaza oraz wzorca w celu uzyskania odpowiedniej powierzchni oraz objętości

porów. Zarówno usunięcie wzorca jak i jonów żelaza(III) z mieszaniny polimerizacyjnej powoduje zmniejszenie objętości porów z 0,25 [cm<sup>3</sup>/g] dla *p*-Fe-MIP do 0,09 [cm<sup>3</sup>/g] dla NIP, co przekłada się na aktywność katalityczną. Autorzy zsyntezowali katalizatory wykorzystując jako wzorca odpowiednio *para*-, *orto*- oraz *meta*-nitro-podstawione alkohole benzylowe. (*p*-Fe-MIP, *o*-Fe-MIP, *m*-Fe-MIP). *Para*-Fe-MIP wykazywał największą aktywność katalityczną oraz selektywność w stosunku do alkoholu *para*-nitrobenzylowego (80% i 85% odpowiednio dla roztworu *p*-nitrofenolu i mieszaniny trzech pochodnych). Największy stopień konwersji alkoholu do aldehydu występował dla układów dla których wzorzec był jednocześnie substratem reakcji katalizowanej. Dla pozostałych pochodnych stopień przereagowania był znacznie niższy (Tab. 7)

Tabela 7. Porównanie właściwości katalitycznych układów z odciskiem molekularnym alkoholu nitrobenzylowego

Table 7. Comparison of the catalytic properties of molecular imprinted polymers with nitrobenzyl alcohol

Polimer	Stopień konwersji alkoholu w aldehyd [%]					
	z roztworu danej pochodnej			z mieszaniny pochodnych		
	<i>o</i> -NBA	<i>m</i> -NBA	<i>p</i> -NBA	<i>o</i> -NBA	<i>m</i> -NBA	<i>p</i> -NBA
NIP	< 5,0	< 5,0	< 5,0	–	–	–
<i>o</i> -Fe-MIP	65	37	51	70	28	31
<i>m</i> -Fe-MIP	39	69	58	27	72	32
<i>p</i> -Fe-MIP	36	42	80	29	40	85
Fe-NIP	34	33	49	–	–	–
Warunki katalizy	0,1 g katalizatora; 1,8 mmol substratu; 0,75 ml 30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; 15 ml H <sub>2</sub> O; 80°C; 4 h			0,1 g katalizatora; (0,6 mmol <i>o</i> -NBA; 0,6 mmol <i>m</i> -NBA; and 0,6 mmol <i>p</i> -NBA); 0,75 ml 30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; 15 ml H <sub>2</sub> O; 80°C; 4 h		

## PODSUMOWANIE

Procesy katalityczne wciąż pełnią jedną z kluczowych ról w wielu gałęziach przemysłu i nauki, a co za tym idzie, zapotrzebowanie na nie ciągle wzrasta. Bardzo istotne jest zatem opracowanie bardziej efektywnych i selektywnych katalizatorów, zdolnych do pracy w środowisku wodnym oraz w temperaturach nieznacznie przekraczających temperaturę pokojową. Wykorzystanie techniki wdrukowywania molekularnego wraz z zastosowaniem jonów metali pozwala na otrzymanie układów katalitycznych naśladujących naturalne enzymy, charakteryzujących się dużo większą stabilnością w czasie użytkowania. Po wielu badaniach dotyczących optymalizacji parametrów syntezy opracowano polimery z centrami aktywnymi zdolnymi między innymi do hydrolizy pestycydów, reakcji Dielsa–Aldera czy reakcji stereoselektywnych. Wyszczególniono również część parametrów odpowiedzialnych za polepszenie właściwości MIP-ów zawierających w centrum aktywnym jony

metali. Stwierdzono, że odpowiednio dobrana metoda polimeryzacji oraz środki porotwórcze znacznie polepszają dostępność do miejsc aktywnych (co pozwala zatem również na polepszenie kinetyki prowadzonych reakcji). Dodatkowo zastosowanie monomerów, o grupach funkcyjnych zbliżonych budową do tych występujących w metaloenzymach, pozwoliło na otrzymanie efektywnie pracujących katalizatorów polimerowych o zbliżonej aktywności katalitycznej w stosunku do naturalnych enzymów.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Wolfgang, *Enzymes in Industry, Production and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2004.
- [2] O. Kirk, T.V. Borchet, C.C. Fuglsang, *Curr. Opin. Biotech.*, 2002, **13**, 345.
- [3] M. Bedford, G. Partridge, *Enzymes in farm animal nutrition*, CAB International, Bodmin, 2010.
- [4] J. Shen, *Enzymatic treatment of wool and silk fibres*, [w:] *Advanced in textile biotechnology*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2010.
- [5] A.G. Mayes, M.J. Whitcombe, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 2005, **57**, 1742.
- [6] C. Alexander, L. Davidson, W. Hayes, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 2025.
- [7] H. Yan, K. Row, *Int. J. Mol. Sci.*, 2006, **7**, 155.
- [8] D.R. Kryscio, N.A. Peppas, *Acta. Biomater.*, 2012, **8**, 461.
- [9] M. Tada, Y. Iwasawa, *J. Mol. A - Chem.*, 2003, **199**, 115.
- [10] O. Ramstrom, R.J. Ansell, *Chirality*, 1998, **10**, 195.
- [11] R.J. Ansell, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 2005, **57**, 1809.
- [12] V.B. Kandimalla, H. Ju, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **380**, 587.
- [13] D.A. Spivak, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 2005, **57**, 1779.
- [14] M. Sibrian-Vazquez, D.A. Spivak, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 7827.
- [15] W.J.R. Santos, P.R. Lima, C.R.T. Tarley, N.F. Höehr, L.T. Kubota, *Anal. Chim. Acta*, 2009, **631**, 170.
- [16] S.A. Piletsky, N.W. Turner, P. Laitenberger, *Med. Eng. Phys.*, 2006, **28**, 971.
- [17] C. Alexander, H.S. Andersson, L.I. Andersson, R.J. Ansell, N. Kirsch, I.A. Nicholls, J. O'Mahony, M.J. Whitcombe, *J. Mol. Recognit.*, 2006, **19**, 106.
- [18] N. Holland, J. Frisby, E. Owens, H. Hughes, P. McLoughlin, *Polymer*, 2010, **51**, 1578.
- [19] Z. Cheng, Y. Li, *J. Mol. A - Chem.*, 2006, **256**, 9.
- [20] J.D. Marty, M. Mauzac, *Adv. Polym. Sci.*, 2005, **172**, 1.
- [21] A.J. Hall, M. Emgenbroich, B. Sellergren, *Imprinted Polymers*, [w:] *Templates in Chemistry II*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin 2005.
- [22] G. Wulff, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 1.
- [23] N. Holland, *An investigation into the role of morphology on the performance of molecularly imprinted polymers*, Waterford: Waterford Institute of Technology, 2008.
- [24] Z. Chen, L. Xu, Y. Liang, M. Zhao, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 1488.
- [25] J. Liu, G. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 7452.
- [26] J. Liu, G. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 8044.
- [27] R. Say, M. Erdem, A. Ersöz, H. Türk, A. Denizli, *Appl. Catal. A - Gen.*, 2005, **286**, 221.
- [28] M. Erdem, R. Say, A. Ersoz, A. Denizli, H. Turk, *Appl. Clay Sci.*, 2010, **47**, 223.
- [29] A. Jakubiak, B.N. Kolarz, J. Jezierska, *J. Macromol. Symp.*, 2006, **235**, 127.
- [30] A. Jakubiak-Marcinkowska, M. Legan, J. Jezierska, *J. Polym. Res.*, 2013, **20**, 317.
- [31] J. Lee, S. Bernard, H.C. Liu, *React. Funct. Polym.*, 2009, **69**, 650.

- [32] D. K. Robinson, K. Mosbach, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 969.
- [33] E. Toorisaka, K. Uezu, M. Goto, S. Furusaki, *Biochem. Eng. J.*, 2003, **14**, 85.
- [34] M. Erdem, R. Say, A. Ersoz, A. Denizli, H. Turk, *React. Funct. Polym.*, 2010, **70**, 238.
- [35] J. Matsui, I.A. Nicholls, I. Karube, K. Mosbach, *J. Org. Chem.*, 1996, **61**, 5414.
- [36] J. Czulak, A. Jakubiak-Marcinkowska, A. Trochimczuk, *Adv. Mat. Sci. Eng.* 2013, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/464265>.
- [37] Z. Meng, T. Yamazaki, K. Sode, *Biotech. Lett.*, 2003, **25**, 1075.
- [38] J. Liu, G. Wulff, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 1287.
- [39] G. Díaz-Díaz, M. C. Blanco-López, M.J. Lobo-Castanón, A.J. Miranda-Ordieres, P. Tunón-Blanco, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2012, **353–354**, 117.
- [40] W. Sun, R. Tan, W. Zheng, D. Yin, *Chin. J. Catal.*, 2013, **34**, 1589.

Praca wpłynęła do Redakcji 21 sierpnia 2014



**PRONUKLEOTYDY O STRUKTURZE  
AMIDOFOSFORANÓW I ICH  
WEWNĄTRZKOMÓRKOWY MECHANIZM  
AKTYWACJI**

**PHOSPHORAMIDATE PRONUCLEOTIDES  
AND THEIR INTRACELLULAR ACTIVATION  
MECHANISM**

**Katarzyna Kulik<sup>1\*</sup>, Janina Baraniak<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> *Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk,  
Zakład Chemii Bioorganicznej  
ul. Sienkiewicza 112, 90-262 Łódź*

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

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Wewnątrzkomórkowa aktywacja pronukleotydów o strukturze amidofosfodiestrów
2. Wewnątrzkomórkowa aktywacja pronukleotydów o strukturze amidofosfomonoestrów
3. Aktywacja amidofosforanowych pronukleotydów przez białko Hint

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr Katarzyna Kulik** ukończyła Wydział Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w 2005 roku i w tym samym roku rozpoczęła pracę w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN w Łodzi. Stopień naukowy doktora uzyskała w 2013 roku. Jej zainteresowania naukowe dotyczą głównie projektowania, syntezy i badania wybranych właściwości biologicznych modyfikowanych nukleozydów o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym i przeciwwirusowym.

**Dr hab. Janina Baraniak** po ukończeniu studiów na Wydziale Chemii Politechniki Łódzkiej rozpoczęła pracę w CBMM PAN w Łodzi pod kierunkiem Prof. Wojciecha Steca, gdzie w 1986 roku uzyskała stopień naukowy doktora a w 2005 roku stopień doktora habilitowanego. Głównym przedmiotem zainteresowań naukowych jest chemia modyfikowanych nukleozydów, nukleotydów i oligonukleotydów. Prowadzone badania są skoncentrowane nad syntezą związków o potencjalnych właściwościach terapeutycznych jak i istotnym znaczeniu poznawczym nakierowanym na badania mechanistyczne procesów biochemicznych. Jest promotorem dwóch prac doktorskich i współautorką 64 publikacji. Od 2006 roku pracuje również w Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie.



## ABSTRACT

Nucleoside analogues have great therapeutic potential for the treatment of cancer and viral diseases. Once inside the cell, they are activated by a series of intracellular phosphorylation steps to produce 5'-triphosphate derivatives, which can be incorporated to DNA or RNA and act as terminators of growing polynucleotide chains [1c]. In many cases, nucleoside analogues are poor substrates for the cellular kinases needed for their activation [5]. It is clear that intracellular introduction of nucleoside analogues as phosphorylated metabolites (so called pronucleotides) could circumvent difficulties associated with the use of non-phosphorylated nucleoside analogues and could even activate inactive compounds or could increase the activity of the nucleoside analogues. However, polarity and a ready degradation by phosphatases make the use of free nucleotide analogues impractical. Therefore, much of the recent efforts have been focused on finding suitable prodrugs of nucleoside analogue monophosphates.

Among the current diverse prodrug approaches, nucleoside phosphoramidate derivatives appear to be an interesting class of antiviral and anticancer agents [1c]. These prodrugs, as are devoid of negative charge, should be able to cross the cell membrane either by diffusion or utilizing transport protein [1c].

Conducted cell extract studies have provided evidence of a bioactivation mechanism that relies on enzyme-catalyzed P-N bond hydrolysis in phosphoramidate pronucleotides [1a,b]. It was assumed that phosphoramidate derivatives should generate nucleoside monophosphates inside the cell at rates that are influenced by both the nature of the amino group and the pH of the medium. Then nucleoside monophosphates should be phosphorylated in two different steps to the corresponding 5'-O-triphosphates (NTP) which can inhibit polymerase or be incorporated into the DNA strand being synthesized in the cell.

Over the last decade extensive studies has been carried out to establish the mechanism of action of phosphoramidates and identification of enzymes responsible for bioactivation this pronucleotides to phosphorylated nucleosides [7, 21, 24]. Investigation of metabolism pathways provided evidence that phosphoramidase activity of Hint (histidine triad nucleotide-binding proteins) play a key role in the activation of phosphoramidate pronucleotides [23–27].

Keywords: pronucleotides, phosphoramidates, phosphoramidase activity, Hint (histidine triad nucleotide binding protein), prodrug

Słowa kluczowe: pronukleotydy, amidofosforany, aktywność fosforoamidazowa, Hint (białko triady histydynowej wiążącej nukleotydy), prolek

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Hint	- białko triady histydynowej wiążącej nukleotydy
NTP	- 5'-O-trifosforan nukleozydu
NMP	- 5'-O-monofosforan nukleozydu
AMP	- adenozyno-5'-monofosforan
AMPS	- adenozyno-5'-tiofosforan
AZT	- 3'-azydo-2',3'-dideoksytymidyna
D4T	- 2',3'-didehydro-2',3'-dideoksytymidyna
Ara-C	- 1- $\beta$ -D-arabinofuranozylocytozyna
FUdR	- 5-fluoro-2'-deoksyurydyna
<i>E. Coli</i>	- pałeczka okrężnicy
HIV	- ludzki wirus niedoboru odporności
MT-4	- komórki ludzkich T-limfocytów
CEM	- komórki ostrej białaczki limfoblastycznej
PBMCs	- jednojądrzaste komórki krwi obwodowej

## WPROWADZENIE

Analogi nukleozydów stanowią zasadniczą grupę stosowanych klinicznie leków przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych. Należą one do grupy proleków, gdyż same są nieaktywne i dopiero w organizmie człowieka ulegają przemianom do formy aktywnej. Biologicznie aktywną formą nukleozydów są ich 5'-trifosforany, gdyż w tej formie są one wbudowywane w rosnący łańcuch DNA lub RNA. Stąd też, aby analogi nukleozydów mogły przejawiać właściwości terapeutyczne muszą one ulegać trójstopniowemu procesowi fosforylacji katalizowanemu przez odpowiednie kinazy wirusowe lub kinazy komórek gospodarza. Dla wielu modyfikowanych nukleozydów pierwszy etap fosforylacji jest etapem decydującym o szybkości całego procesu, przez co bezpośrednio wpływa na aktywność biologiczną tych związków. Poszukując bardziej aktywnych leków przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych naukowcy projektują tzw. pronukleotydy, mające za zadanie omińnięcie pierwszego etapu aktywacji enzymatycznej.

Pronukleotydy są 5'-O-fosforanowymi pochodnymi nukleozydów, w których do grupy fosforanowej zostały przyłączone lipofilowe nośniki umożliwiające transport dokomórkowy. Wśród różnorodnych klas pronukleotydów od kilkudziesięciu lat zainteresowaniem wielu grup badawczych cieszą się związki o strukturze amidofosforanów. W tym przypadku reszty aminowe bądź amidowe pełnią funkcję grup maskujących ugrupowanie fosforanowe.

Przesłankę do zaprojektowania pierwszych pronukleotydów o strukturze amidofosforanowych pochodnych stanowiły prace dotyczące syntezy nukleozydo-5'-di- i trifosforanów, w których jako związki pośrednie były wykorzystane nukleozydo-5'-amidofosforanowe pochodne różnych amin [1a,b]. Badano ich reaktywność nie tylko w odniesieniu do tworzenia wiązania pirofosforanowego, lecz również ich podatność na hydrolizę. Okazało się, że amidofosforany były stosunkowo mało stabilne w środowisku wodnym, dzięki czemu w medium komórkowym ulegały szybkiej hydrolizie do odpowiednich fosforanów.

Opierając się na tych doświadczeniach zaprojektowano odpowiednie amidofosforanowe pronukleotydy, które będąc związkami pozbawionymi ładunku ujemnego powinny łatwo przenikać przez błony komórkowe na drodze biernej dyfuzji lub z wykorzystaniem białek transportujących nukleozydy [1c]. Natomiast po dostaniu się do komórki, jako bardziej podatne na hydrolizę niż ich fosforanowe analogi, amidofosforanowe pochodne powinny generować pożądany nukleozydomonofosforan z szybkością zależną od natury zastosowanej grupy aminowej oraz wartości pH medium komórkowego.

Zakładano, iż aktywacja amidofosforanowych pochodnych nukleozydów powinna przebiegać wewnątrz komórki drogą hydrolizy enzymatycznej. Przypuszczano, iż usunięcie amidowej grupy maskującej funkcję fosforanową może zachodzić w wyniku rozerwania wiązania P-N w reakcji katalizowanej przez enzym o aktywności fosforoamidazy. Uwolniony w ten sposób monofosforan nukleozydowego (NMP) leku przeciwwirusowego lub przeciwnowotworowego powinien

być następnie fosforylowany do 5'-trifosforanu nukleozydu (NTP) w procesie katalizowanym przez odpowiednie kinazy wirusowe lub kinazy komórek gospodarza. W kolejnym etapie utworzony NTP byłby wbudowywany w rosnący łańcuch DNA lub RNA powodując zahamowanie jego syntezy poprzez terminację elongacji łańcucha. Ponadto niektóre 5'-trifosforany modyfikowanych nukleozydów mogą inhibować kluczowe enzymy biorące udział w syntezie nukleozydów purynowych i pirymidynowych oraz w syntezie RNA [2].

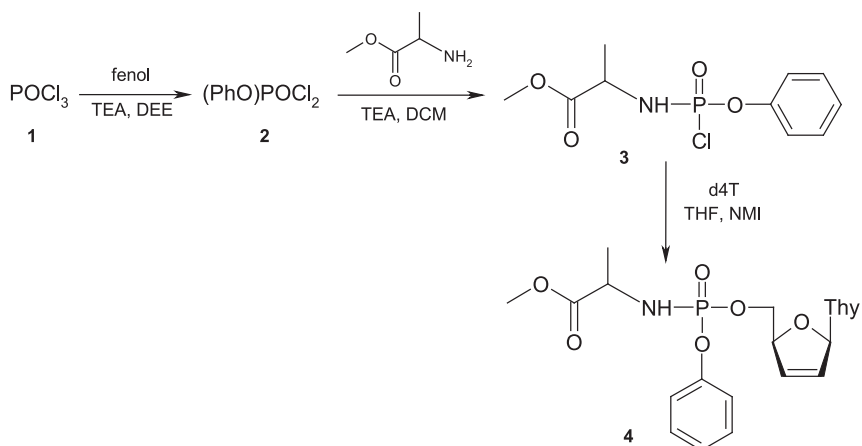
Fakt, iż związki zawierające ugrupowanie amidofosforanowe mogą ulegać hydrolizie enzymatycznej został po raz pierwszy odnotowany w 1959 roku przez Smitha i Burrowa [3]. Przeprowadzone badania eksperymentalne udowodniły, iż ekstrakt wybranych szczepów *E. Coli* posiada zdolność hydrolizowania amidofosforanu adenozydu (AMP-NH<sub>2</sub>).

Natomiast Shabarova w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku pokazała, iż fosforoamidaza wyizolowana z ekstraktów pochodzących z wątroby szczura oraz królika wykazuje wysoką specyficzność wobec amidofosforanonukleozydów i nie katalizuje hydrolizy fosforanów oraz amidofosforanów nie będących pochodnymi nukleozydów [4]. Przeprowadzone badania dotyczące zależności między strukturą substratów a ich aktywnością wykazały, iż fosforoamidaza najszybciej hydrolizuje pochodne nukleozydów purynowych zawierające niezatłoczone przestrzennie podstawniki aminowe oraz resztę aminokwasową o konfiguracji D. Dodatkowo zastąpienie pierścienia rybozy przez 2'-deoksyrybozę również zmniejszało szybkość hydrolizy badanego substratu. Postulowano, iż protonowanie atomu azotu w ugrupowaniu amidofosforanowym poprzedza rozszczepienie wiązania P-N.

## 1. WEWNĄTRZKOMÓRKOWA AKTYWACJA PRONUKLEOTYDÓW O STRUKTURZE AMIDOFOSFODIESTRÓW

Po raz pierwszy amidofosforanowe pochodne nukleozydów przeciwwirusowych zostały zaprojektowane przez McGuigana w 1993 roku jako potencjalne inhibitory odwrotnej transkryptazy wirusa HIV-1 [5].

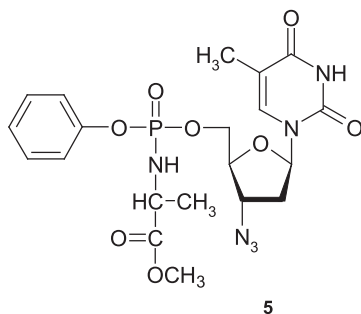
Pierwszy etap syntezy tych związków polegał na reakcji tlenochlorku fosforu (1) z fenolem. Otrzymany w ten sposób dichlorofosforan 2 reagował z chlorowodorkiem estru aminokwasu dając odpowiedni chlorofosforan 3 (Schemat 1). W kolejnym etapie przeprowadzona fosforylacja 5'-hydroksylowej grupy nukleozydu za pomocą chlorofosforanu 3 prowadziła do pożądaných amidofosfodiestrów 4. W przypadku, gdy ta ostatnia reakcja była prowadzona wobec *N*-metyloimidazolu związki 4 powstawały z wydajnością 30–50% natomiast zmiana warunków reakcji na mieszaninę pirydyna/*N*-metyloimidazol skutkowała wzrostem wydajności reakcji do 70%.



Schemat 1. Synteza pronukleotydów o strukturze amidofosfodiestrów  
 Scheme 1. Synthesis phosphoramidate diester pronucleotides

Otrzymana seria amidofosfodiestrowych pochodnych AZT oraz d4T zawierająca w swej strukturze fragmenty naturalnych aminokwasów wykazała w wielu przypadkach wyższą aktywność przeciwwirusową niż niemodyfikowane nukleozydy [5, 6].

Wśród zsyntezowanych amidofosfodiestrowych pochodnych AZT, związek 5 (Rys. 1) zawierający w swej strukturze fragment alaniny oraz niepodstawioną grupę fenylową wykazywał największą aktywność inhibitorową wobec wirusa HIV-1 w komórkach MT-4 (komórki ludzkich T-limfocytów).

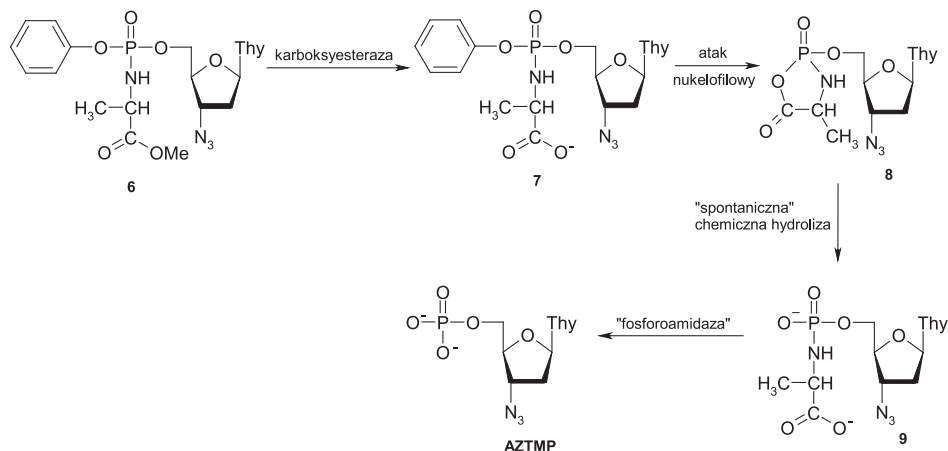


Rysunek 1. Struktura 5'-O-amidofosfodiestrowej pochodnej AZT  
 Figure 1. Structure of 5'-O-phosphoramidate derivative of AZT

Ważnym wynikiem przeprowadzonych badań biologicznych było stwierdzenie, że amidofosforanowa pochodna d4T była zarówno aktywna w komórkach CEM/0 (komórki ostrej białaczki limfoblastycznej) jak i w komórkach CEM/TK<sup>-</sup> (komórki ostrej białaczki limfoblastycznej z deficytem kinazy tymidynowej). Fakt ten potwierdzał, że koncepcja wyeliminowania pierwszego etapu fosforylacji nukleozydu, który w przypadku d4T jest etapem decydującym o szybkości całego procesu fosforylacji,

okazała się być trafna dla tego pronukleotydu. Natomiast wyraźnie niższa aktywność biologiczna amidofosforanowych pochodnych AZT w komórkach CEM/TK<sup>-</sup> w stosunku do komórek CEM/0 wynikała z faktu, iż w przypadku tego nukleozydu konwersja odpowiedniego monofosforanu do difosforanu jest etapem ograniczającym szybkość trój etapowego procesu fosforylacji [6].

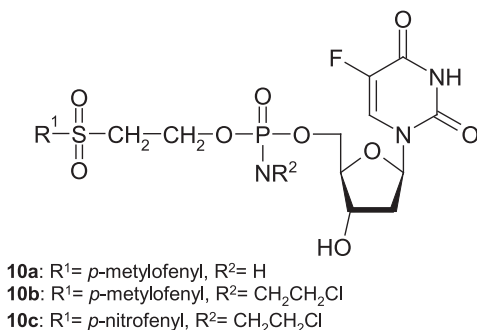
Prowadzone w kilku ośrodkach badawczych badania mające na celu poznanie metabolizmu amidofosforanowych pronukleotydów wskazywały, iż pierwszym etapem aktywacji tych związków jest katalizowana przez karboksyesterazę hydroliza ugrupowania karboksyestrowego we fragmencie aminokwasowym (**6**, Schemat 2) prowadząca do powstania związku **7** [7]. Następnie w wyniku wewnątrzcząsteczkowego ataku nukleofilowego grupy karboksylowej na atom fosforu dochodzi do utworzenia pięcioczłonowego, cyklicznego związku pośredniego **8**, czemu towarzyszy spontaniczna eliminacja fenolu. Związek ten jest nietrwały i na drodze hydrolizy chemicznej zostaje przekształcony w amidofosfomonoestrową pochodną **9** i następnie w kolejnym etapie w monofosforan nukleozydu (AZTMP). Jednakże naukowcom nie udało się jednoznacznie ustalić czy rozszczepienie wiązania P-N katalizowane jest głównie przez specyficzne fosfatazy, które zwykle wykorzystują jako substraty estry fosforanowe czy też przez fosforoamidazę specyficzną dla amidofosforanów [8]. Wolny nukleozyd (AZT), który był również jednym z metabolitów tworzy się najprawdopodobniej w wyniku katalizowanej przez fosfatazy bądź 5'-nukleotydyazy hydrolizy AZTMP. Na podstawie badań mechanizmu aktywacji amidofosforanowych pochodnych nukleozydów ustalono, iż warunkiem koniecznym w tym procesie jest obecność w cząsteczce pronukleotydu estru metylowego  $\alpha$ -aminokwasu, który ulega hydrolizie w etapie poprzedzającym eliminację fenolu [9].



Schemat 2. Aktywacja pronukleotydów o strukturze amidofosfodiestrów  
 Scheme 2. The activation of the phosphoramidate diester pronucleotides

Inną grupę amidofosforanowych pochodnych pronukleotydów zaproponował Zespół Kwona [10]. W tym przypadku ugrupowanie sulfonyloetylowe stanowiło

grupę maskującą funkcję fosforanową w pochodnej 5-fluorodeoksyurydyny (**10a-c**, Rys. 2), nukleozydu o właściwościach przeciwnowotworowych hamującego aktywność syntazy tymidylanowej.



Rysunek 2. Struktura amidofosfodiesteru z ugrupowaniem sulfonyloetylowym  
 Figure 2. Structure of phosphoramidate diester with sulfonylethyl group

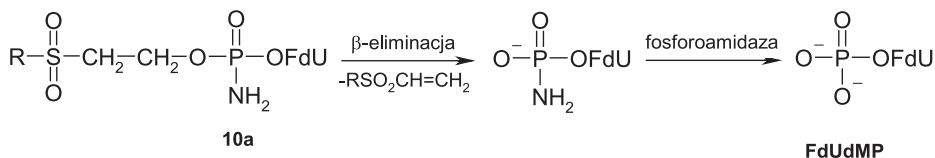
Zaproponowany mechanizm aktywacji tych związków zakładał w pierwszym etapie  $\beta$ -eliminację grupy sulfonyloetylowej prowadzącą do utworzenia odpowiedniego amidofosforanu i następnie zerwanie wiązania P-N z uwolnieniem FdUMP (Schemat 3).

Przypuszczano, iż enzym o aktywności fosforoamidazy będzie hydrolizował to wiązanie w przypadku pochodnej **10a** (Schemat 3a), natomiast proces generowania wolnego nukleotydu z pochodnej **10b** będzie przebiegał przez spontaniczną hydrolizę azyrydiniowego związku pośredniego **11** lub jego alkilowanej pochodnej **12** (Schemat 3b).

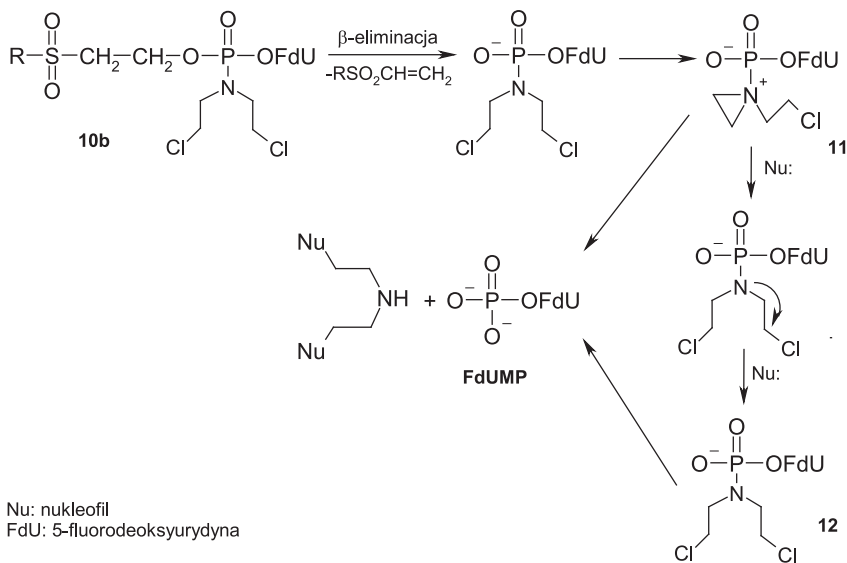
Badania stabilności otrzymanych związków potwierdziły, iż aktywacja zachodzi poprzez  $\beta$ -eliminację, której szybkość zależy od rodzaju podstawnika w grupie sulfonyloetylowej. Obecność elektronodonorowej grupy *p*-metylofenylowej obniża kwasowość  $\alpha$ -protonu i zmniejsza szybkość hydrolizy w porównaniu ze związkiem posiadającym elektronoakceptorową grupę *p*-nitrofenylową. Ponadto pochodna **10a** zawierająca niepodstawioną grupę aminową okazała się być trwalsza niż jej *N,N*-bis(2-chloroetylowy) analog **10b**.

Otrzymane pronukleotydy wykazały większą aktywność inhibitorową wobec komórek linii V67 (fibroblasty płucne chomika chińskiego) niż odpowiednie pochodne urydyny zsyntezowane jako związki modelowe.

a.



b.



Nu: nukleofil

FdU: 5-fluorodeoksyrydina

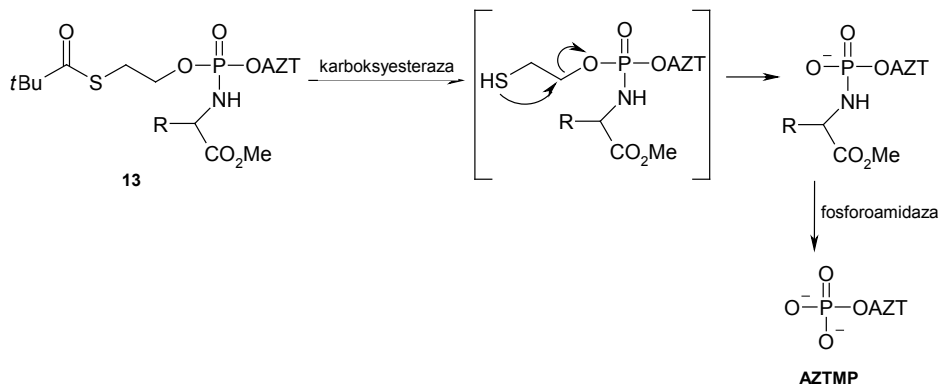
Schemat 3. Aktywacja pronukleotydów zawierających grupę sulfonylową

Scheme 3. The activation pathway of the pronucleotides containing sulfonfyl group

Na uwagę zasługują także zsyntezowane w Zespole Imbacha amidofosfodiestrowe pochodne AZT (**13**, Schemat 4), w których grupę maskującą stanowiło również ugrupowanie aminokwasowe [11]. Natomiast biolabilna grupa S-piwaloilo-2-tioetylowa (tBuSATE) była wykorzystana jako drugi podstawnik maskujący funkcję fosforanową.

W przeciwieństwie do aryloamidofosfodiestrowych pochodnych nukleozydów zaprojektowanych przez McGuigana, związki zawierające ugrupowanie tBuSATE umożliwiały dostarczenie pożądanego 5'-monofosforanu nukleozydu wyłącznie drogą enzymatycznej aktywacji. W pierwszej kolejności w reakcji katalizowanej przez karboksyesterazę zachodziła hydroliza estru karboksylowego aminokwasu oraz eliminacja grupy SATE, a następnie pod działaniem enzymu o aktywności fosforoamidazy dochodziło do rozszczepienia wiązania P-N.



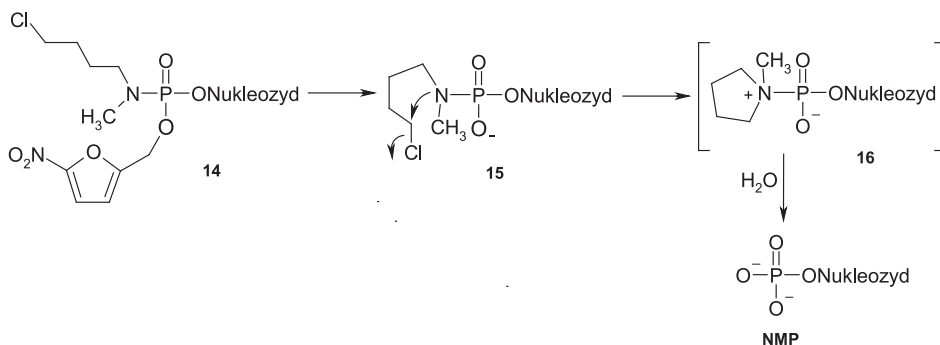


Schemat 4. Aktywacja SATE amidofosfodiestrów

Scheme 4. The activation of SATE phosphoramidate diesters

Większość otrzymanych amidofosfodiestrów pochodnych była inhibitorami procesu replikacji wirusa HIV-1 zarówno w komórkach CEM/0 jak i CEM/TK. Interesujący wynik stanowiła aktywność biologiczna pochodnych posiadających modyfikacje zarówno w grupie SATE, jak i we fragmencie amidowym. W tym przypadku nawet zamiana podstawnika aminokwasowego na alkiloaminę nie obniżała właściwości przeciwwirusowych związku.

Głównym ograniczeniem koncepcji pronukleotydów o strukturze amidofosforanowych pochodnych aminokwasów była możliwość hydrolizy tych związków bezpośrednio przed wniknięciem do komórki w procesie katalizowanym przez powszechnie występujące niespecyficzne esterazy. Ponadto finalna hydroliza wiązania P-N przebiegała na tyle wolno, że następowała wewnątrzkomórkowa akumulacja nukleotydu [12]. Borch wraz ze współpracownikami zaprojektował amidofosforanowe pochodne nukleozydów, które zgodnie z założeniem miały eliminować te ograniczenia [13].



Schemat 5. Aktywacja pronukleotydów o strukturze nitrofuranylmetylowych amidofosforanów

Scheme 5. The activation of nitrofuranylmethyl phosphoramidate pronucleotides

Jako podstawnik zapewniający transport dokomórkowy nukleotydu zastosowano grupę nitrofurylową **14** (Schemat 5), która w wyniku bioredukcyjnej aktywacji nukleotydu **14** ulegała eliminacji prowadząc do utworzenia związku anionowego **15**. Grupę maskującą w **14** stanowiła halogenobutyloamina ulegająca w kolejnym etapie spontanicznej cyklizacji prowadzącej do piroolidynowego związku przejściowego **16**.

Wszystkie otrzymane według powyższej koncepcji amidofosforanowe pochodne FdUMP wykazały wysoką aktywność inhibitorową wobec mysich komórek białaczki L1210 ( $IC_{50}$  0,5–3 nM). Wyniki badań aktywności syntazy tymidylanowej w komórkach z deficytem kinazy tymidynowej potwierdziły, iż aktywacja pronukleotydu przebiega poprzez proponowany mechanizm obejmujący wewnątrzkomórkowe generowanie FdUMP.

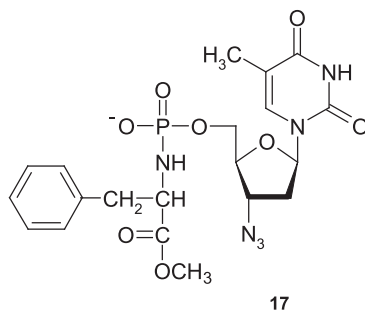
Poszerzając zastosowanie powyższej koncepcji amidofosforanowych pronukleotydów, Zespół Borchy zsyntetyzował serię pochodnych cytarabiny [ $1-\beta$ -D-arabinofuranozylocytozyny (Ara-C)], nukleozydu stosowanego w terapiach przeciwnowotworowych [14]. Choć przypuszczano, iż Ara-CTP działa w oczekiwany sposób (hamuje wiązanie trifosforanu 2'-deoksycytydyny z polimerazą DNA a po wbudowaniu do wydłużającego się łańcucha DNA prowadzi do błędnej bądź niekompletnej syntezy nici DNA), to jego użyteczność była ograniczona przez słaby transport do wnętrza komórki oraz niską aktywność substratową względem kinaz pochodzących z komórek nowotworowych. Przeprowadzone badania aktywności biologicznej potwierdziły, że otrzymane pronukleotydy w porównaniu z niemodyfikowaną cytarabiną są znacznie bardziej aktywne wobec linii komórek z niedoborem kinazy deoksycytydynowej oraz linii odpornej na transport nukleozydu, co stanowi potwierdzenie mechanizmu obejmującego wewnątrzkomórkowy transport 5'-monofosforanu cytarabiny.

Grupa Borchy zsyntezowała również amidofosforanową pochodną gemcytabiny (dFdC) zawierającą jako grupę maskującą resztę *N*-metylo-*N*-4-chlorobutyloową, której aktywność badano w odniesieniu do linii komórek nowotworu płuc, jajników oraz białaczki [15]. Mimo, iż związek ten okazał się być mniej aktywny od dFdC w komórkach dzikiego typu, to w komórkach posiadających niedobór kinazy deoksycytydynowej był znacząco aktywniejszy od niemodyfikowanego nukleozydu.

## 2. WEWNĄTRZKOMÓRKOWA AKTYWACJA PRONUKLEOTYDÓW O STRUKTURZE AMIDOFOSFOMONOESTRÓW

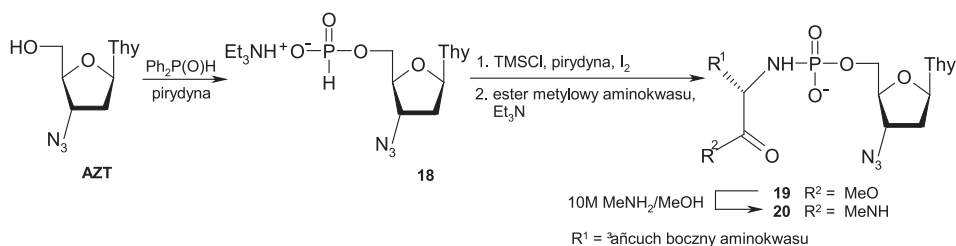
W 1994 roku Wagner zsyntezował w oparciu o metodę amidofosforynową i reakcję oksydacyjnego amidowania pronukleotydy o strukturze amidofosfomonoestrów (**17**, Rys. 3), w których grupę maskującą stanowiły aminokwasy [16, 17]. Przesłankę przemawiającą za ich syntezą stanowiło założenie, iż tego typu proleki powinny być lepiej rozpuszczalne w wodzie w porównaniu do diestrów, a podstawnik będący resztą hydrofobowego aminokwasu powinien umożliwiać efektywniej-

szy transport aktywnych nukleotydów do wnętrza komórki oraz zwiększać ich stabilność w osoczu.



Rysunek 3. Struktura amidofosfomonoestrowej pochodnej AZT  
Figure 3. Structure of phosphoramidate monoester derivative of AZT

Niska wydajność związków zsyntezowanych w oparciu o metodę amidofosforynową jak również konieczność wielokrotnie powtarzanego procesu chromatograficznego w celu otrzymania czystych produktów, skłoniła autorów do poszukiwania wydajniejszego sposobu ich otrzymywania. Wykorzystanie *H*-fosfonianowych związków pośrednich okazało się wydajniejszą metodą otrzymania amidofosforanowych monoestrów [18a]. W tym celu nukleozydy poddawano reakcji z fosforynem difenylowym otrzymując odpowiednie 5'-*H*-fosfoniany nukleozydów **18** [18b], które następnie traktowano nadmiarem chloroku trimetylosililowego i utleniano jodem. Finalne sprzężanie z estrem metylowym aminokwasu wobec trytyloaminy prowadziło do powstania pożądaných amidofosfomonoestrów **19** z wydajnością 31–70%. Związki te poddane reakcji z 10M roztworem metyloaminy przekształcono następnie w odpowiednie N-metyloamidowe pochodne **20**.



Schemat 6. Synteza pronukleotydów o strukturze amidofosfomonoestrów  
Scheme 6. Synthesis of phosphoramidate monoester pronucleotides

Otrzymane pronukleotydy o strukturze amidofosfomonoestrów w wielu przypadkach posiadały większą aktywność niż niemodyfikowane nukleozydy. Badania biologiczne tego typu pochodnych AZT wykonane na liniach komórkowych PBMCs (jednojądrzaste komórki krwi obwodowej) oraz CEM wykazały, iż pochodne fenylalaniny oraz tryptofanu są najaktywniejszymi związkami, co więcej w ich przypadku nie obserwowano efektu cytotoksycznego przy stężeniach 100  $\mu\text{M}$ .

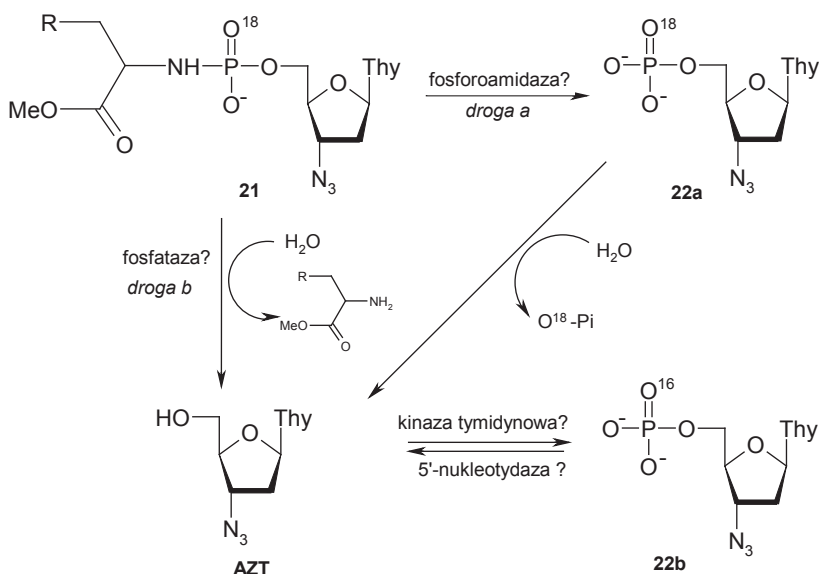
Zsyntezowane w Zespole Wagnera pronukleotydy o strukturze amidofosfomonoestrów odpowiadają pod względem strukturalnym aktywnym metabolitom amidofosfodiestrów zaprojektowanych przez McGuigana. Jakkolwiek aktywność biologiczna amidofosfodiestrów pochodnych była zależna od konfiguracji na chiralnym atomie węgla aminokwasu, to dla pronukleotydów zaprojektowanych przez Wagnera nie obserwowano takiej zależności [19]. Amidofosfomonoestry posiadające na aminokwasowym C-końcu nie ulegające hydrolizie pod działaniem karboksyesteraz ugrupowanie *N*-metyloamidowe, wykazywały porównywalną aktywność przeciwwirusową, a w niektórych przypadkach nawet większą niż odpowiednie pochodne z C-końcem w postaci estru metylowego [20a]. W oparciu o te wyniki założono, iż aktywacja amidofosfomonoestrów nie przebiega w taki sposób jak ich analogów amidofosfodiestrów, to jest poprzez poprzedzającą hydrolizę wiązania P-N konwersję do odpowiednich kwasów karboksylowych.

Aktywność przeciwwirusowa amidofosfomonoestrów jest ściśle związana z wewnątrzkomórkowym poziomem odpowiedniego monofosforanu nukleozydu (NMP). Przypuszczano, iż fragment aminokwasowy pronukleotydu decyduje o efektywności wewnątrzkomórkowej konwersji do NMP. W Laboratorium Wagnera przeprowadzono pierwsze badania dotyczące aktywacji amidofosfomonoestrów pochodnych 5-fluoro-2'-deoksyurydyny (FUdR) zawierających resztę tryptofanu lub fenyloalaniny, polegające na określeniu ilości generowanego FUdRMP oraz FUdR w komórkach CEM w danym przedziale czasowym [20b]. Naukowcy zaobserwowali, że chociaż początkowo odpowiedni 5'-monofosforan FUdR tworzył się znacznie wydajniej niż sam nukleozyd, to już po 2 godzinach szybkości generowania obu związków były niemal identyczne. Opierając się na tych wynikach autorzy wysnuli wniosek, iż aktywacja badanych pronukleotydów przebiega dwuetapowo i obejmuje rozszczepienie wiązania P-N przez nieznaną enzym o aktywności fosfoamidazy oraz następującą hydrolizę wiązania P-O katalizowaną przez odpowiednią fosfatazę.

Badania szlaku metabolicznego amidofosfomonoestrów pochodnych AZT potwierdziły hydrolazową aktywność ekstraktu linii komórek CEM [20a]. Zsyntezowane analogi AZT, których funkcję amidofosforanową zastąpiono ugrupowaniem karbaminianowym, hamowały proces generowania nukleotydu wykazując właściwości inhibitorowe. Aktywność przeciwwirusowa amidofosforanowej pochodnej AZT zawierającej resztę tryptofanu o konfiguracji L, przeczyła wcześniejszym przypuszczeniom, iż enzymem odpowiedzialnym za hydrolizę wiązania P-N w amidofosfomonoestrach jest opisana przez Shabarową fosforoamidaza 5'-rybonukleotydoma pochodząca z ludzkich limfocytów [4].

Przeprowadzono szereg eksperymentów mających na celu poznanie mechanizmu wewnątrzkomórkowej aktywacji amidofosfomonoestrów [21]. Badania z wykorzystaniem techniki HPLC-ESI-MS/MS wykonano na pochodnej AZT (**21**, Schemat 7), w której fosforylowy atom tlenu został zastąpiony izotopem tlenu  $O^{18}$ . Pronukleotyd ten inkubowano z komórkami CEM i analizowano powstałe produkty

w różnych przedziałach czasowych. Obecność monofosforanu **22a** wskazywała, iż następuje katalizowana enzymatycznie hydroliza wiązania P-N (Schemat 7, droga a). Jednakże wewnątrzkomórkowa konwersja pochodnej **21** do monofosforanu **22b** może również przebiegać poprzez defosforylację katalizowaną najprawdopodobniej przez fosfatazę (Schemat 7, droga b) i następczą fosforylację prowadzącą do związku **22b**. Podwyższony poziom wewnątrzkomórkowego AZT i prawie zupełny zanik [ $^{18}\text{O}$ ]-AZT-MP (**22a**) dowodził, iż tworząca się monofosforanowa pochodna AZT (**22b**) jest szczególnie podatna na defosforylację katalizowaną 5'-nukleotydazami. W przeciwieństwie do komórek CEM, eksperymenty przeprowadzone na komórkach PBMCs wykazały wyższy poziom [ $^{18}\text{O}$ ]-AZT-MP (**22a**), natomiast ilość AZT była w nich niemal niewykrywalna. Powodem obserwowanego zróżnicowania jest niższy poziom ekspresji 5'-nukleotydazy w komórkach PBMCs w stosunku do komórek CEM.



Schemat 7. Aktywacja pronukleotydów o strukturze amidofosfomonoestrów

Scheme 7. The activation of the phosphoramidate monoester pronucleotides

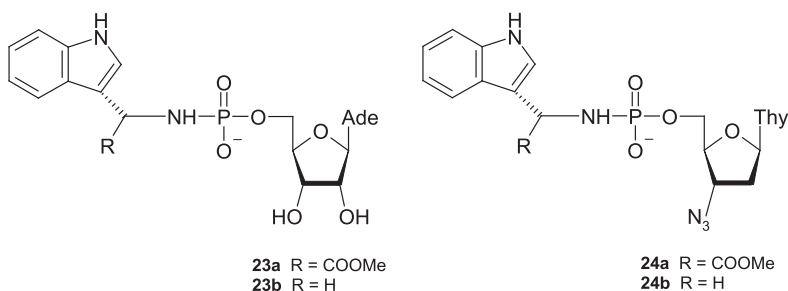
Na szczególną uwagę zasługują zsyntezowane w Zespole Kraszewskiego N-aryloamidofosforanowe pochodne AZT [22]. Jakkolwiek wszystkie te związki wykazywały aktywność anty-HIV, to pochodne aminopirydynylowe posiadały zarówno najwyższą aktywność przeciwwirusową ( $\text{EC}_{50} < 0.002\mu\text{M}$ ) jak i bardzo niską cytotoksyczność ( $\text{CC}_{50} \gg 200\mu\text{M}$ ).

### 3. AKTYWACJA AMIDOFOSFORANOWYCH PRONUKLEOTYDÓW PRZEZ BIAŁKO HINT

Prowadzone w ostatnich latach badania metabolizmu amidofosforanowych pochodnych nukleozydów wskazują, iż enzymem odpowiedzialnym za ich hydrolizę jest rodzina białek Hint (ang. *histidine triad nucleotide binding protein*) o aktywności fosforoamidazy nukleozydowej. Obecność w każdym sekwencjonowanym do tej pory genomie enzymów posiadających aktywność białka Hint świadczy, że białka te występują we wszystkich organizmach. Jakkolwiek białko Hint zostało opisane po raz pierwszy w 1997 roku to substraty dla tego białka i mechanizm jego działania zaproponowano dopiero w 2002 roku [23].

W laboratorium Brennera wykazano, że enzym wyizolowany zarówno z drożdży, jak i komórek ssaczych hydrolizuje adenozylo-5'-O-amidofosforan (AMP-NH<sub>2</sub>) i AMP-N-ε-(N-α-acetylizynometyloester) do AMP. Był to pierwszy dowód świadczący o tym, że białko Hint posiada aktywność fosforoamidazową i może być ono enzymem odpowiedzialnym za aktywację pronukleotydów o strukturze amidofosforanów w warunkach *in vivo*. Powstała również hipoteza, że Hint w procesie ewolucji rozwinął się jako enzym spontanicznie hydrolizujący adenylowane białka, regulując w ten sposób ich funkcje *in vivo*.

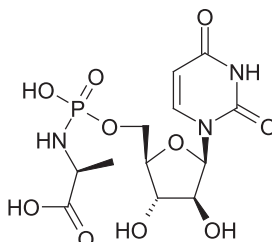
Dalsze badania prowadzone w Laboratorium Wagnera dotyczące zależności pomiędzy aktywnością białka Hint a strukturą amidofosforanów wykazały, iż związki zawierające niezatłoczone przestrzennie grupy aminowe oraz grupę hydroksylową w pozycji 2', zarówno w α i β konfiguracji, powinny być łatwo bioaktywowane przez Hint [24]. Jednakże autorom opierającym swoje badania głównie na analizie <sup>31</sup>P NMR nie udało się jednoznacznie potwierdzić, iż L-feniloalanyloamidofosforanowa pochodna AZT wykazująca aktywność przeciwwirusową oraz przeciwnowotworową jest substratem dla ludzkiego hHint1. Stąd też następne prace wykonane przy użyciu bakteriofagów T7 z zastosowaniem fagowej ekspozycji peptydów (ang. *phage display*), chromatografii powinowactwa i kinetyki stanu stacjonarnego dowiodły, iż jest wysoce prawdopodobnym, że hHint1 odpowiada za bioaktywację amidofosforanowych pochodnych AZT w komórkach PBMCs oraz CEM [25]. Autorzy porównywali szybkość z jaką hHint1 hydrolizuje amidofosforanowe pochodne adenozyliny oraz AZT zawierające reszty estru metylowego L-tryptofanu bądź grupę 3-indoiloową (23 i 24, Rys. 4). Zaobserwowano, iż w przypadku związków zawierających fragment tryptofanu amidofosforanowa pochodna 23a była 32-krotnie lepszym substratem dla enzymu niż analog 24a, natomiast usunięcie fragmentu karboksymetylowego w obrębie aminokwasu (23b, 24b) zwiększało blisko milion razy selektywność enzymu. Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi danymi mówiącymi o tym, że pronukleotydy pochodne rybonukleotydów purynowych stanowią lepsze substraty dla rHint1.



Rysunek 4. Struktury amidofosforanowych substratów dla enzymu Hint

Figure 4. Structures of phosphoramidate substrates for Hint enzyme

McGuigan poszukując przyczyny braku aktywności przeciwwirusowej i przeciwnowotworowej zsintezowanych pronukleotydów pochodnych 2'- $\beta$ -D-arabionourydyny przeprowadził eksperymenty mające na celu poznanie wewnątrzkomórkowego metabolizmu amidofosfodiesterów [26]. Badanie wykonane na surowym ekstrakcie linii komórek nowotworowych CEM wykazało, iż pronukleotydy zawierające resztę L-alaninową oraz L-glicynową ulegały konwersji do odpowiednich amidofosfomonoestrowych związków pośrednich, natomiast analog zawierający resztę D-alaniny takiej przemianie nie podlegał. Autorzy wykluczyli również możliwość rozszczepienia wiązania P-N w tworzącej się amidofosfomonoestrowej pochodnej nukleozydu przez karboksyesterazę. Wykorzystując metodę dokowania molekularnego próbowano określić konformację związku pośredniego **25** (Rys. 5), która umożliwiłaby wiązanie ugrupowania fosforanowego z miejscem katalitycznym Hint-1. Konformacja amidofosfomonoestru, w której zasada pirymidynowa dobrze dopasowywała się do hydrofobowej kieszeni enzymu, nie umożliwiała wiązania się grup hydroksylowych pierścienia cukrowego z resztą kwasu asparaginowego znajdującego się w miejscu aktywnym enzymu. Natomiast w przypadku konformerów zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych między fragmentem cukrowym pronukleotydu a resztą kwasu asparaginowego obserwowano wypychanie cząsteczki amidofosfomonoestru na zewnątrz hydrofobowej kieszeni enzymu.

**25**

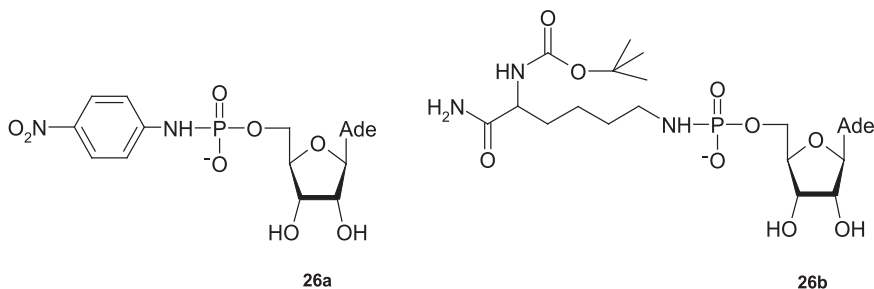
Rysunek 5. Struktura amidofosfomonoestrowego substratu dla enzymu Hint

Figure 5. Structures of phosphoramidate substrates for Hint enzyme



Dane te wskazywały jednoznacznie, iż hydroliza wiązania P-N w L-alanylowej pochodnej amidofosforanu AraU nie jest tak wydajna jak w przypadku AMP, co może być jedną z przyczyn niskiej aktywności przeciwwirusowej oraz cytotoksyczności badanej grupy pronukleotydów.

W Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN w Łodzi zsyntezowano adenozy-5'-O-(*p*-nitrofenylo)amidofosforan (**26a**) oraz adenozy-5'-O-[*N*- $\epsilon$ -(*N*- $\alpha$ -Boc-lizynoamido)]amidofosforan (**26b**), które były wykorzystane w Laboratorium Brennera do badania oddziaływania z białkiem Hint (Rys. 6).



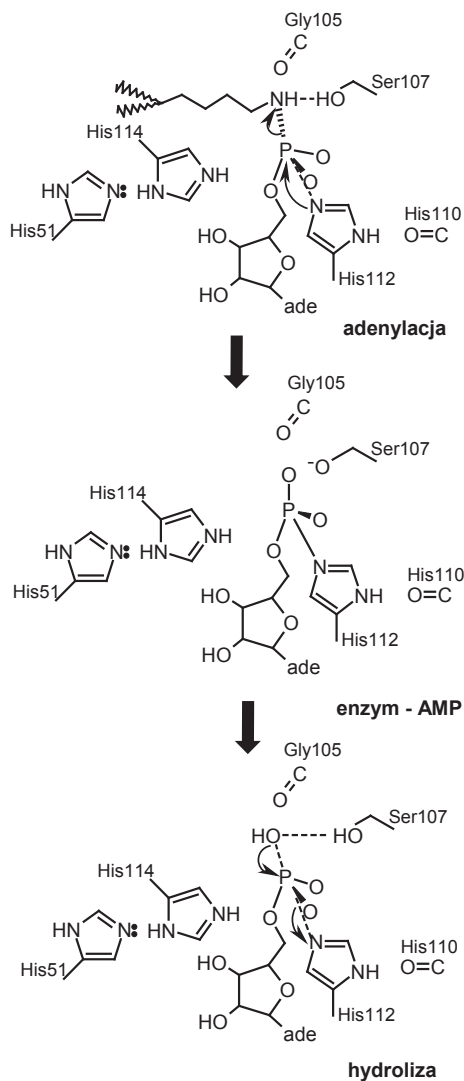
Rysunek 6. Struktury substratów dla enzymu Hint: AMP-*p*NA i AMP-*N*- $\epsilon$ -(*N*- $\alpha$ -Boc-lizynoamidu)  
 Figure 6. Structures of substrates for Hint enzyme: AMP-*p*NA and AMP-*N*- $\epsilon$ -(*N*- $\alpha$ -Boc-lysinoamide)

Zespół Brennera śledząc hydrolizę związków **26a** i **26b** scharakteryzował centrum katalityczne białka Hint i zaproponował mechanizm jego działania [27]. Etap adenylacji enzymu prowadzi do rozerwania wiązania P-N w substracie nukleozydyloaminokwasowym (Schemat 8, **26b**). Znajdująca się w centrum aktywnym seryna 107 pełniąc rolę kwasowo-zasadowego katalizatora protonuje atom azotu adenylowanego białka np.  $\epsilon$ -*N* lizyny. Utworzony związek pośredni enzym-substrat (HINT-His112)-AMP w wyniku ataku cząsteczki wody na atom fosforu ulega przekształceniu do AMP czemu towarzyszy uwolnienie cząsteczki enzymu.

Zaproponowany mechanizm aktywności hydrolazowej białka Hint jest zbieżny z przebiegiem hydrolizy katalizowanej przez białko FHIT, gdzie również tworzy się kowalencyjny związek pośredni enzym-substrat [28]. Białko FHIT należące do jednej z podklas białek HIT (białka traidy histydynowej), wśród których znajduje się także białko Hint, jest enzymem hydrolizującym dinukleotydy polifosforanowe Ap3A i Ap4A. Warto podkreślić, iż istnieją badania potwierdzające, iż białko FHIT hydrolizuje wiązanie P-N w 5'-O-amidofosforanie adenozy-5' oraz wiązanie P-F w 5'-O-fluorofosforanie adenozy-5' [29]

Natomiast w 2007 roku w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMM PAN w Łodzi ustalono stereochemię rozszczepienia wiązania P-N w *N*-typtofanyloamidowej pochodnej tiofosforanu adenozy-5' [30]. Reakcja ta zachodzi z retencją konfiguracji na atomie fosforu. Autorzy wykazali, iż hydrolizie wiązania P-N towarzyszy enzymatyczna reakcja rozszczepienia wiązania P-S, przy czym szybkość konwersji AMPS do AMP jest większa niż szybkość rozszczepienia wiązania P-N.





Schemat 8. Proponowany katalityczny mechanizm działania hydrolazy Hint

Scheme 8. Proposed catalytic mechanism for Hint hydrolase

## PODSUMOWANIE

Badania aktywności biologicznej amidofosforanowych pochodnych nukleozydów zawierających jako grupy maskujące reszty aminokwasowe, aryłowe, sulfonyłowe bądź halogenoalkilowe wykazały, że mogą one dostarczać nukleozydy do wnętrza komórek czyniąc je obiecującymi narzędziami wykorzystywanymi w terapiach przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych. Jakkolwiek przeprowadzone dotych-

czas badania metabolizmu amidofosforanowych pochodnych nukleozydów wskazują, iż enzymem odpowiedzialnym za aktywację tych związków jest rodzina białek Hint o aktywności fosforoamidazy nukleozydowej to sam mechanizm wewnątrzkomórkowej aktywacji pronukleotydów nie został w pełni poznany. W wielu laboratoriach badawczych prowadzone są intensywne prace mające na celu zidentyfikowanie wymagań substratowych enzymu odpowiedzialnego za rozerwanie wiązania P-N, które pozwoliłyby konstruować amidofosforanowe proleki o możliwie największej efektywności uwalnia aktywnego monofosforanu nukleozydu.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] a) J.G. Moffatt, H.G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, **83**, 649; b) J.W. Kozarich, A.C. Chinault, S.M. Hecht, *Biochemistry* 1973, **12**, 4458; C.R. Wagner, V.V. Iyer, E.J. McIntee, *Med. Res. Rev.* 2000, **20**, 417.
- [2] C.M. Galmarini, J.R. Mackey, C. Dumontet, *Leukemia*, 2001, **15**, 875.
- [3] R.S. Smith, D.J. Burrow, *Biochim. Biophys. Acta*, 1959, **34**, 274.
- [4] a) Z.A. Shabarova, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 1970, **10**, 145; b) S.M. Dudkin, R.K. Ledneva, Z.A. Shabarova, M.A. Prokofiev, *FEBS Lett.*, 1971, **16**, 48.
- [5] C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 1048.
- [6] C. McGuigan, D. Cahard, H. M. Sheeka, E. De Clercq, J. Balzarini, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 1748.
- [7] a) J. Balzarini, H. Egberink, K. Hartmann, D. Cahard, T. Vahlenkamp, H. Thormar, E. De Clercq, C. McGuigan, *Mol. Pharmacol.*, 1996, **50**, 1207; b) D. Egron, I. Lefebvre, C. Perigaud, T. Beltran, A. Pompon, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, J.-L. Imbach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, **8**, 1045.
- [8] a) S.J. Kelly, D.E. Dardinger, L.G. Butler, *Biochemistry*, 1975, **14**, 4983; b) S.L. Snyder, I.B. Wilson, *Biochemistry*, 1972, **11**, 3220.
- [9] D. Saboulard, L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, R. Pathirana, S. Velazquez, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini, *Mol. Pharmacol.*, 1999, **56**, 693.
- [10] Y.-W. Sun, K.-M. Chen, Ch.-H. Kwon, *Mol. Pharmaceutics*, 2006, **3**, 161.
- [11] D. Egron, J.-L. Imbach, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, C. Perigaud, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 4564.
- [12] S.C. Tobias, R.F. Borch, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 4475.
- [13] W. Wu, R.F. Borch, *Mol. Pharm.*, 2006, **3**, 451.
- [14] S.C. Tobias, R.F. Borch, *Mol. Pharm.*, 2004, **1**, 112.
- [15] W. Wu, J. Sigmond, G.J. Peters, R.F. Borch, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 3743.
- [16] a) W.T. Abraham, C.R. Wagner, *Nucleosides & Nucleotides*, 1994, **13**, 1891; b) C.R. Wagner, E.J. McIntee, R.F. Schinazi, T.W. Abraham, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 1819.
- [17] E.J. McIntee, R.P. Rimmel, R.F. Schinazi, T.W. Abraham, C.R. Wagner, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 3323.
- [18] a) V.V. Iyer, G.W. Griesgraber, M.R. Radmer, E.J. McIntee, C.R. Wagner, *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 2266; b) J. Jankowska, M. Sobkowski, J. Stawinski, A. Kraszewski, *Tetrahedron Lett.*, 1994, **35**, 3355.
- [19] C. McGuigan, A. Salgado, C. Yarnold, T.Y. Harries, E. De Clercq, J. Balzarini, *Antiviral Chem. Chemother.*, 1996, **7**, 184.
- [20] a) S. Chang, G.W. Griesgraber, P.J. Southern, C.R. Wagner, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 223; b) T.W. Abraham, T.I. Kalman, E.J. McIntee, C.R. Wagner, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 4569.
- [21] a) J. Kim, T. Chou, G.W. Griesgraber, C.R. Wagner, *Mol. Pharmaceutics.*, 2004, **1**, 102; b) J. Kim, S. Park, N.Y. Tretyakova, C.R. Wagner, *Mol. Pharm.*, 2005, **2**, 233.

- [22] J. Romanowska, M. Sobkowski, A. Szymańska-Michalak, K. Kołodziej, A. Dąbrowska, A. Lipniacki, A. Piasek, Z.M. Pietrusiewicz, M. Figlerowicz, A. Guranowski, J. Boryski, J. Stawiński, A. Kraszewski, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 6482.
- [23] P. Bieganowski, P.N. Garrison, S.C. Hodawadekar, G. Faye, L.D. Barnes, C. Brenner, *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 10852.
- [24] T.-F. Chou, J. Baraniak, R. Kaczmarek, X. Zhou, J. Cheng, B. Ghosh, C.R. Wagner, *Mol. Pharmaceutics*, 2007, **4**, 208.
- [25] J. Cheng, X. Zhou, T.-F. Chou, B. Ghosh, B. Liu, C.R. Wagner, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 6379.
- [26] Y. Mehellou, R. Valente, H. Mottram, E. Walsby, K.I. Mills, J. Balzarini, C. McGuigan, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 2439.
- [27] A. Krakowiak, H.C. Pace, G.M. Blackburn, M. Adams, A. Mekhafia, R. Kaczmarek, J. Baraniak, W.J. Stec, C. Brenner, *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 18711.
- [28] A. Abend, P. N. Garrison, L.D. Barnes, P.A. Frey, *Biochemistry*, 1999, **38**, 3668.
- [29] A. Guranowski, A.M. Wojdyła, J. Zimny, A. Wypijewska, J. Kowalska, M. Łukaszewicz, J. Jemielity, E. Darzynkiewicz, A. Jagiełło, P. Bieganowski, *New J. Chem.*, 2010, **34**, 888.
- [30] A. Krakowiak, R. Kaczmarek, J. Baraniak, M. Wieczorek, W.J. Stec, *Chem. Comm.*, 2007, 2163.

Praca wpłynęła do Redakcji 28 lipca 2014



**GLONY NA ZDROWIE**  
**ALGAE AND HUMAN HEALTH**

**Katarzyna Godlewska, Izabela Michalak\*,  
Katarzyna Chojnacka**

*Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny,  
Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych,  
ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław  
\*e-mail: izabela.michalak@pwr.wroc.pl*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Zastosowanie glonów w medycynie

1.1. Glony na nowotwory

1.2. Glony na stany zapalne, bóle oraz gorączkę

1.3. Glony na otyłość

1.4. Glony na alergie

1.5. Glony na HIV i HSV

2. Zastosowanie glonów w kosmetyce

Podsumowanie

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---

---

**Prof. dr hab. inż. Katarzyna Chojnacka** – w 1999 r. ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. W 2003 r. uzyskała stopień doktora nauk technicznych w Instytucie Inżynierii Chemicznej i Urządzeń Ciepłych Politechniki Wrocławskiej. W 2008 r. uzyskała stopień doktora habilitowanego na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Od 2009 r. jest zatrudniona na stanowisku profesora nadzwyczajnego w Instytucie Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych Politechniki Wrocławskiej. W 2012 r. uzyskała tytuł profesora nauk technicznych. Specjalność – technologie biologiczne.

**Dr inż. Izabela Michalak** – 2005 r. ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej na kierunku biotechnologia. W 2010 r. uzyskała stopień doktora w dziedzinie nauk technicznych w dyscyplinie technologia chemiczna. Obecnie jest zatrudniona na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego w Instytucie Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych Politechniki Wrocławskiej – Zakład Chemii dla Rolnictwa. Specjalność – procesy biotechnologiczne.

**Mgr inż. Katarzyna Godlewska** – 2014 r. ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej na kierunku biotechnologia. Specjalność – Biotechnologia środowiska.

---

**ABSTRACT**

Marine algae are rich in a variety of biologically and pharmacologically active substances. They are considered as a resource that has been used by humans to some extent [6]. Nowadays, algal biomass is a renewable source of many valuable bioactive substances, having a wide array of applications in many industries, such as food, chemical, agricultural, pharmaceutical, cosmetic, medical. The present work focuses on the impact of algae on the human body. The potential use of algae and algal extracts in medicine and cosmetic industry is discussed. Due to the antibacterial, antiviral, antifungal, anti-inflammatory properties, algae can be used in the curing of many types of diseases [7, 8]. These properties result from the biologically active compounds present in the biomass of algae. The components of the algae that may help in the treatment tumor diseases are: polyphenols [37], polysaccharides [38], carrageenan [33–35], fucoidan [24, 30–32], fucoxanthin [25], diterpenes [27–29] or monoterpenes [36]. Substances extracted from algae with anti-inflammatory, antipyretic and analgesic include: fucosterol [48], porphyrins [52], lactones, phenols, carbohydrates [40], polysaccharides [51, 53, 54], fucoidan [46], galactan [49], fucan [45]. Fucoxanthin [64–68], fucoidan [58], triacyloglycerols [69], polyphenols [71] or phlorotannin [63] can be used as anti-obesity agents. Overreaction of the immune system to harmless environmental substances can be minimized by the use of antiallergic substances, which include mainly phlorotannins [73, 77, 78] and fatty acids [79, 80]. The components of algae, such as polysaccharides [99–101], diterpenes [91], bromophenol [90], carbohydrates [102], fucans [96, 97], galactans [98], carrageenan [94], fucoidan [92] or galactofucan [93] could be successfully utilized against various types of viruses. It has been proved that algae show dermatological and cosmetic properties: anti-inflammatory and bactericidal action (due to the presence of zinc) [8, 9, 19, 113], increase of the flexibility of the skin (peptides and vitamins) [13, 104, 105], improve blood circulation of the skin and thanks to the alginic acid they treat erythema [13, 103]. They influence on of inhibition of sebum secretion and on other problems of oily skin. Algae are used in many cosmetics to tone up the skin, lighten stretch marks [104, 111, 112]. Compresses made of algae slenderize and eliminate cellulite. A field of skin cosmetics called Thalassotherapy is a form of therapy that uses marine climate, sea water, mud, algae, sand and other substances derived from the sea as a therapeutic agents [13, 103].

Słowa kluczowe: makroglony, związki biologicznie czynne, medycyna, kosmetyka  
Keywords: macroalgae, biologically active compounds, medicine, cosmetics

---

## WPROWADZENIE

Głony uważane są za jedne z pierwszych form życia, które wykazywały zdolność do przeprowadzania procesu fotosyntezy. Na Ziemi najprawdopodobniej pojawiły się około półtora biliona lat temu [1]. Głony, będące samożywnymi, fotosyntezującymi organizmami o beztkankowej budowie, stanowią najliczniejszą grupę wodnych, autotroficznych organizmów [2]. Do ich wzrostu niezbędne są składniki pokarmowe takie jak np.: azot i fosfor, a także światło słoneczne i ditlenek węgla [3]. W przeciwieństwie do roślin lądowych, nie posiadają systemów naczyniowych, liści, łodyg i korzeni, lecz utwory które je zewnętrznie przypominają [4]. Makroglony klasyfikuje się ze względu na obecność pigmentów na: zielenice (*Chlorophyta*) zawierające chlorofil *a*, *b*;  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -karoteny oraz ksantofile (np.: luteina, zeaksantyna); brunatnice (*Phaeophyta*) posiadające chlorofil *a*, *c*;  $\beta$ -karoten; fukoksantynę oraz ksantofile; krasnorosty (*Rhodophyta*) zawierające chlorofil *a*; fikoerytrynę i fikocyjaninę;  $\alpha$ -,  $\beta$ -karoten oraz ksantofile [4, 5].

Algi morskie bogate są w różnorodne substancje biologicznie aktywne o znaczeniu farmakologicznym. Stanowią więc cenny surowiec dla przemysłu farmaceutycznego, kosmetycznego, dotychczas wykorzystany w niewielkim stopniu [6]. W dzisiejszych czasach biomasa glonów stanowi odnawialne źródło wielu cennych substancji aktywnych, mających szerokie spektrum zastosowania w wielu gałęziach przemysłu, np.: przemyśle spożywczym, chemicznym, rolnictwie, farmacji, kosmetyce, medycynie. W niniejszej pracy skupiono się na prozdrowotnym oddziaływaniu glonów na organizm ludzki. Omówiono potencjalne zastosowanie glonów oraz ekstraktów glonowych w medycynie i przemyśle kosmetycznym. Ze względu na właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, glony mogą być stosowane w leczeniu wielu jednostek chorobowych [7, 8]. Właściwości te wynikają ze związków biologicznie czynnych obecnych w glonach. Wśród nich wyróżnia się: węglowodany – polisacharydy, stanowią ok. 60% wszystkich substancji czynnych występujących w glonach. Z tej grupy związków chemicznych należy wymienić: mukopolisacharydy (glikoaminoglikany GAG) – związki zbudowane z aminocukrów i kwasów uronowych. Wśród najbardziej znanych glikozaminoglikanów wyróżnia się: kwas hialuronowy i siarczan chondroityny, kwas alginowy i jego sole (szczególnie alginiany wapniowe i sodowe), a także fukany (laminaryna i fukoidyna), mannitol i sorbitol (polialkohole, tzw. alkohole cukrowe, połączenie węglowodanów z alkoholem), karageniany (naturalne hydrokoloidy) i agar (naturalny środek żelujący i zagęszczający) [9–13]. Z grupy białek i aminokwasów w glonach występują: glikoproteiny i metaloproteiny oraz aminokwasy egzogenne (alanina, asparagina, glicyna, lizyna, seryna, izoleucyna, leucyna, metionina, fenyloalanina, treonina, tryptofan i walina) [8, 9, 13, 14]. Wśród lipidów w glonach występują: niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT): arachidonowy, eikozapentenowy i rzadko spotykany –  $\gamma$ -linolenowy (GLA) [9, 13, 15, 16]. Z grupy witamin w glonach zidentyfikowano: karotenoidy, np.  $\beta$ -karoten (źródło witaminy A), witaminy z grupy B ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$ ) oraz witaminy: E (tokoferol),



C (kwas askorbinowy) i D [9, 16, 17]. Obecne w glonach mikroskładniki to brom, cynk, jod, magnez, mangan, miedź, żelazo. Występują one w szczególnie dobrze przyswajalnej postaci – jako związki metaloorganiczne lub kompleksowe [12, 18]. Z innych związków chemicznych w glonach zidentyfikowano: polifenole [9, 19] oraz naturalne barwniki roślinne: fikoerytrynę, fikocyjaninę i chlorofil [9, 12, 15–17].

## 1. ZASTOSOWANIE GLONÓW W MEDYCYNIE

Lecznicze właściwości glonów były znane już od wieków [5, 20]. Z powodzeniem stosowano je w odchudzaniu, zapaleniu oskrzeli, przeziębieniach, chronicznym kaszlu, przeciw robaczycom [5], chorobom wenerycznym, powiększonej tarczycy, dnie moczanowej, a także jako maści i środki znieczulające [21]. Obecnie makroglony są wykorzystywane jako nowatorska żywność (ang. *novel food*) w przemyśle spożywczym, a dzięki właściwościom m.in.: przeciwwirusowym, przeciwzapalnym, przeciwnowotworowym mogą być z powodzeniem wykorzystywane w medycynie [20]. Obecnie obserwuje się coraz większe zainteresowanie produktami spożywczymi, kosmetycznymi oraz farmaceutycznymi pochodzenia naturalnego, które są postrzegane jako zdrowsze i bezpieczniejsze dla człowieka [22].

### 1.1. GLONY NA NOWOTWORY

Nowotwór jest przyczyną największej ilości zgonów na świecie, zarówno wśród mężczyzn, jak i kobiet. Chemoprewencja jest obiecującym podejściem mającym na celu zmniejszenie ryzyka chorobowości i śmiertelności z powodu chorób nowotworowych, poprzez opóźnienie procesu karcynogenezy (zmian zachodzących w komórce organizmu, prowadzących do powstania nowotworu). Wykazano, że związki pozyskiwane z glonów jak np.: karotenoidy, flawonoidy oraz kwasy fenolowe wykazują właściwości przeciwnowotworowe. Mechanizmy hamujące powstawanie nowotworu wymagają inhibicji komórek rakowych, w których pośredniczy aktywność proteazowa, immunostymulacja, indukcja apoptozy, tłumienie angiogenezy nowotworu czy propagowanie zatrzymania cyklu komórkowego [23].

Przeprowadzono wiele badań potwierdzających przeciwnowotworowe właściwości glonów. W pracy Ermakova i in. [24] zastosowano ekstrakcję wodą oraz chromatografię jonowymienną w celu pozyskania fukoidyny z brunatnic: *Eclonia cava*, *Sargassum hornery* oraz *Costaria costata*, występujących na koreańskim wybrzeżu. Wyniki pokazują, że wyekstrahowana fukoidyna może być stosowana w zapobieganiu nowotworom poprzez hamowanie rozwoju komórek nowotworowych (czerniak i rak okrężnicy).

Ishikawa i in. [25] przedstawili badania dotyczące przeciwnowotworowych właściwości karotenoidów wyizolowanych z brunatnic *Undaria pinnatifida*. Udowodniono, że fukoksantyna i jej deacetylowany metabolit (fukoksantynol) hamowały

żywołność komórek linii limfocytów T zakażonych wirusem HTLV-1 (ang. *Human T-cell leukemia virus type 1*). Karotenoidy te wykazywały silniejsze działanie hamujące niż astaksantyna czy  $\beta$ -karoten. Ludzki retrowirus T-limfocytotropowy HTLV-1 jest odpowiedzialny za rozwój białaczki T-komórkowej dorosłych – ATL (ang. *adult T-cell leukemia*). Najczęściej atakowanymi przez wirus HTLV-1 komórkami są limfocyty T CD4+. W pracy tej zasugerowano, iż fukoksantyna i fukoksantynol mogą stanowić potencjalny środek terapeutyczny u pacjentów cierpiących na ATL.

Zależność pomiędzy zawartością jodu w algach, a ryzykiem wystąpienia raka piersi została zbadana przez Funahashi i in. [26]. W tym celu sproszkowane brunatnice *Undaria pinnatifida* moczone w wodzie destylowanej przez 24 godziny w temperaturze 4°C. Przesączony supernatant był roztworem dodawanym do codziennej wody pitnej szczurów. Wykazał on silne działanie hamujące rozwój kancerogenezy w gruczole piersiowym szczura. Nie odnotowano toksyczności. W warunkach *in vitro*, roztwór z *Undaria pinnatifida* silnie indukował apoptozę trzech rodzajów ludzkich komórek raka sutka. Działanie to było znacznie silniejsze niż w przypadku użycia 5-fluorouracylu (5-FU) – szeroko stosowanego leku przeciwnowotworowego u kobiet z rakiem piersi. W Japonii glony te stanowią tanią i bezpieczną żywność. Przeprowadzone badania sugerują, że brunatnica *Undaria pinnatifida* mogłaby być wykorzystywana w chemoprewencji zachorowań kobiet na raka piersi.

W Tabeli 1 zestawiono przykłady bioaktywnych związków pozyskiwanych z glonów o działaniu przeciwnowotworowym.

Tabela 1. Przykłady glonów i ich składników aktywnych biologicznie o właściwościach przeciwnowotworowych

Table 1. Examples of algae and their biologically active ingredients with antitumor properties

Glony	Składniki aktywne biologicznie	Literatura
<i>Dictyota dichotoma</i> (B)	Diterpeny	[27]
<i>Dictyota dichotoma</i> (B)	Diterpeny	[28]
<i>Padina pavonia</i> (B)	Diterpeny	[29]
<i>Fucus evanescens</i> (B)	Fukoidan	[30], [31]
<i>Sargassum polycystum</i> , <i>S. oligocystum</i> , <i>S. mcclurei</i> , <i>S. swartzii</i> , <i>S. denticaprum</i> (B)	Fukoidan	[32]
<i>Sargassum horney</i> , <i>Eclonia cava</i> , <i>Costaria cos tata</i> (B)	Fukoidan	[24]
<i>Undaria pinnatifida</i> (B)	fukoksantyna	[25]
<i>Undaria pinnatifida</i> , <i>Sargassum ringgoldianum</i> (B)	karagen, porphyran	[33]
<i>Kappaphycus striatum</i> (K)	Karagen	[34]
<i>Chondrus ocellatus</i> (K)	$\lambda$ -karagen	[35]
<i>Portieria hornemannii</i> (K)	monoterpeny	[36]
<i>Euclima cottonii</i> (Z)	polifenole	[37]
<i>Sargassum coreanum</i> (B)	polisacharydy	[38]

(K) – krasnorost (*Rhodophyta*); (Z) – zielenica (*Chlorophyta*); (B) – brunatnica (*Phaeophyta*)

## 1.2. GLONY NA STANY ZAPALNE, BÓLE ORAZ GORĄCZKĘ

Objawy stanu zapalnego występują, gdy organizm człowieka stara się przeciwdziałać potencjalnie szkodliwym czynnikom takim jak np.: inwazja wirusów, bakterii lub innych patogenów. Czynniki biochemiczne i farmakologiczne pochodzące z otoczenia również mogą być przyczyną wystąpienia takiego stanu w ludzkim organizmie [39]. Stan zapalny może wywołać wiele chorób jak np.: zapalenie kości i stawów, reumatoidalne zapalenie stawów, dnę moczanową oraz migreny. W leczeniu tych chorób powszechnie stosowane są niesteroidowe oraz steroidowe leki przeciwzapalne, które wywołują skutki uboczne. Alternatywą dla tych leków mogą być produkty pochodzenia naturalnego, które wykazują działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe. Dodatkowo, w przypadku ich stosowania istnieje stosunkowo niskie prawdopodobieństwo pojawienia się negatywnych skutków dla człowieka [40].

W pracy Kang i in. [41] otrzymano ekstrakty glonowe z brunatnic *Sargassum fulvellum* oraz *Sargassum thunbergii* przy użyciu trzech rozpuszczalników: dichlorometanu, etanolu oraz wody. Badano ich właściwości przeciwzapalne, przeciwbólowe, a także przeciwgorączkowe. Wykazano, iż ekstrakt glonowy otrzymany przy użyciu dichlorometanu hamował powstawanie obrzęku ucha u myszy. Podobne badania przeprowadzili Kang i in. [42] na brunatnicach *Ecklonia cava*. Etanolowe ekstrakty z glonów stosowane w dawce 0,4 mg/ucho myszy, wykazały hamujące działanie na objawy zapalenia takie jak: obrzęk ucha oraz rumień, odpowiednio o 82,6% oraz 69,0%. Zaobserwowano również silne działanie przeciwbólowe, natomiast nie zaobserwowano ostrej toksyczności przy doustnie podawanym ekstrakcie (5g/kg masy ciała).

W pracy Vázquez i in. [40] badano przeciwzapalne i przeciwbólowe właściwości krasnorostów *Dichotomaria obtusata* stosując klasyczne testy na myszach. Analiza składu chemicznego wodnego ekstraktu potwierdziła obecność laktonów, fenoli, sterydów, węglowodanów oraz triterpenów. Otrzymane przez badaczy wyniki wykazały, że zastosowany środek hamował obrzęk ucha u myszy, jednak efekty były zależne od zastosowanej dawki.

Hong i in. [43] również potwierdzili doświadczalnie właściwości przeciwbólowe oraz przeciwzapalne glonów. Do wytworzenia metanolowych ekstraktów wykorzystali brunatnice *Sargassum swartzii* oraz zieleńce *Ulva reticulata*. Oba ekstrakty podane myszom w dawce 500 mg/kg masy ciała wykazały działanie przeciwbólowe. Po zastosowaniu ekstraktu z *S. swartzii* odnotowano właściwości przeciwzapalne w przypadku obrzęków tylnej łapy oraz w zapaleniu otrzewnej. Natomiast ekstrakt z *U. reticulata* wpływał pozytywnie w przypadku zapalenia otrzewnej. Badane ekstrakty glonowe wykazywały podobne działanie, jak w przypadku powszechnie stosowanych środków przeciwzapalnych i przeciwbólowych, takich jak aspiryna (100 mg/kg) czy morfina (100 mg/kg). Doustne podanie ekstraktów nie wywołało ostrej toksyczności (do 66 g/kg masy ciała). Glony wykorzystane w doświadczeniach są skutecznym środkiem zwalczającym dolegliwości związane ze stanem zapalnym [41–43].

W Tabeli 2 zestawiono przykłady bioaktywnych związków pozyskiwanych z glonów o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym oraz przeciwgorączkowym.

Tabela 2. Przykłady glonów i ich składników aktywnych biologicznie o właściwościach przeciwzapalnych, przeciwbólowych oraz przeciwgorączkowych

Table 2. Examples of algae and their biologically active ingredients with anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties

Glony	Składniki aktywne biologicznie	Literatura
<i>Galaxaura marginata</i> (K)	desmosterol	[44]
<i>Sargassum vulgare</i> (K)	fukan	[45]
<i>Laminaria saccharina</i> , <i>Fucus evanescens</i> (B)	fukoidan	[46]
<i>Myagropsis myagroides</i> (B)	fukoksantyna	[47]
<i>Eisenia bicyclis</i> (B)	fukosterol, florotaniny	[48]
<i>Gelidium crinale</i> (K)	galaktan	[49]
<i>Undaria pinnatifida</i> (B)	kwasy tłuszczowe	[50]
<i>Dichotomaria obtusata</i> (K)	laktony, fenole, triterpeny, steroid, polisacharydy	[40]
<i>Turbinaria ornata</i> (B)	polisacharydy	[51]
<i>Saccharina japonica</i> (B)	porfiryny	[52]
<i>Gracilaria cornea</i> (K)	siarczanowe polisacharydy	[53]
<i>Caulerpa cupressoides</i> (Z)	siarczanowe polisacharydy	[54]
<i>Porphyra dentata</i> (K)	związki fenolowe	[55]

### 1.3. GLONY NA OTYŁOŚĆ

W dzisiejszych czasach otyłość osiągnęła rozmiary choroby społecznej [56, 57]. Jest szczególnie niebezpieczna, gdyż jest przyczyną niepełnosprawności, a także zasadniczym czynnikiem wywołującym wiele przewlekłych chorób [56, 58] jak np.: choroby serca, udar mózgu, cukrzyca typu 2, rak [59] oraz nadciśnienie [57]. U ponad miliarda osób na całej kuli Ziemskiej została stwierdzona nadwaga, a u ok. 300 milionów z nich – otyłość [56]. Badania pokazują, że w ostatnich latach zaledwie 5–10% pacjentów jest w stanie utrzymać niższą masę ciała [59]. Obecnie stosowane są dwa rodzaje leków pomagających zwalczyć otyłość. Pierwszym z nich jest orlisat (Xenical), którego mechanizm działania polega na blokowaniu enzymów trawiennych należących do lipaz, w wyniku czego spożywane tłuszcze nie zostają przyswajane. Drugim lekiem jest sibutramina (Meridia), który jest stosowany jako środek anorektyczny – hamujący łaknienie. Oba leki wywołują skutki uboczne jak np.: bezsenność, zaparcia, suchość w ustach, ból głowy, podwyższone ciśnienie krwi [56]. Bezpieczniejszymi środkami obniżającymi masę ciała mogą być produkty pochodzenia naturalnego [56–59]. Glony dzięki zawartości błonnika pomagają spowolnić trawienie i obniżyć wchłanianie kalorii [60].

Badania przeprowadzone przez Awang i in. [57] miały na celu zbadanie czy brunatnice *Sargassum polycystum* posiadają właściwości zapobiegające otyłości. W tym celu samce szczurów podzielono na 5 grup: grupę stanowiącą negatywną kontrolę (ang. *control negative*, CN), grupę kontrolną dodatnią (ang. *control positive*, CP), grupę przyjmującą małe dawki (ang. *low dosage group*, LDG), grupę przyjmującą średnie dawki (ang. *medium dosage group*, MDG) oraz grupę przyjmującą duże dawki (ang. *high dosage group*, HDG). Wszystkie grupy były na diecie o wysokiej zawartości tłuszczu, za wyjątkiem grupy stanowiącej negatywną kontrolę, która spożywała karmę dla szczurów. Dietę z grup o wysokiej zawartości tłuszczu LDG, MCR oraz HDG uzupełniono wodorostami w proszku odpowiednio o 2,5; 5,0 i 10,0%. Po 8 tygodniach, największy wpływ na hamowanie przyrostu masy odnotowano w grupie HDG, następnie w grupie MDG i później w grupie LDG w porównaniu z grupą CP. U szczurów z grupy HDG stwierdzono zmniejszony poziom cholesterolu oraz triglicerydów w osoczu. Wyniki badań wskazują, że sproszkowane glony *S. polycystum* mają pozytywny wpływ w leczeniu otyłości.

Celem badań przeprowadzonych przez Abidov i in. [61] było zbadanie wpływu środka – Xanthigen, składającego się z dodatku fukoksantyny pozyskanej z brunatnic oraz oleju z nasion granatu, na otyłość u ochotniczek nie cierpiących na cukrzycę. Po 16 tygodniach podawania kobietom w okresie przedmenopauzalnym Xanthigena zaobserwowano zmniejszenie masy ciała i zawartości tłuszczu w wątrobie. Produkt ten może stanowić obiecujący suplement w leczeniu otyłości.

Paxman i in. [62] przeprowadzili badania mające na celu sprawdzenie czy alginian pozyskiwany z brunatnic może być wykorzystywany jako środek wpływający na apetyt. Alginiany są naturalnie występującymi polisacharydowymi kopolimerami, składającymi się z reszt kwasu  $\beta$ -D-mannuronowego (bloki M) i  $\alpha$ -L-guluronowego (bloki G), połączonych razem wiązaniami glikozydowymi. W tym celu, codziennie przez 7 dni przed posiłkiem, 68 osobom dorosłym podawano doustnie silnie żelujący alginian sodu, który powodował obniżenie ilości przyjmowanych kalorii o 7%. Związek ten został wybrany ponieważ zawiera duże ilości guluronianu – związku, który po spożyciu tworzy żel w obecności jonów wapnia. Otrzymane przez badaczy wyniki wskazują, że alginian sodu mógłby zostać wykorzystany jako środek pomagający zwalczać nadwagę i otyłość.

W Tabeli 3 zestawiono przykłady bioaktywnych związków pozyskiwanych z glonów o działaniu przeciwotyłościowym.

Tabela 3. Przykłady glonów i ich składników aktywnych biologicznie o właściwościach przeciwootyłościowych  
 Table 3. Examples of algae and their biologically active ingredients with anti-obesity properties

Glony	Składniki aktywne biologicznie	Literatura
<i>Eisenia bicyclis</i> (B)	florotanina	[63]
<i>Fucus vesiculosus</i> (B)	fukoidan	[58]
<i>Undaria pinnatifida</i> (B)	fukoksantyna	[64–68]
<i>Undaria pinnatifida</i> (B)	fukoksantyna, triacyloglicerole	[69]
<i>Cladosiphon okamuranus</i> (B)	fukoksantyna	[70]
<i>Ecklonia cava</i> (B)	polifenole	[71]

#### 1.4. GLONY NA ALERGIE

W krajach rozwiniętych problemy zdrowotne związane są głównie z chorobami alergicznymi. Szacuje się, że aż ok. 1/3 ogólnej populacji cierpi na alergię, ze szczególnym uwzględnieniem: astmy, alergicznego nieżytu nosa oraz wyprysków będących przyczynami schorzeń przewlekłych. Alergia jest wynikiem nadmiernej reakcji układu immunologicznego na niegroźne substancje środowiskowe takie jak: roztocza kurzu domowego, sierść zwierząt, pyłki, owady, składniki żywności czy środki chemiczne. Wiele badań potwierdziło przeciwalergiczne właściwości glonów morskich, dzięki czemu z powodzeniem mogłyby być stosowane jako leki na alergię [72].

Sugiura i in. [73] w swoich badaniach wykorzystali jadalne brunatnice *Eisenia arborea*. Z glonów tych wyizolowano florotaninę, która w testach przeprowadzonych na szczurach wykazała silnie hamujące działanie na uwalnianie histaminy z komórek białaczkowych. Może być to jedną z przyczyn aktywności przeciwalergicznej tych glonów. Kolejne badania nad właściwościami przeciwalergicznymi zostały przeprowadzone z wykorzystaniem brunatnic *Eisenia arborea* [74]. Sproszkowane glony podawano zwierzętom jako suplement diety. Zaobserwowano, że zauważalnie ograniczyła poziom IgE (immunoglobuliny typu E) w surowicy i histaminy w organizmie szczurów. Szczegółowa analiza danych eksperymentalnych wskazuje, że *E. arborea* może posiadać właściwości antyalergiczne.

Wpływ fukoidyny, wyizolowanej z glonów, na produkcję IgE w ludzkich komórkach jednojądrowych krwi obwodowej w warunkach *in vitro* został zbadany przez Iwamoto i in. [75]. Komórki były pozyskiwane od zdrowych pacjentów oraz od pacjentów z atopowym zapaleniem skóry. Dzięki przeprowadzonym badaniom stwierdzono, że fukoidyna znacznie zmniejszyła wytwarzanie IgE w komórkach jednojądrowych krwi obwodowej bez wpływu na proliferację komórek i produkcję interferonu  $\gamma$ . Hamujące działanie fukoidyny obserwowano zarówno w komórkach pozyskanych od zdrowych osób, jak i tych z atopowym zapaleniem skóry. Przeprowadzone badania dowodzą, że fukoidyna tłumy indukcję IgE nawet po wystąpieniu choroby.

Kim i in. [76] starali się ustalić czy ekstrakty z brunatnic *Ecklonia cava* indukują znaczną inhibicję reakcji astmatycznych. W tym celu myszy uczulono i podawano albuminę jaja kurzego (OVA). Zaobserwowano typowe reakcje astmatyczne jak np.: obecność IgE w surowicy, wzrost liczby eozynofili, napływ komórek zapalnych do płuc wokół naczyń krwionośnych i dróg oddechowych oraz rozwój nadreaktywności dróg oddechowych. Zastosowanie ekstraktu z glonu *Ecklonia cava* spowodowało znaczące zahamowanie wszystkich reakcji astmatycznych. Wyniki te wskazują, że ekstrakty te mogą okazać się użyteczne jako terapia wspomagająca w reakcjach alergicznych dróg oddechowych.

W Tabeli 4 zestawiono przykłady bioaktywnych związków pozyskiwanych z glonów o działaniu przeciwalergicznym.

Tabela 4. Przykłady glonów i ich składników aktywnych biologicznie o właściwościach przeciwalergicznym  
Table 4. Examples of algae and their biologically active ingredients with anti-allergy properties

Glony	Składniki aktywne biologicznie	Literatura
<i>Eisenia arborea</i> (B)	florotaniny	[73]
<i>Ecklonia cava</i> (B)	florotaniny	[77]
<i>Eisenia bicyclis</i> (B)	florotaniny	[78]
<i>Ishige okamurae</i> (B)	NNKT	[79]
<i>Undaria pinnatifida</i> (B), <i>Ulva pertusa</i> (Z)	NNKT	[80]

### 1.5. GLONY NA HIV I HSV

Układ immunologiczny, będący mechanizmem obronnym naszego organizmu, zwalcza choroby oraz infekcje wirusowe. Wirus nabytego niedoboru odporności (ang. *Human Immunodeficiency Virus*, HIV) poprzez stopniowe osłabianie układu odpornościowego i braku specjalistycznego leczenia prowadzi do jego całkowitego zniszczenia [81]. Nielezione zakażenie HIV prowadzi do zespołu nabytego niedoboru odporności (ang. *Acquired Immunodeficiency Syndrome*, AIDS) [82, 83] będącego chorobą immunosupresyjną wywołującą zagrażające życiu zakażenia oportunistyczne oraz nowotwory [82]. Wiele z tych zakażeń występuje powszechnie i nie stanowi poważnego zagrożenia dla osób z nieuszkodzonym układem odpornościowym [81]. Szacuje się, że każdego dnia 16 000 ludzi zostaje zarażonych wirusem HIV. Sposób, dzięki któremu wirus jest zdolny do ominięcia układu odpornościowego nie jest do końca poznany [83]. AIDS w Afryce stanowi główną przyczynę zgonów, natomiast w skali światowej jest wymieniany na czwartym miejscu [82].

Wirus opryszczki pospolitej (ang. *Herpes Simplex Virus*, HSV) należy do rodziny herpeswirusów, które są bardzo rozpowszechnione [84]. Do zarażenia wirusem dochodzi poprzez bezpośredni kontakt z osobą zakażoną i przenosi się przez drobne uszkodzenia na skórze lub śluzówce. Istnieją dwa typy wirusa: wirus HSV-1 (ang. *Herpes Simplex Virus type 1*), który przyczynia się do powstania opryszczki wargowej, oraz wirus HSV-2 (ang. *Herpes Simplex Virus type 2*) będący przyczyną



opryszczki płciowej [85]. HSV-1 może być również odpowiedzialny za wystąpienie opryszczki narządów płciowych [84]. Wirus HSV jest szczególnie rozpowszechniony wśród kobiet w wieku rozrodczym [85, 86]. Uważa się, że 85% ludności jest nosicielami wirusa HSV-1 [84]. W Stanach Zjednoczonych co roku obserwuje się ponad 600 000 nowych przypadków zachorowania [86].

Bouhlal i in. [87] wyizolowali rozpuszczalne w wodzie siarczanowe polisacharydy z krasnorostów *Sphaerococcus coronopifolius* i *Boergesenella thuyoides* zebranych z wybrzeży Maroka. Przeprowadzone badania potwierdziły, że siarczany polisacharydów w dawce 12,5 ng/ml w warunkach *in vitro* hamują replikację ludzkiego wirusa niedoboru odporności. Polisacharydy, składające się z galaktozy, 3,6-anhydrogalaktozy, siarczanów oraz kwasu uronowego, wykazywały również zdolność do hamowania replikacji wirusa opryszczki pospolitej typu 1.

Z krasnorostów *Bostrychia montagnei*, Duarte i in. [88] wyizolowali siarczanowe galaktany, które dzięki przeciwwirusowym właściwościom mogłyby być wykorzystane do leczenia HSV-1 oraz HSV-2. Aktywność przeciwwirusowa (hamowanie replikacji wirusów opryszczki) preparatów (ekstrakty glonowe) została określona z zastosowaniem testu redukcji łysinek wirusowych (ang. *plaque-reduction assay*) wyrażonej w PFU (ang. *plaque-forming units*). Potwierdzono aktywność przeciwwirusową wyekstrahowanych siarczanowych polisacharydów.

Huleihel i in. [89] wyizolowali z czerwonych mikroglonów *Porphyridium* sp. siarczanowe polisacharydy, które odznaczały się przeciwwirusowymi właściwościami wobec HSV-1 oraz HSV-2, a także wobec wirusa ospy wietrznej i półpaśca (ang. *Varicella Zoster Virus*, VZV). Zastosowanie polisacharydów (1 µg/mL) powodowało w 50% zahamowanie zakażenia HSV oraz powstawanie nowych wirusów. Całkowite zahamowanie lub spowolnienie rozwoju efektu cytotatycznego HSV albo VZV było zależne od stężenia polisacharydu. Nawet przy stężeniu 250 µg/mL nie zaobserwowano żadnych efektów cytotoksycznych. Można więc wysunąć wniosek, że glony stanowią cenne źródło polisacharydów, zdolnych do hamowania zakażeń wirusowych poprzez zapobieganie rozwojowi wirusów w komórkach gospodarza i/lub do hamowania produkcji nowych wirusów.

W Tabeli 5 zestawiono przykłady bioaktywnych związków pozyskiwanych z glonów o działaniu przeciwwirusowym.

Tabela 5. Przykłady glonów i ich składników aktywnych biologicznie o właściwościach przeciwwirusowych  
Table 5. Examples of algae and their biologically active ingredients with anticancer properties

Glony	Składniki aktywne biologicznie	Literatura
<i>Polysiphonia morrowii</i> (K)	bromofenole	[90]
<i>Stypopodium zonale</i> (B)	diterpeny	[91]
<i>Adenocystis utricularis</i> (B)	fukoidan	[92]
<i>Undaria pinnatifida</i> (B)	galaktofukan	[93]
<i>Meristiella gelidium</i> (K)	karagen	[94]



Glony	Składniki aktywne biologicznie	Literatura
<i>Undaria pinnatifida</i> (B), <i>Splachnidium rugosum</i> (B), <i>Plocamium cartilagineum</i> (K), <i>Gigartina atropurpurea</i> (K)	polisacharydy	[95]
<i>Stoechospermum marginatum</i> (B)	siarczanowe fukany	[96]
<i>Cystoseira indica</i> (B)	siarczanowe fukany	[97]
<i>Grateloupia indica</i> (K)	siarczanowe galaktany	[98]
<i>Sargassum patens</i> (B)	siarczanowe polisacharydy	[99]
<i>Padina pavonia</i> (B)	siarczanowe polisacharydy	[100]
<i>Gymnogongrus griffithsiae</i> , <i>Cryptonemia crenulata</i> (K)	siarczanowe polisacharydy	[101]
<i>Hydroclathrus clathratus</i> (B), <i>Lobophora variegata</i> (B)	węglowodany	[102]

## 2. ZASTOSOWANIE GLONÓW W KOSMETYCE

W krajach Afryki, Ameryki, a szczególnie Azji, praktyczne zastosowanie glonów do celów leczniczych, kosmetycznych i odżywczych, znane jest od kilku tysięcy lat. Przede wszystkim glony morskie należące do brunatnic, krasnorostów i zieleńców mają największe znaczenie w pozyskiwaniu nowych produktów dietetycznych, kosmetycznych i terapeutycznych [6].

W ciągu ostatnich dwóch dekad wykorzystanie ekstraktów z glonów w kosmetykach znalazło wielu zwolenników. Potwierdzenie tego można odnaleźć na etykietach i ulotkach reklamowych. Są to jednak informacje bardzo ogólne. Szczegóły dotyczące sposobów produkcji i właściwości są chronione, co znajduje dowód w postaci bardzo znikomej ilości powszechnie dostępnych doniesień naukowych [22].

Dowodzono, że glony wykazują działanie dermatologiczne i kosmetyczne poprzez hamowanie łojotoku i innych problemów skóry tłustej, działanie przeciwzapalne i bakteriobójcze (dzięki obecności cynku), uelastycznianie skóry (peptydy i witaminy), poprawienie ukrwienia skóry, a dzięki kwasowi alginowemu zwężają naczynka i leczą rumień. Na bazie glonów produkuje się wiele kosmetyków, które mają dobrą opinię: ujędrniają skórę, rozjaśniają rozstępny. Okłady z glonów wyszczuplają i niwelują cellulit. Dziedzina kosmetyki skóry zwana talasoterapią to forma terapii, wykorzystująca morski klimat, morską wodę, muł, glony, piasek, wodorosty, błoto, a także inne substancje pochodzące z morza jako czynnik terapeutyczny [13, 103].

Komponenty glonów są często stosowane w kosmetykach jak środki zagęszczające (alginian, agar, karagenian) – służące do regulowania konsystencji produktów kosmetycznych, środki wiążące wodę oraz przeciwutleniające [13, 16, 104].

Bioaktywne substancje pochodzące z glonów morskich pełnią różne role funkcjonalne i te właściwości mogą być zastosowane do opracowania nowych

kosmeceutyków – kosmetyków o działaniu pielęgnacyjno-leczniczym. Pojęcie to wprowadził prawie 25 lat temu profesor dermatologii Albert M. Kligman z Uniwersytetu w Pensylwanii dla określenia grupy preparatów znajdujących się pomiędzy lekami i kosmetykami. Obecnie kosmeceutyki stanowią dużą grupę preparatów na rynku kosmetycznym. Związki biologicznie czynne występujące w glonach np.: florotaniny (np.: floroglucinol), sulfonowane polisacharydy, terpenoidy, karotenoidy, tokoferol, związki fenolowe, polisacharydy, NNKT, MAA (od *ang.* mycosporine-like amino acids), mają potencjalne zastosowanie w wytwarzaniu kosmeceutyków [7, 104]. Dla przykładu, obecne w glonach terpenoidy zapobiegają fotouszkodzeniu i fotostarzeniu się skóry, tokoferol i związki fenolowe zapobiegają przed szkodliwym działaniem promieni UV [104].

Polifenole są silnymi antyoksydantami, wykazują działanie przeciwzapalne, chronią także przed działaniem wolnych rodników [9, 19]. Kwas alginowy i hialuronowy nawilżają skórę, aminokwasy stymulują barierę ochroną i elastyczność skóry, NNKT działają okluzyjnie i łagodzą podrażnienia, mają właściwości regenerujące, nawilżające, przeciwzmarszczkowe i przeciwstarzeniowe, a witaminy, karotenoidy i chlorofile działają antyoksydacyjnie [104, 105] i chronią przed uszkodzeniami spowodowanymi promieniowaniem UV [9, 12, 15–17]. Dodatkowo, witaminy z grupy A (w tym karotenoidy) biorą udział w procesach keratynizacji naskórka i w utrzymaniu nienaruszalności tkanki nabłonkowej. Witaminy z grupy E mają właściwości antyoksydacyjne, ukierunkowane na zapobieganie utlenieniu nienasyconych kwasów tłuszczowych w lipidach błon komórkowych [13].

Jak już wcześniej wspomniano, wiele związków ekstrahowanych z biomasy glonów posiada właściwości antyoksydacyjne, antywirusowe, antybakteryjne, antynowotworowe, przeciwzapalne [8]. Jako przykład może posłużyć glutation posiadający właściwości antyoksydacyjne (dodatkowo stosowany jest czasami doustnie jako preparat wybielający skórę). Brunatnica – *Ishige arborescens* zawiera nawet 3082 mg glutationu/100 g biomasy [106].

Spośród polisacharydów, szczególnie ważną rolę w kosmetyce odgrywa fukoidan – siarczanowany polisacharyd z brunatnic, który wspomaga proliferację fibroblastów skóry, będących odpowiedzialnymi za syntezę nowego kolagenu [107]. Dodatkowo, wykazuje działanie przeciwstarzeniowe i przeciwzmarszczkowe [13, 104]. Ekstrakty glonowe bogate w białko pozyskane z *Chlorella vulgaris* również znalazły zastosowanie w redukcji zmarszczek, poprzez stymulację syntezy kolagenu w skórze oraz w regeneracji tkanek [15]. Zastosowania białek glonowych lub ich pochodnych jest istotne w zapewnieniu odpowiedniego nawilżenia włosów i skóry. Z drugiej strony, białka glonów wykazują silne powinowactwo do włosów lub skóry, wpływając na ich odżywianie [8]. Jednym z lepiej poznanych białek glonowych jest aosaina, która występuje w zielenicy *Ulva lactuca*. Blokuję działanie elastazy – enzymu rozkładającego elastynę oraz pobudza syntezę kolagenu. Glon ten jest stosowany w kosmetykach *anti-aging* ze względu na właściwości antyoksydacyjne oraz zapobiegające procesom starzenia się skóry [13].

Z lipidów na szczególną uwagę zasługuje kwas  $\gamma$ -linolenowy. Ten niezbędny nienasycony kwas tłuszczowy przyczynia się do odbudowy i ochrony warstwy barierowej naskórka, chroni skórę przed infekcjami i likwiduje stany zapalne. Ponadto łagodzi podrażnienia i zaczerwienienia skóry oraz przeciwdziała suchości i łuszczeniu się naskórka [13].

Niektóre glony wytwarzają organiczne metabolity takie jak: sporopolenina, scytonemina oraz małowęzłoczkowe mikrosporyny oraz ich pochodne MAA, które chronią je przed promieniowaniem UV – absorbują szkodliwe promienie. Stąd też możliwość wykorzystania wytwarzanych przez glony substancji w kosmetykach z filtrem słonecznym [16, 108]. Promieniowanie słoneczne ultrafioletowe (UV) jest jedną z głównych przyczyn przedwczesnego starzenia się skóry tzw. fotostarzenia. Świadczy o tym fakt, że objawy starzenia się skóry są w pierwszej kolejności widoczne na twarzy, szyi i dłoniach, czyli partiach ciała najczęściej poddawanych ekspozycji na promieniowanie słoneczne. Szczegółowy opis związków ekranizujących promieniowanie UV przedstawiono w pracy [109]. Glony, które wytwarzają MAA to przykładowo: krasnorost – *Porphyra umbilicalis* [108], mikroglony – *Chlorella minutissima*, *C. sorokiniana*, *Dunaliella tertiolecta* [16]. Dodatkowo jako filtry UV mogą służyć wyekstrahowane z glonów karotenoidy oraz wielonienasycone kwasy tłuszczowe [104].

W Tabeli 6 przedstawiono przykłady związków biologicznie czynnych pochodzących z makroglonów mających zastosowanie w kosmetologii.

Tabela 6. Przykłady glonów i ich składników aktywnych biologicznie stosowanych w kosmetyce  
Table 6. Examples of alga and their biologically active ingredients used in cosmetics

Glony	Składniki aktywne biologicznie	Problem kosmetyczny/Działanie	Literatura
<i>Corallina pilulifera</i> (K)	fenole	Zmarszczki Zdolność do zapobiegania stresowi oksydacyjnemu wywołanemu przez promieniowanie UV oraz ekspresji metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej, które przyczyniają się do degradacji kolagenu skóry, ostatecznie prowadząc do jej starzenia się	[110]
<i>Laminaria japonica</i> (B)	fukoksantyna	Wybielanie skóry Inhibitor tyrozynazy – enzym katalizujący pigmentację skóry	[111]
<i>Ecklonia stolonifera</i> (B)	floroglucyna	Wybielanie skóry Inhibitor tyrozynazy – hamuje działanie enzymu ze względu na zdolność do chelatowania miedzi tego enzymu	[112]
<i>Ascophyllum nodosum</i> (B)	fukoidan	Skóra starzejąca się i zniszczona działaniem promieni słonecznych (fotoodmładzanie skóry)	[107]
<i>Ulva</i> (Z)	ulwan/witaminy z grupy B, A, C, E	Działanie nawilżające i ochronne/ działanie antyoksydacyjne	[13]

Głony	Składniki aktywne biologicznie	Problem kosmetyczny/Działanie	Literatura
<i>Cladophora glomerata</i> (Z)	związki fenolowe i lifenolowe	Właściwości antyoksydacyjne i przeciwbakteryjne (aktywność przeciw szczepom bakterii Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis oraz Proteus mirabili)	[113]

Szczególne znaczenie w kosmetyce ma proces mikronizacji alg, którego inicjatorem i twórcą jest Laboratorium B.L.C. Thalgo Cosmetic S.A. Metoda ta pozwala na wykorzystanie mikro- i makroelementów zawartych w biomacie glonów w szerszym zasięgu w kosmetyce i medycynie, niż było to możliwe do tej pory. Wcześniej glony preparowano tak jak zioła (czyli suszono i rozgniatano), ale w dalszym ciągu składniki aktywne pozostawały zamknięte w komórkach i nie były wykorzystywane. W procesie mikronizacji, glony (*Laminaria digitata*, *Fucus vesiculosus*, *Lithothamnium calcareum* pobrane z Morza Północnego) są poddane procesowi suszenia (słońcem) i osobno zmielone. Następnie w odpowiednich proporcjach przenoszone są do bębnowłóczy ciśnieniowych. Przy zmiennym ciśnieniu i niskiej temperaturze komórki glonów otwierają się i cała ich zawartość wydostaje się na zewnątrz. Proces ten zakończony jest w kolektorze, zaopatrzonym w filtry, który zbiera delikatny proszek wysoko skoncentrowanego glona. Thalgo posiada dwa patenty na proces mikronizacji alg – Patent kosmetyczny nr. F- 1.495.766 oraz Patent medyczny BSM nr. 5576M. Mikronizowany glon morski, bogaty w witaminy i minerały stanowi podstawę wielu zabiegów kosmetycznych mających na celu ustabilizowanie wydzielania łoju, uaktywnienie krążenia krwi i eliminacji nagromadzonych toksyn.

## PODSUMOWANIE

Głony morskie stanowią skarbiec związków biologicznie czynnych dobroczynnie wpływających na zdrowie i urodę. Glony mogą być wykorzystywane w walce z różnego rodzaju dolegliwościami i chorobami, np.: nowotworami, alergiami, otłoczeniem, wirusem nabytego niedoboru odporności, wirusem opryszczki pospolitej, stanami zapalnymi, bólami czy gorączką. Cenne związki zawarte w glonach stosuje się również w produktach kosmetycznych. Preparaty z dodatkiem glonów hamują łojotok, uelastyczniają skórę, zwężają naczynka, leczą rumień, zapewniają odpowiednie nawilżenie i odżywienie włosów oraz skóry, likwidują stany zapalne, chronią przed infekcjami, przeciwdziałają suchości i łuszczeniu się naskórka, chronią skórę przed starzeniem, fotouszkodzeniami oraz szkodliwym działaniem promieni UV. W gabinetach kosmetycznych stosowana jest talasoterapia. Jest to terapia, która jako czynnik terapeutyczny wykorzystuje morski klimat, wodę mufł, glony, piasek, błoto oraz inne morskie substancje. Przytoczone w pracy przykłady potwierdzają, że glony są cennym, naturalnym, a zarazem tanim źródłem zdrowia, urody i młodości.

## PODZIĘKOWANIA

Praca została sfinansowana z grantu pt.: Związki biologicznie czynne w ekstraktach z wodorostów Bałtyckich Nr 2012/05/D/ST5/03379 finansowanego przez Narodowego Centrum Nauki oraz grantu pt.: Innowacyjna technologia ekstraktów glonowych – komponentów nawozów, pasz i kosmetyków Nr PBS/1/A1/2/2012 finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Pielesz, *Algi i alginiany – leczenie, zdrowie i uroda*, Wydawnictwo internetowe e-bookowo, 2010.
- [2] W. Kozieł, T. Włodarczyk, *Acta Agroph.*, 2011, **17**, 105.
- [3] K. Chojnacka, A. Saeid, I. Michalak, *Chemik*, 2012, **66**, 1235.
- [4] S. Gupta, N. Abu-Ghannam, *Trends Food Sci. Tech.*, 2011, **22**, 315.
- [5] K. Chojnacka, *Przem. Chem.*, 2012, **91**, 710.
- [6] R. Czerpak, A. Jabłońska-Trypuć, A. Pietryczuk, *Post. Fitoter.*, 2009, **3**, 168.
- [7] N.V. Thomas, S.-K. Kim, *Mar. Drugs*, 2013, **11**, 146.
- [8] K. Samarakoon, Y.-J. Jeon, *Food Res. Int.*, 2012, **48**, 948.
- [9] A. Pielesz, *Post. Fitoter.*, 2011, **1**, 9.
- [10] T.A. Davis, B. Volesky, A. Mucci, *Water Res.*, 2003, **37**, 4311.
- [11] S. Kraan, *Algal polysaccharides, novel applications and outlook*, [w:] *Carbohydrates - Comprehensive studies on glycobiology and glycotecnology*, C.F. Chang (Red.), InTech, 2012.
- [12] J.H. Fitton, M. Irhimeh, N. Falk, *Cosm. Toil.*, 2007, **122**, 55.
- [13] E. Lamer-Zarawska, *Post. Kosm.*, 2012, **1**, 33.
- [14] J. Fleurence, *Trends Food Sci. Tech.*, 1999, **10**, 25.
- [15] P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, *J. Biosci. Bioeng.*, 2006, **101**, 87.
- [16] I. Priyadarshani, B. Rath, *J. Algal Biomass Útl.*, 2012, **3**, 89.
- [17] D. Sava, M. Rotaru-Stăncic, E. Doroftci, M. Arcuş, *Annals of RSCB*, 2009, **14**, 297.
- [18] P. Rupérez, *Food Chem.*, 2002, **79**, 23.
- [19] N.V. Thomas, S.-K. Kim, *Env. Tox. Pharm.*, 2011, **32**, 325.
- [20] E.A. Shalaby, *Plant Signal. Behav.*, 2011, **6**, 1338.
- [21] N.S. Boopathy, K. Kathiresan, *J. Oncol.*, 2010, **1**.
- [22] Ł. Tuhy, Z. Witkowska, A. Saeid, K. Chojnacka, *Przem. Chem.*, 2012, **91**, 1031.
- [23] I.-C. Sheih, T.J. Fang, T.-K. Wu, P.-H. Lin, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 1202.
- [24] S. Ermakova, R. Sokolova, S.-M. Kim, B.-H. Um, V. Isakov, T. Zvyagintseva, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2011, **164**, 841.
- [25] C. Ishikawa, S. Tafuku, T. Kadekaru, S. Sawada, M. Tomita, T. Okudaira, T. Nakazato, T. Toda, J.N. Uchihara, N. Taira, K. Ohshiro, T. Yasumoto, T. Ohta, N. Mori, In: *J. Cancer*, 2008, **123**, 2702.
- [26] H. Funahashi, T. Imai, T. Mase, M. Sekiya, K. Yokoi, H. Hayashi, A. Shibata, T. Hayashi, M. Nishikawa, N. Suda, Y. Hibi, Y. Mizuno, K. Tsukamura, A. Hayakawa, S. Tanuma, *Jpn. J. Cancer Res.*, 2001, **92**, 483.
- [27] R. Durán, E. Zubía, J. M. Ortega, J. Salvá, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 8675.
- [28] M.O. Ishitsuka, T. Kusumi, H. Kakisawa, *J. Org. Chem.*, 1988, **53**, 50103.
- [29] N.E. Awad, M.A. Selim, H.M. Metawe, A.A. Matloub, *Phytother. Res.*, 2008, **22**, 1610.
- [30] T.V. Alekseyenko, S. Ya. Zhanayeva, A.A. Venediktova, T.N. Zvyagintseva, T.A. Kuznetsova, N.N. Besednova, T.A. Korolenko, *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2007, **143**, 730.

- [31] S.D. Anastyyuk, N.M. Shevchenko, S.P. Ermakova, O.S. Vishchuk, E.L. Nazarenko, P.S. Dmitrenok, T.N. Zvyagintseva, *Carb. Pol.*, 2012, **87**, 186.
- [32] B.M. Ly, N.Q. Buu, N.D. Nhut, P.D. Thinh, T.T.T. Van, *ASEAN J. Sci. Technology Dev.*, 2005, **22**, 371.
- [33] H. Noda, H. Amano, K. Arashima, K. Nisizawa, *Hydrobiologia*, 1990, **204**, 577.
- [34] H. Yuan, J. Song, X. Li, N. Li, J. Dai, *Cancer Lett.*, 2006, **243**, 228.
- [35] G. Zhou, Y. P. Sun, H. Xin, Y. Zhang, Z. Li, Z. Xu, *Pharmacol. Res.*, 2004, **50**, 47.
- [36] R.W. Fuller, J.H. Cardellina II, J. Jurek, P.J. Scheuer, B. Alvarado- Lindner, M. McGuire, G.N. Gray, J.R. Steiner, J. Clardy, E. Menez, R.H. Shoemaker, D.J. Newman, K.M. Snader, M.R. Boyd, *J. Med. Chem.*, 1994, **37**, 4407.
- [37] F. Namvar, S. Mohamed, S.G. Fard, J. Behravan, N.M. Mustapha, N.B.M. Alitheen, F. Othman, *Food Chem.*, 2012, **130**, 376.
- [38] S.-C. Ko, S.-H. Lee, G. Ahn, K.-N. Kim, S.-H. Cha, S.-K. Kim, B.-T. Jeon, P.-J. Park, K.-W. Lee, Y.-J. Jeon, *J. Appl. Phycol.*, 2012, **24**, 675.
- [39] W.-J. Yoon, Y.M. Ham, K.-N. Kim, S.-Y. Park, N.H. Lee, C.-G. Hyun, W.J. Lee, *J. Med. Plants Res.*, 2009, **3**, 001.
- [40] A.I.F. Vázquez, *Braz. J. Pharm. Sci.*, 2011, **47**, 111.
- [41] J.-Y. Kang, M.N. Khan, N.H. Park, J.Y. Cho, H. Fujii, Y.K. Hong, *J. Ethnopharmacol.*, 2008, **116**, 187.
- [42] J.-Y. Kang, J.-S. Choi, N.G. Park, D.-H. Ahn, Y.-K. Hong, *Fish. Aquat. Sci.*, 2012, **15**, 73.
- [43] D.D. Hong, H.M. Hien, H.T.L. Anh, *Afr. J. Biotech.*, 2011, **10**, 2308.
- [44] E. Rozas, J.C. Freitas, *J. Ven. Animals Tox. Incl. Trop. Dis.*, 2007, **13**, 544.
- [45] C.M.P. Guerra Dore, M.G. das C. Faustino Alves, L.S.E. Pofirio Will, T.G. Costa, D.A. Sabry, L.A.R. de Souza Rego, C.M. Accardo, H.A.O. Rocha, L.G.A. Filgueira, E.L. Leite, *Carbohydr. Polym.*, 2013, **91**, 467.
- [46] A. Cumashi, N.A. Ushakova, M.E. Preobrazhenskaya, A. D' Incecco, A. Piccoli, L. Totani, N. Tinari, G.E. Morozovich, A.E. Berman, M.I. Bilan, A.I. Usov, N.E. Ustyuzhanina, A.A. Grachev, C.J. Sanderson, M. Kelly, G.A. Rabinovich, S. Iacobelli, N.E. Nifantiev, *Glycobiology*, 2007, **17**, 541.
- [47] S.-J. Heo, *Food Chem. Toxicol.*, 2010, **48**, 2045.
- [48] H.A. Jung, S.E. Jin, B.R. Ahn, C.M. Lee, J.S. Choi, *Food Chem. Toxicol.*, 2013, **59**, 199.
- [49] A.A.S. de Sousa, N.M. Benevides, A. de Freitas Pires, F.P. Fiúza, M.G. Queiroz, T.M. Morais, M.G. Pereira, A.M. Assreuy, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 2013, **27**, 173.
- [50] M.N.A. Khan, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 6984.
- [51] S. Ananthi, H.R.B. Raghavenendran, A.G. Sunil, V. Gayathri, G. Ramakrishnan, H.R. Vasanthi, *Food Chem. Toxicol.*, 2010, **48**, 187.
- [52] N.N. Islam, I.J. Ishita, S.E. Jin, R.J. Choi, C.M. Lee, Y.S. Kim, H.A. Jung, J.S. Choi, *Food Chem. Toxicol.*, 2013, **55**, 541.
- [53] C.O. Coura, I.W.F. de Araújo, E.S.O. Vanderlei, J.A.G. Rodrigues, A.L.G. Quinderé, B.P. Fontes, I.N.L. de Queiroz, D.B. de Menezes, M.M. Bezerra, A.A.R. e Silva, H.V. Chaves, R.J.B. Jorge, J.S.A.M. Evangelista, N.M.B. Benevides, *Basic Clinical Pharmacol. Toxicol.*, 2012, **110**, 335.
- [54] J.A.G. Rodrigues, E. de S.O. Vanderlei, L.M.C.M. Silva, I.W.F. de Araújo, I.N.L. de Queiroz, G.A. de Paula, T.M. Abreu, N.A. Ribeiro, M.M. Bezerra, H.V. Chaves, V. Lima, R.J.B. Jorge, H.S.A. Monteiro, E.L. Leite, N.M.B. Benevides, *Pharmacol. Rep.*, 2012, **64**, 282.
- [55] K. Kozłowska, T. Hsu, C.C. Hou, W.C. Yang, G.J. Tsai, *J. Ethnopharmacol.*, 2010, **128**, 123.
- [56] J.W. Yun, *Phytochemistry*, 2010, **71**, 1625.
- [57] A.N. Awang, J. L. Ng, P. Matanjun, M. R. Sulaiman, T. S. Tan, Y. B. H. Ooi, *J. Appl. Phycol.*, 2014, **26**, 1043.
- [58] M.-K. Park, U. Jung, C. Roh, *Mar. Drugs*, 2011, **9**, 1359.

- [59] S. Hasani- Ranjbar, Z. Jouyandeh, M. Abdollahi, J. Diabetes Metab. Disord., 2013, **12**, 1.
- [60] S. Mohamed, S.N. Hashim, H.A. Rahman, Trends Food Sc Technol, 2012, **23**, 83.
- [61] M. Abidov, Z. Ramazanov, R. Seifulla, S. Grachev, Diabetes Obes. Metab., 2010, **12**, 72.
- [62] J.R. Paxman, J.C. Richardson, P.W. Dettmar, B.M. Corfe, Appetite, 2008, **51**, 713.
- [63] S.-H. Eom, M. S. Lee, E. W. Lee, Y. M. Kim, T. H. Kim, Phytother. Res., 2013, **27**, 148.
- [64] H. Maeda, M. Hosokawa, T. Sashima, K. Funayama, K. Miyashita, Biochem. Biophys. Res. Commun., 2005, **332**, 392.
- [65] H. Maeda, M. Hosokawa, T. Sashima, K. Murakami- Funayama, K. Miyashita, Mol. Med. Rep., 2009, **2**, 897.
- [66] M.-N. Woo, S.M. Jeon, Y.C. Shin, M.K. Lee, M.A. Kang, M.S. Choi, Mol. Nutr. Food Res., 2009, **53**, 1603.
- [67] H. Maeda, M. Hosokawa, T. Sashima, N. Takahashi, T. Kawada, K. Miyashita, Int. J. Mol. Med., 2006, **18**, 147.
- [68] H. Maeda, M. Hosokawa, T. Sashima, K. Miyashita, J. Agric. Food Chem., 2007, **55**, 7701.
- [69] H. Maeda, M. Hosokawa, T. Sashima, K. Funayama, K. Miyashita, J. Oleo Sci., 2007, **56**, 615.
- [70] T. Mise, M. Ueda, T. Yasumoto, Adv. J. Food Sci. Technology, 2011, **3**, 73.
- [71] E.Y. Park, Evid. Based Complement. Altern. Med., 2012, 1.
- [72] T.-S. Vo, D.-H. Ngo, S.-K. Kim, Proc. Biochem., 2012, **47**, 386.
- [73] Y. Sugiura, K. Matsuda, Y. Yamada, M. Nishikawa, K. Shioya, H. Katsuzaki, K. Imai, H. Amano, Biosci. Biotechnol. Biochem., 2006, **70**, 2807.
- [74] Y. Sugiura, K. Matsuda, T. Okamoto, M. Kakinuma, H. Amano, Fish. Sci., 2008, **74**, 180.
- [75] K. Iwamoto, T. Hiragun, S. Takahagi, Y. Yanase, S. Morioka, S. Mihara, Y. Kameyoshi, M. Hide, Arch. Dermatol. Res., 2011, **303**, 425.
- [76] S.-K. Kim, D.Y. Lee, W.K. Jung, J.H. Kim, I. Choi, S.G. Park, S.K. Seo, S.W. Lee, C.M. Lee, S.S. Yea, Y.H. Choi, I.W. Choi, Biomed. Pharmacother., 2008, **62**, 289.
- [77] Y. Li, S.H. Lee, Q.T. Le, M.M. Kim, S.K. Kim, J. Agric. Food Chem., 2008, **56**, 12073.
- [78] T. Shibata, K. Nagayama, R. Tanaka, K. Yamaguchi, T. Nakamura, J. Appl. Phycol., 2003, **15**, 61.
- [79] T.-S. Vo, J.-A. Kim, I. Wijesekara, C.-S. Kong, S.-K. Kim, Food Sci. Biotechnol., 2011, **20**, 1227.
- [80] K. Ishihara, M. Murata, M. Kaneniwa, H. Saito, K. Shinohara, M. Maeda-Yamamoto, Biosci. Biotechnol. Biochem., 1998, **62**, 1412.
- [81] K. Walkowska-Iwańska, *Co musisz wiedzieć o HIV i AIDS: bez względu na to gdzie mieszkasz czy pracujesz*, Wydanie IX, Warszawa, 2013, [www.gis.gov.pl](http://www.gis.gov.pl).
- [82] I.P. Singh, S.B. Bharate, K.K. Bhutani, Current Sci., 2005, **89**, 269.
- [83] D.J. Schaeffer, V.S. Krylov, Ecotox. Environ. Safety, 2000, **45**, 208.
- [84] A. Nowak, Post. Fitoter., 2011, **4**, 243.
- [85] R.J. Whitley, B. Roizman, The Lancet, 2001, **357**, 1513.
- [86] L.E. Riley, Semin. Perinatol., 1998, **22**, 284.
- [87] R. Bouhlal, C. Haslin, J.C. Chermann, S. Collic-Jouault, C. Singuin, G. Simon, S. Cerantola, H. Riadi, N. Bourgougnon, Mar. Drugs, 2011, **9**, 1187.
- [88] M.E.R. Duarte, D.G. Nosedá, M.D. Nosedá, S. Tulio, C.A. Pujol, E.B. Damonte, Phytomedicine, 2001, **8**, 53.
- [89] M. Huleihel, V. Ishanu, J. Tal, S. Arad, J. Appl. Phycol., 2001, **13**, 127.
- [90] S.-Y. Kim, S.R. Kim, M.J. Oh, S.J. Jung, S.Y. Kang, J. Microbiol., 2011, **49**, 102.
- [91] A.R. Soares, J.L. Abrantes, T.M. Lopes Souza, C.F. Leite Fontes, R.C. Pereira, I.C. de Palmer Paixão Frugulhetti, V.L. Teixeira, Planta Med., 2007, **73**, 1221.
- [92] J. Trincherro, N.M. Ponce, O.L. Córdoba, M.L. Flores, S. Pampuro, C.A. Stortz, H. Salomón, G. Turk, Phytother. Res., 2009, **23**, 707.
- [93] J.A. Hemmingson, R. Falshaw, R.H. Furneaux, K. Thompson, J. Appl. Phycol., 2006, **18**, 185.



- [94] P.C. de S.F-Tischer, L.B. Talarico, M.D. Nosedá, S.M. Pita B. Guimarães, E.B. Damonte, M.E.R. Duarte, *Cargohydr. Polym.*, 2006, **63**, 459.
- [95] E.A. Harden, R. Falshaw, S.M. Carnachan, E.R. Kern, M.N. Prichard, *Antiviral Res.*, 2009, **83**, 282.
- [96] U. Adhikari, C.G. Mateu, K. Chattopadhyay, C.A. Pujol, E.B. Damonte, B. Ray, *Phytochemistry*, 2006, **67**, 2474.
- [97] P. Mandal, C.G. Mateu, K. Chattopadhyay, C.A. Pujol, E.B. Damonte, B. Ray, *Antivir. Chem. Chemother.*, 2007, **18**, 153.
- [98] K. Chattopadhyay, C.G. Mateu, P. Mandal, C.A. Pujol, E.B. Damonte, B. Ray, *Phytochemistry*, 2007, **68**, 1428.
- [99] W. Zhu, L.C. Chiu, V.E. Ooi, P.K. Chan, P.O. Jr. Ang, *Int. J. Animicrob. Agents*, 2004, **24**, 81.
- [100] S.F. Mohamed, F.A. Agili, *Int. J. ChemTech Res.*, 2013, **5**, 1469.
- [101] L.B. Talaricio, C.A. Pujol, R.G. Zibetti, P.C. Faria, M.D. Nosedá, M.E. Duarte, E.B. Damonte, *Antiviral Res.*, 2005, **66**, 103.
- [102] H. Wang, E.V. Ooi, P.O. Ang Jr, *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2008, **9**, 969.
- [103] N. Riyaz, F.R. Arakkal, *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, 2011, **77**, 128.
- [104] S. Agatonovic-Kustrin, D.W. Morton, *Oceanography*, 2013, **1**, 106.
- [105] M. Molski, *Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa*, 2010.
- [106] M. Kakinuma, C.S. Park, *Fish. Sci.*, 2001, **67**, 194.
- [107] K. Senni, F. Gueniche, A. Foucault-Bertaud, S. Igondjo-Tchen, F. Fioretti, S. Collic-Jouault, P. Durand, J. Guezennec, G. Godeau, D. Letourneur, *Arch. Biochem. Biophys.*, 2006, **445**, 56.
- [108] D. Schmid, C. Schürch, F. Züllli, *Cosm. Toil. Manufacture Worldwide*, 2004, 139.
- [109] M.L. Dionisio-Sese, *Philippine J. Sci.*, 2010, **139**, 5.
- [110] B. Ryu, Z.-J. Qian, M.-M. Kim, K.W. Nam, S.-K. Kim, *Radiat. Phys. Chem.*, 2009, **78**, 98.
- [111] H. Shimoda, J. Tanaka, S.J. Shan, T. Maoka, *J. Pharm. Pharmacol. Res.*, 2010, **62**, 1137.
- [112] H.S. Kang, H.R. Kim, D.S. Byun, B.W. Son, T.J. Nam, J.S. Choi, *Arch. Pharm. Res.*, 2004, **27**, 1226.
- [113] S. Soltani, S. Saadatmand, R. Khavarinejad, T. Nejadstattari, *African J. Biotechnol.*, 2011, **10**, 7684.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 czerwca 2014



## „HORYZONTY NAUKI 2014 – FORUM PRAC DYPLOMOWYCH”

Na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w dniu 28 maja 2014 r. po raz szósty odbyła się konferencja studencka „Horyzonty Nauki 2014 – Forum Prac Dyplomowych”. Wcześniej konferencja funkcjonowała pod nazwą „Giełda Prac Dyplomowych”, a w roku 2012 nosiła nazwę „Gotowi do pracy”. Bez względu na nazwę, formuła konferencji jest taka sama i łączy naukowy charakter przedsięwzięcia z targami pracy, bowiem uczestniczą w niej przedstawiciele firm prezentujący profile działania swoich przedsiębiorstw i możliwości kariery zawodowej. Najważniejszymi uczestnikami konferencji są studenci prezentujący wyniki własnych badań wykonanych w ramach prac licencjackich, magisterskich i doktorskich. Przygotowują prezentacje w formie komunikatów ustnych i plakatów.

Organizatorem pierwszych dwóch edycji był Wydział Chemii UJ, a uczestnikami byli studenci tego Wydziału. Od roku 2011 konferencja organizowana jest przez Wydział Chemii oraz Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej. Każda kolejna edycja cieszy się coraz większym zainteresowaniem. Uczestniczą w niej studenci wszystkich stopni i kierunków studiów prowadzonych na tych dwóch Wydziałach. Odnotowano także udział studentów z Wydziału Farmacji, Biochemii, Biologii i Biotechnologii, a nawet Instytutu Psychologii. Studenci studiów doktoranckich aktywnie uczestniczą w pracach Komitetu Organizacyjnego, Konferencja „Horyzonty Nauki – Forum Prac Dyplomowych” na trwałe wpisała się w kalendarz imprez środowiskowych z udziałem organizacji samorządowych takich jak Wojewódzki Urząd Pracy w Krakowie, Grodzki Urząd Pracy w Krakowie, Małopolskie Centrum Przedsiębiorczości. Jednym z patronów konferencji od pierwszej edycji jest Polskie Towarzystwo Chemiczne.

Ważnym elementem tej konferencji są nagrody i wyróżnienia przyznawane w równym stopniu za wartość merytoryczną prezentacji jak i sposób prezentowania, bowiem jednym z celów konferencji jest pokazanie sylwetki absolwenta UJ. Główną nagrodą jest Nagroda im. Włodzimierza Jarzęby. Nagrody przyznają także Dziekani Wydziału Chemii UJ i Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej UJ, Polskie Towarzystwo Chemiczne, Polskie Towarzystwo Fizyczne, Towarzystwo Doktorantów UJ, Fundacja Studentów i Absolwentów UJ „Bratniak”, Program „Erasmus”. Firmy uczestniczące w konferencji oprócz nagród fundują także staże i szkolenia. W tegorocznej edycji firma „Selvita” ufundowała staż, szkolenie w zakresie IT ufundowała firma „JCommerce”. Nagrody przyznał Państwowy Instytut Nafty i Gazu oraz Przedsiębiorstwo Dom Książki sp. z o. o. z siedzibą w Białymstoku.

W tegorocznej edycji konferencji przyjęto nową formę nagradzania najciekawszych prezentacji jako propozycję przygotowania artykułów, które zostaną opublikowane na łamach czasopisma „Wiadomości Chemiczne”. W niniejszym wyborze zaprezentowano prace czworga laureatów wyróżnionych przez Krakowski Oddział PTChem. Zostali nimi **Agnieszka Chojnacka i Monika Bakierska** doktorantki na

Wydziale Chemii UJ, **Anna Kopacz i Marta Molenda** tegoroczne absolwentki studiów chemicznych oraz **Artur Wójcik** student międzywydziałowych studiów matematyczno-przyrodniczych UJ.

*Ewa Witek  
Przewodnicząca Krakowskiego Oddziału PTChem*

# AKUMULATORY LITOWE JAKO WSPÓŁCZESNE SYSTEMY MAGAZYNOWANIA ENERGII

## LITHIUM BATTERIES AS MODERN ENERGY STORAGE SYSTEMS

**Monika Bakierska<sup>\*</sup>, Agnieszka Chojnacka**

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

*\*e-mail: bakierska@chemia.uj.edu.pl*

Praca nagrodzona przez Krakowski Oddział PTChem

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Elektrochemiczne ogniwa odwracalne we współczesnej technice
  - 1.1. Podstawowe wielkości charakteryzujące akumulatory
  - 1.2. Rodzaje wykorzystywanych akumulatorów
2. Akumulatory litowe
  - 2.1. Budowa i zasada działania
  - 2.2. Materiały elektrodowe
    - 2.2.1. Materiały katodowe
    - 2.2.2. Materiały anodowe
  - 2.3. Elektrolity

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---



**Mgr Monika Bakierska** w roku 2012 ukończyła studia na kierunku zaawansowane materiały i nanotechnologie, realizowanym na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej oraz Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Obecnie jest doktorantką w Zakładzie Technologii Chemicznej, w Zespole Technologii Materiałów i Nanomateriałów Wydziału Chemii UJ. Główne zainteresowania naukowe to: systemy magazynowania energii ze szczególnym uwzględnieniem akumulatorów litowych (Li-Ion), materiały katodowe dla akumulatorów litowych oraz alternatywne źródła energii.



**Mgr Agnieszka Chojnacka** w roku 2011 ukończyła studia o specjalności chemia środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Obecnie jest doktorantką w Zakładzie Technologii Chemicznej, w Zespole Technologii Materiałów i Nanomateriałów Wydziału Chemii UJ. Jej zainteresowania naukowe obejmują szeroko pojętą chemię materiałów ze szczególnym uwzględnieniem nowoczesnych materiałów kompozytowych. Obecnie zajmuje się syntezą i charakterystyką materiałów anodowych dla akumulatorów litowych o wysokiej pojemności.

## ABSTRACT

Due to the need for comprehensive management of energy resources, the storage of energy becomes an increasingly important issue. From the analysis of the advantages and drawbacks of all methods of energy storage, reversible electrochemical cells seem to be the most effective. Among them, rechargeable lithium batteries are characterized by high energy density (Fig. 1), high voltage and good cyclic stability [7]. Thus, they have been a dominant technology of energy storage systems for over a decade. It is expected that market demand for Li-Ion cells in the coming years will grow at a rapid rate, as a result of their widespread use inter alia in portable electronic devices such as mobile phones, smartphones, tablet PCs and laptops (Fig. 2) [9].

This article presents the characteristics of lithium batteries. The most commonly used cathode material in Li-Ion battery is layered cobalt oxide (130 mAh/g). However, it is expensive and toxic material, thus manganese-based compounds ( $\text{LiMnO}_2$ ,  $\text{LiMn}_2\text{O}_4$ ), polyanionic olivine structured materials ( $\text{LiFePO}_4$ ) and silicates  $\text{Li}_2\text{MSiO}_4$  ( $M = \text{Mn, Co, Fe}$ ) gain an increasing interest. Due to the presence of two lithium ions in the structure of silicates, these materials have a high theoretical capacity, reaching about 300 mAh/g (Tab. 2) [1, 7–9, 11, 12].

Commercially used anode material is graphite (372 mAh/g). Nevertheless, scientists are still looking for new anode materials with a higher gravimetric capacity. Researches are primarily focused on modifications of the graphite or the use of lithium alloys with other elements (Sn, Al, Si) (Tab. 3) [1, 9, 12, 14, 15].

In the Lithium-Ion cells only non-aqueous solutions are used in the character of electrolytes. As a best material, the inorganic electrolyte lithium salts (such as  $\text{LiBr}$ ,  $\text{LiAsF}_6$ ,  $\text{LiPF}_6$ ,  $\text{LiBF}_4$ , etc.) soluble in organic solvents are used [1, 2, 7, 8]. However, the study on alternative solutions (polymer electrolytes) is very important.

Continuous technological progress makes the research on improving the reversible electrochemical cells necessary to fulfill the expectations of users in order to improve the quality of their lives.

**Keywords:** Li-Ion batteries, anode materials, cathode materials, electrolytes

**Słowa kluczowe:** Akumulatory litowe, materiały anodowe, materiały katodowe, elektrolity

---

## WPROWADZENIE

Obecnie coraz bardziej istotnym problemem staje się magazynowanie energii. Związane jest to ze wzrastającą koniecznością kompleksowego gospodarowania zasobami energetycznymi. Z analizy zalet i wad wszystkich sposobów przechowywania energii – elektrochemiczne ogniwa odwracalne wydają się najbardziej efektywne [1]. Akumulatory, czyli elektrochemiczne ogniwa odwracalne to urządzenia służące do magazynowania energii elektrycznej w postaci energii chemicznej. W układach tych, po zakończonym cyklu rozładowania wytworzone produkty można za pomocą prądu elektrycznego z zewnętrznego źródła przeprowadzić ponownie w substraty.

### 1. ELEKTROCHEMICZNE OGNIWA ODWRACALNE WE WSPÓŁCZESNEJ TECHNICIE

#### 1.1. PODSTAWOWE WIELKOŚCI CHARAKTERYZUJĄCE AKUMULATORY

W zależności od przeznaczenia i warunków eksploatacji dobiera się ogniwa o odpowiednich do potrzeb parametrach. Jednym z podstawowych parametrów charakteryzujących ogniwo, jest napięcie pomiędzy anodą i katodą. W przypadku, gdy pomiar napięcia dokonywany jest na niepracującym ogniwie (przez układ nie płynie prąd, a procesy na elektrodach są w stanie równowagi) wartość napięcia będzie równa sile elektromotorycznej SEM ogniwa, określonej jako różnica potencjałów elektrody dodatniej i ujemnej (1.1):

$$E = \varphi^+ - \varphi^- \quad (1.1)$$

Tuż po naładowaniu bądź po zakończonej pracy, ogniwo nie znajduje się w stanie równowagi, a zmierzone napięcie pracy  $U$  (1.2) trudno jest przyrównać do siły elektromotorycznej. Jest ono zawsze mniejsze od SEM podczas rozładowania, zaś większe podczas ładowania. Zjawisko to spowodowane jest omowymi stratami napięcia w elektrodach i elektrolicie oraz przede wszystkim polaryzacją elektrod [2].

$$U = E - \sum \eta \pm I \cdot R_s \quad (1.2)$$

gdzie:  $E$  – siła elektromotoryczna,  $\eta$  – nadpotencjał reakcji elektrodowych,  $I$  – natężenie prądu ładowania/rozładowania;  $R_s$  – opór wewnętrzny ogniwa.

Z uwagi na to wprowadzono termin OCV (ang. *open circuit voltage*), czyli napięcie obwodu otwartego [1]. Pojęcie to odnosi się do wartości napięcia niepracującego ogniwa, zmierzonej za pomocą miernika wykazującego bardzo duży opór wewnętrzny.

Istotną charakterystyką ogniwa jest również jego pojemność właściwa  $C_s$ , która uzależniona jest od stosunku liczby elektronów uczestniczących w reakcji chemicz-

nej przebiegającej w ogniwie do masy molowej reagujących substancji, dana zależnością (1.3):

$$C_s = \frac{z \cdot F}{M} \quad (1.3)$$

gdzie  $z$  – liczba elektronów wymienianych w sumarycznej reakcji elektrodowej,  $F$  – stała Faradaya,  $M$  – masa molowa składników elektroaktywnych.

Kolejną znaczącą wielkością opisującą ogniwa jest energia właściwa  $E_s$  (tzw. grawimetryczna gęstość zgromadzonej energii). Wartość energii  $E_s$  opisana jest poprzez iloczyn napięcia OCV ogniwa oraz jego pojemności elektrycznej właściwej (1.4):

$$E_s = U_{OCV} \cdot C_s \quad (1.4)$$

Poza masową gęstością magazynowanej energii, wykorzystuje się również pojęcie gęstości wolumetrycznej (wielkości energii przechowywanej przez ogniwo, odniesionej do jednostki objętości).

Przydatność akumulatora do pracy określa także wydajność energetyczna, czas życia, efektywność działania w danym zakresie temperatur, wytrzymałość mechaniczna i wiele innych.

Aby elektrochemiczne ogniwa odwracalne w pełni nadawały się do szerokiego użytku powinny spełniać następujące wymagania [3]:

- mieć wysokie napięcie podczas pracy,
- posiadać znaczną pojemność oraz energię właściwą,
- charakteryzować się wysoką sprawnością energetyczną,
- wykazywać odporność na dużą liczbę cykli ładowania/rozładowania,
- cechować się długą żywotnością,
- sprawnie działać w szerokim zakresie temperatur.

Ponadto ogniwa te powinny być lekkie, tanie i łatwe w eksploatacji.

## 1.2. RODZAJE WYKORZYSTYWANYCH AKUMULATORÓW

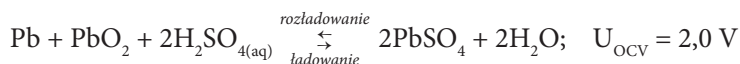
Istnieje wiele kryteriów podziału elektrochemicznych ogniw odwracalnych między innymi ze względu na: rodzaj zastosowanego materiału, z którego wykonane są elektrody (niklowe, cynkowe itp.), stanu skupienia elektrod (z elektrodą stałą, z elektrodą gazową), składu elektrolitu (organiczne/nieorganiczne, kwasowe/zasadowe), kształtu i rozmiaru akumulatora (np. cylindryczne R10, prostokątne S8), zakresu temperatury pracy czy też przeznaczenia.

Do najpopularniejszych typów ogniw wtórnych należą:

- akumulatory kwasowo-ołowiowe (ang. *lead acid battery*; *Pb-Acid*),
- akumulatory niklowo-kadmowe (ang. *nickel-cadmium battery*; *Ni-Cd*),
- akumulatory wodorkowe (ang. *nickel-metal hydride battery*; *Ni-MH*),

- akumulatory litowe (ang. *lithium battery; Li-Metal, Li-Ion, PLiON*).

Akumulatory kwasowo-ołowiowe to urządzenia znane od dawna i dobrze nadające się do uruchamiania silników samochodowych, gdzie do tej pory ze względu na niski koszt produkcji i znakomitą odtwarzalność układu elektrochemicznego pozostają w zasadzie niezastąpione. W układzie tym, podczas pracy anodą jest ołów, a katodą tlenek ołowiu(IV). Obie elektrody zanurzone są w wodnym roztworze kwasu siarkowego(VI). Proces chemiczny zachodzący w ogniwie można przedstawić następującym równaniem:

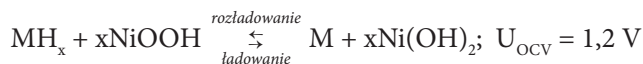


Akumulatory niklowo-kadmowe to układy pracujące z wodorotlenkiem niklu jako elektrodą dodatnią oraz mieszaniną kadmu i żelaza jako elektrodą ujemną. Elektrolit stanowi wodny roztwór wodorotlenku sodu lub potasu. W ogniwie tym reakcje ładowania/rozładowania zachodzą według równania:



Układy te wykazują szeroki zakres zastosowań od bezprzewodowych urządzeń elektrycznych po przełączniki sieci wysokiego napięcia i napędy pojazdów. Ogniwa tego typu są droższe od akumulatorów Pb-Acid, lecz mają wiele zalet: trwałość, niewielkie wymogi obsługi i dobrą charakterystykę w niskich temperaturach. Pomimo dość dobrych parametrów pracy są stopniowo wycofywane z rynku ze względu na zawartość bardzo toksycznego kadmu [4].

Akumulatory wodorkowe wykazują znaczne podobieństwa konstrukcyjne do akumulatorów Ni-Cd. Zasadniczą różnicą jest natomiast zastosowanie w ogniwach Ni-MH jako elektrody ujemnej stopów metali, które wykorzystując elektrolizę wody mogą wydzielać i absorbować wodór, wiązany chemicznie w postaci wodorków. Na skutek rozładowania takiego nasyconego wodorem stopu, wodorek metalu rozkłada się na metal i jony wodorowe wraz z uwolnieniem elektronów. Procesy chemiczne w tym ogniwie zachodzą zgodnie z równaniem:



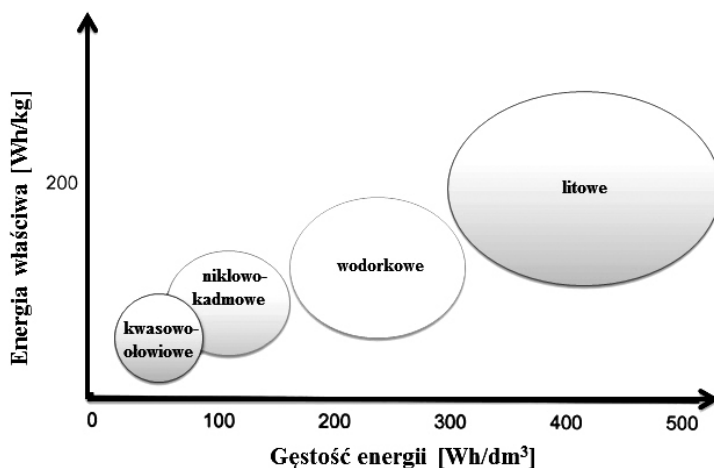
Akumulatory litowe to współcześnie najbardziej obiecujące elektrochemiczne ogniwa odwracalne. Każdego miesiąca na świecie produkuje się miliony ogniw litowych różnego typu, o coraz to lepszych parametrach. Znajdują one zastosowanie zarówno w przemyśle elektronicznym jak i motoryzacyjnym. Od pozostałych technologii produkcji akumulatorów wyróżnia je przede wszystkim duża gęstość energii (Rys. 1), wysokie napięcie pracy oraz dobra trwałość cykliczna (Tab. 1). Dokładniejsze informacje na temat akumulatorów litowych można znaleźć w rozdziale 2.

W Tabeli 1 zebrano najpopularniejsze typy elektrochemicznych ogniw odwracalnych wraz z ich podstawowymi parametrami [5, 6].



Tabela 1. Zestawienie najpopularniejszych akumulatorów wraz z ich parametrami użytkowymi  
 Table 1. Summary of the most popular batteries and their functional parameters

Typ baterii	Pb-Acid	Ni-Cd	Ni-MH	Li-Metal	Li-Ion
Średnie napięcie ogniwa [V]	2,0	1,2	1,2	3,0	3,3÷3,8
Energia właściwa [Wh/kg]	30÷50	45÷80	60÷120	140	90÷190
Stabilność cykli ładowania/rozładowania [liczba cykli]	200÷300	1000	300÷500	1000	500÷2000
Ubytek ładunku [%/miesiąc]	5	20	30	2	10
Sprawność energetyczna [%]	70÷90	70÷90	60÷70	brak informacji	99
Zakres temperaturowy pracy [°C]	-20÷50	-30÷65	-20÷60	-30÷50	-20÷60
Efekt pamięciowy	Nie	Tak	Nie	Nie	Nie



Rysunek 1. Porównanie powszechnie znanych technologii produkcji akumulatorów pod względem gęstości energii [7]

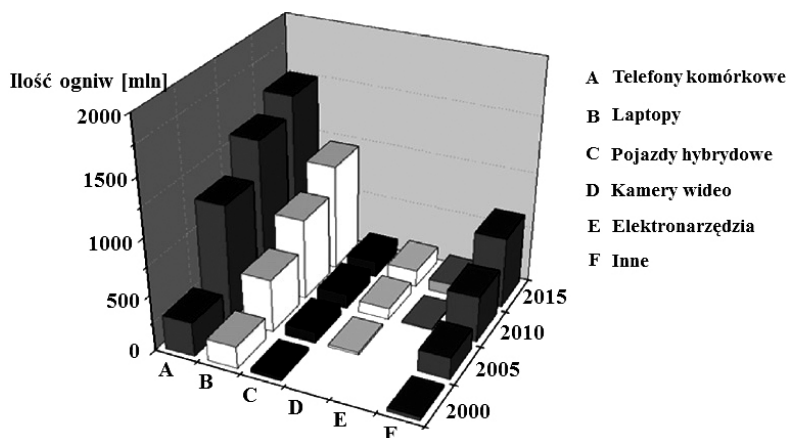
Figure 1. Comparison of the commonly known battery technologies in terms of energy density [7]

Dla ogniwi o określonych rozmiarach większa wartość gęstości zmagazynowanej energii przekłada się na mniejsze i lżejsze ogniwa.

## 2. AKUMULATORY LITOWE

Stworzenie i wprowadzenie do obiegu w roku 1970 pierwotnych (nieładownych) ogniwi litowych istotnie poszerzyło obszar zastosowań elektrochemicznych źródeł prądu. Zdarzenie to zapoczątkowało również badania nad opracowaniem odwracalnego układu Li/Li<sup>+</sup>, który stałby się podstawą wydajnych ogniwi wtórnych, zdolnych do pracy w wielokrotnie powtarzanych cyklach. Przełom w tej kwestii nastąpił wraz z odkryciem licznych związków nieorganicznych (związków interka-

lacyjnych), które jak wykazano, mogą reagować z litem w sposób odwracalny [1]. W 1972 roku firma Exxon przedsięwzięła projekt mający na celu rozwój odwracalnych ogniw litowych I generacji, w których anodę stanowił metaliczny lit, katodę siarczek tytanu, a elektrolit nadchloran litu rozpuszczony w dioksolanie [8]. Pomimo nienagannej pracy elektrody dodatkowo, system Li-Metal okazał się być niebezpieczny i nieoptymalny, ze względu na powstawanie pasywnej warstwy na powierzchni litu, wytwarzającej się w kontakcie z organicznym rozpuszczalnikiem. Próba rozwiązania tego problemu, było zastąpienie czystego litu stopem litowo-glinowym. Taki zabieg, nie przyniósł jednak oczekiwanych rezultatów, gdyż ogniwo wykorzystujące jako materiał anodowy stop litu z glinem cechowało się znacznie mniejszą mocą i pojemnością właściwą. Kolejny postęp uczyniono wraz z rozwojem materiałów interkalacyjnych, w wyniku czego, pod koniec lat 80. XX wieku opracowano technologię ogniw II generacji z interkalowanym litem i jego jonami w stałych elektrodach (Li-Ion). Intensywne działania prowadzone w Asahi Chemicals doprowadziły do powstania w 1990 roku pierwszych, komercyjnie dostępnych odwracalnych ogniw litowo-jonowych, wyprodukowanych przez koncern Sony [7]. Od tego czasu rynek akumulatorów litowych rozwija się bardzo dynamicznie (Rys. 2).



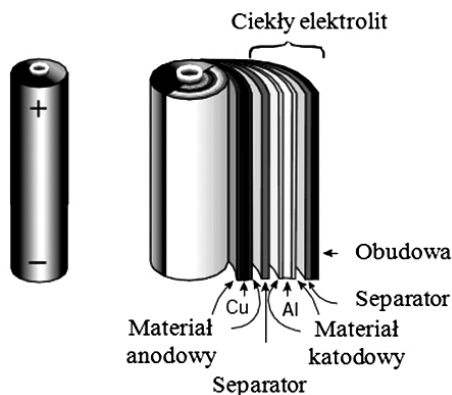
Rysunek 2. Rozwój sprzedaży akumulatorów litowych na rynku elektronicznym i motoryzacyjnym [9]  
Figure 2. Sales development of lithium batteries in the electronic and the automotive market [9]

Wciąż jednak poszukiwane są nowe rozwiązania materiałowe i konstrukcyjne mające na celu zmniejszenie kosztów, poprawę parametrów oraz bezpieczeństwa pracy akumulatorów. Zamierzenia te mogą zostać osiągnięte poprzez [9]:

- zastąpienie powszechnie stosowanych materiałów elektrodowych, materiałami cechującymi się lepszą pojemnością, trwałością, większą dostępnością i niższą ceną;
- zastąpienie obecnie używanych organicznych elektrolitów, bezpieczniejszymi i bardziej niezawodnymi układami.

## 2.1. BUDOWA I ZASADA DZIAŁANIA

Nieodłącznymi częściami każdej celi elektrochemicznej (Rys. 3) są elektrody – ujemna (anoda) i dodatnia (katoda), obdarzone zdolnością przewodzenia elektronów i zawierające substancje aktywne, mogące ulegać utlenieniu bądź redukcji. Obie elektrody oddzielone są za pomocą elektrolitu, wykazującego jedynie przewodność jonową. Dodatkowymi elementami celi są separatory, umieszczane pomiędzy elektrodami o przeciwnych znakach. Ich rolą jest przede wszystkim zapobieganie przed zwarciem wewnątrz celi. Co więcej, separatory muszą umożliwiać swobodny transport jonów, a ich budowa powinna być zwarta, pozbawiona wszelkich porów [2].

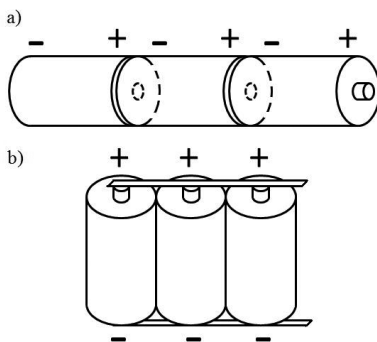


Rysunek 3. Rozwiązanie konstrukcyjne dla cylindrycznej celi elektrochemicznej [8]

Figure 3. Constructional solution of the cylindrical electrochemical cell [8]

Akumulatory litowe mogą pracować jako pojedyncze cele, bądź też układy kilku cel, połączonych ze sobą w odpowiedni sposób – szeregowo bądź równoległe (Rys. 4). Zastosowanie konkretnego połączenia pozwala na uzyskanie większego napięcia pracy lub odpowiednio większej pojemności i mocy akumulatora<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Akumulator złożony z cel połączonych szeregowo charakteryzuje się napięciem równym sumie napięć poszczególnych cel oraz pojemnością równą pojemności pojedynczej celi. Przy drugim sposobie łączenia – równoległym, pojemność akumulatora jest sumą pojemności elektrycznej cel, a napięcie jest równe napięciu pojedynczej celi.



Rysunek 4. Schemat szeregowego (a) i równoległego (b) łączenia cel  
 Figure 4. Scheme of serial (a) and parallel (b) cell connection

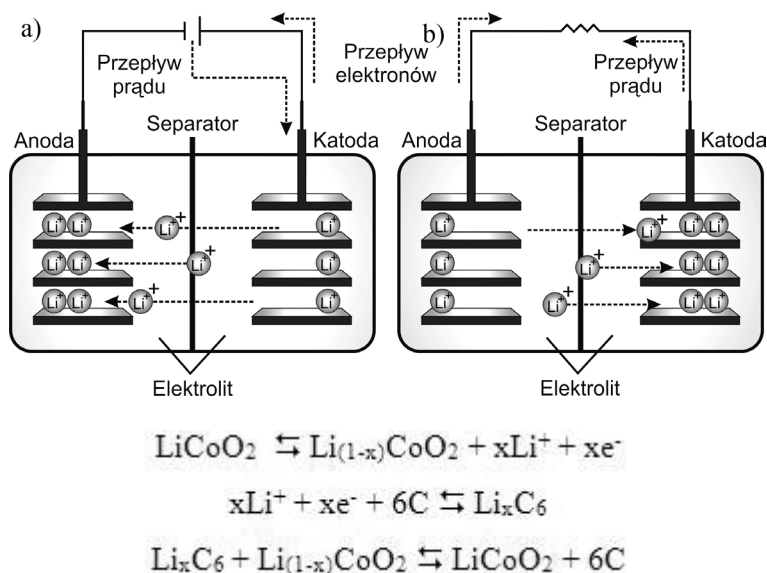
Zestawy cel w ogniwach litowych potrzebują dodatkowo specjalnych układów elektrycznych i elektronicznych sprawujących kontrolę nad ich funkcjonowaniem [1].

Zasada działania akumulatora litowego (Rys. 5) opiera się na zjawisku interkalacji/deinterkalacji<sup>2</sup> jonów litu [10]. W procesie rozładowania, jony litu na skutek gradientu stężenia wędrują poprzez elektrolit z anody do materiału katodowego, który stanowi związek metalu przejściowego. Migracja jonów  $\text{Li}^+$  pomiędzy elektrodami powoduje obniżenie energii układu i równoczesny przepływ elektronów w obwodzie zewnętrznym akumulatora. Na katodzie następuje redukcja<sup>3</sup> jonu metalu przejściowego oraz wbudowanie jonów litu w strukturę materiału aktywnego. Proces odwrotny (ładowanie) uzyskuje się przez przyłożenie do elektrod zewnętrznego źródła napięcia. Pod wpływem różnicy potencjałów, na elektrodzie dodatniej następuje reakcja elektrochemiczna, w wyniku której jon metalu przejściowego zwiększa swój stopień utlenienia. Reakcji tej towarzyszy usunięcie jonów  $\text{Li}^+$  z materiału katody i ich migrację przez elektrolit do anody. W przypadku zastosowania anody grafitowej, reakcja redoks na elektrodzie ujemnej nie zachodzi, jony litu są lokowane pomiędzy warstwami tworzącymi strukturę grafitu, a elektrony w jego paśmie przewodnictwa.

Schemat reakcji zachodzących na elektrodach akumulatora, którego katodą jest związek oparty na tlenku kobaltu ( $\text{LiCoO}_2$ ), a anodą grafit (C) przedstawiono poniżej:

2 Interkalacja to proces odwracalnego wbudowywania w strukturę ciała stałego jonów, atomów lub cząsteczek innej substancji, przebiegający bez zasadniczych zmian w strukturze krystalicznej interkalowanego materiału. Proces odwrotny nosi nazwę deinterkalacji [11].

3 Reakcje utleniania i redukcji są podstawą funkcjonowania ogniw i dają możliwość bezpośredniej zamiany energii uwalnianej podczas reakcji chemicznej na energię elektryczną [1].



Rysunek 5. Schemat działania odwracalnego ogniwa typu Li-Ion: proces rozładowania (a) i ładowania (b)  
 Figure 5. Functional diagram of a reversible Li-Ion battery: the process of discharging (a) and charging (b)

## 2.2. MATERIAŁY ELEKTRODOWE

Stosowane do konstrukcji akumulatorów litowych materiały elektrodowe determinują parametry funkcjonowania ogniwa. Trwają więc intensywne prace prowadzące do ich udoskonalenia i wciąż poszukiwane są nowe, aktywne materiały, charakteryzujące się:

- dobrą odwracalnością reakcji ładowania i rozładowania, co zapewni długą żywotność ogniwa,
- wysoką pojemnością właściwą, utrzymującą się przez jak największą liczbę cykli,
- mieszanym przewodnictwem jonowo-elektronowym,
- dużą stabilnością chemiczną wpływającą na bezpieczeństwo (nie mogą one reagować z elektrolitem),
- niską ceną,
- łatwością w otrzymywaniu,
- niską toksycznością czy uciążliwością dla środowiska.

### 2.2.1. MATERIAŁY KATODOWE

W ogniwach I generacji (Li-Metal), jako materiał katodowy wykorzystywano związki metali przejściowych z tlenowcami typu  $\text{M}_a\text{X}_b$  oraz  $\text{L}_x\text{M}_a\text{X}_b$  (m.in.  $\text{TiS}_2$ ,

$\text{MnO}_2$ ,  $\text{V}_2\text{O}_5$ ,  $\text{Li}_x\text{CoO}_2$  itp.), które posiadają postać fazy przewodzącej i mogą reagować z jonami litu pochodzącymi z materiału anody w sposób odwracalny [11]. To zachowanie jest związane ze strukturą materiału, zawierającą warstwy lub kanaliki, w które metal alkaliczny może wnikać, nie powodując zasadniczych zmian w strukturze ani właściwościach elektrochemicznych [1].

W akumulatorach typu Li-Ion, w większości których anodę stanowi materiał węglowy, nie zawierający litu, materiały katodowe muszą działać jako źródło metalu alkalicznego. W tym celu stosowane są jedynie związki litowane  $\text{Li}_x\text{M}_a\text{X}_b$ . Oprócz wymagań opisanych na początku podrozdziału 2.2., związki te powinny charakteryzować się wysokim potencjałem chemicznym względem litu, zapewniającym wysokie napięcie ogniwa. W związku z tym metal przejściowy M w tym związku powinien posiadać wysoki stopień utlenienia.

Najpowszechniej stosowanym materiałem katodowym w akumulatorach typu Li-Ion jest warstwowy tlenek kobaltu. W czystej postaci,  $\text{LiCoO}_2$  wykazuje ograniczoną pojemność właściwą (130 mAh/g), wynikającą z uwalniania jedynie połowy jonów litu na jednostkę strukturalną materiału [12]. Fakt ten, nie stanowi jednak problemu w szerokim użyciu tego związku. Ograniczeniem jest natomiast jego wysoka cena, toksyczność i względy bezpieczeństwa, dlatego też niemożliwe jest stosowanie tego materiału w bateriach ogniwi o dużej energii i mocy.

Tańszym i mniej toksycznym odpowiednikiem  $\text{LiCoO}_2$ , wydawał się być warstwowy tlenek niklu. Wykazywał on wyższą pojemność właściwą, natomiast również stwarzał problemy dotyczące bezpieczeństwa pracy ogniwi. Aby poprawić stabilność termiczną,  $\text{LiNiO}_2$  domieszkowano kobaltem, tworząc kompozycję  $\text{LiNi}_{0,8}\text{Co}_{0,2}\text{O}_2$ . Równocześnie prowadzono próby domieszkowania warstwowych tlenków innymi pierwiastkami, takimi jak glin, gal, magnez, czy tytan. Doprowadziło to, do powstania fazy  $\text{LiNi}_{(1-x)}\text{Ti}_{x/2}\text{Mg}_{x/2}\text{O}_2$ , która, jak twierdzono, jest bezpieczna i której praktyczna pojemność właściwa wynosi 180 mAh/g [8].

Związki oparte na manganie ( $\text{LiMnO}_2$  oraz spinel  $\text{LiMn}_2\text{O}_4$ ), to kolejne, alternatywne materiały katodowe. W porównaniu do  $\text{LiCoO}_2$  oraz  $\text{LiNiO}_2$  cechuje je nieco niższa pojemność właściwa, ale również znacznie niższa cena, większa dostępność oraz mniejsza uciążliwość dla środowiska. Te trzy ostatnie cechy zadecydowały o możliwości szerokiego zastosowania tych materiałów. Mimo to, udział tych ogniwi na rynku jest wciąż stosunkowo niewielki [7].

Na szczególną uwagę, wśród materiałów katodowych, zasługują polianionowe materiały o strukturze oliwinów [9]. Charakteryzują się one wysoką stabilnością chemiczną i termiczną, co przekłada się na bezpieczeństwo użytkowania. Oliwin  $\text{LiFePO}_4$ , główny przedstawiciel tej grupy materiałów, składa się z powszechnie dostępnych pierwiastków, a więc potencjalny koszt jego uzyskania nie może być wysoki. Ponadto związek ten ma neutralny wpływ na środowisko, co czyni go wyjątkowo atrakcyjnym. Jedyną wadą tego materiału, jest niska przewodność elektryczna, która uniemożliwia pełne wykorzystanie jego pojemności teoretycznej.

Poza oliwinami, nową klasę materiałów katodowych stanowią krzemiany  $\text{Li}_2\text{M-SiO}_4$  (M = Mn, Co, Fe). Dzięki zawartości dwóch jonów litu w swojej strukturze,

cechują się wysoką pojemnością teoretyczną, sięgającą ok. 300 mAh/g. Materiały te są również obojętne dla środowiska, a ich zastosowanie powinno znacznie obniżyć koszty produkcji akumulatorów. Podobnie jak materiały o strukturze oliwinów, nie mają dobrej przewodności elektrycznej, ale są stabilne.

W Tabeli 2 zestawiono omówione materiały katodowe, wykorzystywane w odwracalnych ogniwach typu Li-Ion wraz z ich najważniejszymi parametrami pracy.

Tabela 2. Materiały katodowe stosowane w produkcji akumulatorów litowych wraz z parametrami użytkowymi [7]

Table 2. Cathode materials used in the production of lithium batteries with the functional parameters [7]

Materiał	Praktyczna pojemność właściwa [mAh/g]	Wolumetryczna gęstość energii [mAh/cm <sup>3</sup> ]	Bezpieczeństwo	Koszt
LiCoO <sub>2</sub>	160	808	średnie	wysoki
LiNiO <sub>2</sub>	220	1056	niskie	średni
LiNi <sub>0,8</sub> Co <sub>0,2</sub> O <sub>2</sub>	180	873	średnie	średni
LiMn <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	110	462	dobrze	niski
LiFePO <sub>4</sub>	160	592	dobrze	niski

### 2.2.2. MATERIAŁY ANODOWE

Spośród wszystkich materiałów anodowych, za najbardziej atrakcyjny (pod względem właściwości elektrochemicznych) uważa się bardzo aktywny chemicznie, najlżejszy z metali ( $d = 0,534 \text{ g/cm}^3$ ) - lit. Metal ten ma najniższy potencjał standardowy (ok.  $-3,0 \text{ V}$ ) oraz bardzo dużą elektryczną pojemność właściwą, wynoszącą 3860 mAh/g [1]. Skonstruowanie więc stałej anody litowej wydawało się być najprostszym rozwiązaniem. Okazało się jednak, że w przypadku odwracalnych ogniw litowych, zjawisko powstawania pasywnej warstwy (elektroosadzania litu na powierzchni anody) jest czynnikiem szkodliwym, stwarzającym problemy dla dobrej odtwarzalności procesów elektrodowych. Na skutek zablokowania przez wytworzone dendryty litowe, fragmenty elektrody ujemnej zostają odcięte od kontaktu elektrycznego. W związku z tym, po kilku cyklach ładowania/rozładowania, pojemność ogniwa znacznie się zmniejszała, co jednocześnie skutkowało spadkiem stabilności, prowadzącym do zwarć wewnętrznych ogniwa, wzrostu temperatury i niejednokrotnych wybuchów. Akumulatory stosujące stałą anodę litową zostały wprowadzone na rynek, jednak niezbyt zadowalające parametry oraz względy bezpieczeństwa sprawiły, iż po krótkim czasie zaprzestano ich sprzedaży i produkcji.

Lepszym rozwiązaniem w konstrukcji anody, okazało się zastosowanie grafitu. Materiał ten wykazuje zdolność do interkalacji jonów litu pomiędzy warstwy w swej strukturze, dzięki czemu, problem niejednorodnego osadzania się litu na powierzchni elektrody ujemnej, przestał odgrywać jakiegokolwiek znaczenie. Grafit to materiał tani, łatwo dostępny i nietoksyczny. Chociaż wykazuje on znacznie niż-

szą pojemność (dla interkalatu o składzie  $\text{LiC}_6$  pojemność wynosi 372 mAh/g), niż metaliczny lit, to dobre parametry bezpieczeństwa pracy i większa trwałość (żywo- ność), zadecydowały o jego szerokim użyciu w ogniwach komercyjnych. Poprzez zmiany w strukturze grafitu, w której część atomów węgla zastępowana jest ato- mami boru osiągnięto dwukrotnie większą pojemność właściwą anody. Materiały te okazały się jednakże znacznie mniej odporne na cykle ładowania/rozładowania niż czysty grafit. Modyfikacje grafitu prowadzone są również przez podstawienia atomów węgla innymi pierwiastkami, np. krzemem. Oprócz grafitu, jako materiał anodowy stosuje się również amorficzny węgiel. Pomimo, że może on gromadzić o połowę mniejszy ładunek niż grafit ( $\text{Li}_{0,5}\text{C}_6$ ), cechuje go dobra żywotność, stąd też jest szeroko stosowany w produkcji akumulatorów litowych. Wciąż jednak poszu- kuje się innych materiałów pochodzenia węglowego, zdolnych do interkalacji jonów litu [14, 15].

Kolejną interesującą grupę materiałów anodowych stanowią stopy litu z innymi pierwiastkami, np. cyną, krzemem, glinem itp. W porównaniu do anod węglowych, charakteryzują się one znacznie wyższą pojemnością właściwą (Tab. 3), która jednak bezpośrednio wiąże się z dużymi zmianami objętości tych materiałów, zachodzą- cymi na skutek interkalacji jonów litu do ich struktury. Zmiany te mogą sięgać nawet powyżej 300%. W konsekwencji, w ogniwie, pojawiają się ogromne naprężenia, które mogą prowadzić do jego zniszczenia. Ponadto, kontakt elektryczny pomię- dzy elektrodą ujemną i pozostałymi elementami akumulatora słabnie, a pojemność w dużym stopniu ulega zmniejszeniu. Rozwiązanie tego problemu może nastąpić wraz z optymalizacją morfologii elektrod i rozwojem nanostrukturalnych układów zdolnych do buforowania dużych zmian objętości, zapewniając jednocześnie długi cykl życia ogniw i ich wysoką pojemność [9]. Materiały te wydają się zatem być bardzo obiecujące. W ostatnich latach firma Sony wyprodukowała akumulatory, w których niskonapięciowa anoda grafitowa została zastąpiona nanostrukturalnym stopem Sn-Co-C. Zastosowanie nowej anody pozwoliło na uzyskanie 30% wzrostu pojemności akumulatora. Badania nad takimi potencjalnymi anodami rozwijają się bardzo dynamicznie.

Innym przykładem nowoczesnych materiałów anodowych są związki oparte na tytanie. Ich atrakcyjność wiąże się z niską ceną, małą toksycznością, ale przede wszystkim, wysokim potencjałem interkalacji litu w ich strukturę (1,5–1,6 V) wzglę- dem  $\text{Li}/\text{Li}^+$ , co zapewnia ochronę przed przeładowaniem akumulatora [9, 12].

W Tabeli 3 przedstawiono charakterystykę wybranych materiałów anodowych.



Tabela 3. Charakterystyka wybranych materiałów anodowych [16]  
 Table 3. Characteristics of selected anode materials [16]

Materiał anodowy	Li	Si	Al		Ge	Sn	C (grafit)
Związek litowany	Li	Li <sub>22</sub> Si <sub>5</sub>	Al <sub>4</sub> Li <sub>9</sub>	AlLi	Li <sub>22</sub> Ge <sub>3</sub>	Li <sub>22</sub> Sn <sub>5</sub>	LiC <sub>6</sub>
Teoretyczna pojemność właściwa [mAh/g]	> 3800	> 3000	2234	993	1600	994	372
Zmiany objętości [%]	wzrost dendrytyczny	323	–	97	370	300	9

### 2.3. ELEKTROLITY

Przy konstrukcji konkretnego akumulatora litowego obok materiałów elektrodowych należy dokonać wyboru najbardziej optymalnego układu sól-rozpuszczalnik jako elektrolitu ogniwa. Narzuca to konieczność rozważenia takich jego własności jak przewodnictwo, aktywność chemiczna i elektrochemiczna.

Głównym zadaniem elektrolitu, w odwracalnych ogniwach litowych, jest zapewnienie przewodnictwa jonowego pomiędzy elektrodą dodatnią i ujemną. Oprócz tego elektrolit zapewnia utworzenie zamkniętego obwodu elektrycznego w ogniwie wówczas, gdy do obciążenia zewnętrznego zostanie podłączone źródło energii elektrycznej [2]. Elektrolit nie może cechować się przewodnictwem elektrodynamicznym natomiast musi wykazywać bierność chemiczną w stosunku do materiałów elektrodowych.

W ogniwach litowych, jako elektrolity stosuje się wyłącznie roztwory niewodne. Wynika to z faktu, iż lit, który wykazuje silnie metaliczne właściwości, gwałtownie redukuje wodę. Jako najlepsze materiały elektrolitowe uznano nieorganiczne sole litu (m.in. LiBr, LiAsF<sub>6</sub>, LiPF<sub>6</sub>, LiBF<sub>4</sub>) rozpuszczalne w organicznych rozpuszczalnikach. Do najbardziej popularnych rozpuszczalników zalicza się: cykliczne estry (węglany etylenu – EC i propylenu – PC), liniowe estry, amidy oraz sulfotlenki [1]. Czasami, wykorzystywane są również rozpuszczalniki mieszane. Ich właściwości są ukierunkowane na osiągnięcie najlepszych, dla danych potrzeb, charakterystyk ogniwa. W celu poprawy właściwości elektrolitów, dodaje się do nich szeregu różnych składników, które można podzielić na [7]:

- środki chroniące przed przeładowaniami,
- środki chroniące materiały elektrodowe,
- środki zwilżające,
- środki ograniczające palność.

Zastąpienie ciekłego elektrolitu elektrolitem polimerowym (stałym, żelowym lub kompozytowym) znacznie poszerza zakres zastosowań ogniw litowych. Użyty w odwracalnych ogniwach litowych, elektrolit polimerowy, pełniący jednocześnie funkcję separatora, pozwala na konstruowanie supercieńkich akumulatorów [8].

Inne cechy, jakie może wykazywać akumulator oparty na polimerowym elektrolicie są następujące:

- elastyczność konstrukcji,
- brak wycieków,
- odporność na ogień,
- wytrzymałość na wstrząsy i uderzenia,
- wzrost przepustowości oraz poprawa cykliczności.

## PODSUMOWANIE

Ze względu na dużą gęstość energii, wysokie napięcie pracy oraz dobrą trwałość cykliczną akumulatory litowe to współcześnie najbardziej obiecujące elektrochemiczne ogniwa odwracalne.

Najpowszechniej stosowanym materiałem katodowym w akumulatorach typu Li-Ion jest warstwowy tlenek kobaltu (130 mAh/g). Jest to jednak materiał drogi i toksyczny, dlatego też coraz większe zainteresowanie zyskują związki oparte na manganie ( $\text{LiMnO}_2$ ,  $\text{LiMn}_2\text{O}_4$ ), polianionowe materiały o strukturze oliwinów ( $\text{LiFePO}_4$ ) oraz krzemiany  $\text{Li}_2\text{MSiO}_4$  ( $M = \text{Mn, Co, Fe}$ ). Te ostatnie dzięki zawartości dwóch jonów litu w swojej strukturze, cechują się wysoką pojemnością teoretyczną, sięgającą ok. 300 mAh/g.

Komercyjnie stosowanym materiałem anodowym w ogniwach odwracalnych jest grafit (372 mAh/g). Wciąż jednak poszukuje się nowych materiałów anodowych, które wykazywałyby wyższą pojemność gramometryczną. Badania naukowców skupiają się głównie na modyfikacjach struktury grafitu lub zastosowaniem stopów litu z innymi pierwiastkami (Sn, Al, Si).

W ogniwach litowych, jako elektrolity stosuje się wyłącznie roztwory niewodne. Jako najlepsze materiały elektrolitowe uznano nieorganiczne sole litu (m.in.  $\text{LiBr}$ ,  $\text{LiAsF}_6$ ,  $\text{LiPF}_6$ ,  $\text{LiBF}_4$ , itp.) rozpuszczalne w organicznych rozpuszczalnikach. Ze względu na kwestie bezpieczeństwa oraz możliwości szerszego zastosowania akumulatorów litowych, bardzo istotne w ostatnim czasie stały się badania nad elektrolitami polimerowymi.

Ciągły postęp technologiczny sprawia, że prace nad udoskonalaniem elektrochemicznych ogniw odwracalnych są niezbędne, aby spełnić oczekiwania użytkowników i poprawić jakość ich życia.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Czerwiński, *Akumulatory, baterie, ogniwa*, WKŁ, Warszawa, 2005.
- [2] W. Bagocki, *Chemiczne źródła energii elektrycznej*, WNT, Warszawa, 1965.
- [3] C. Vincent, *Modern Batteries*, Arnold, Londyn, 1997.

- 
- [4] Parlament Europejski i Rada Unii Europejskiej, Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej: Dyrektywa 2006/66/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 6 września 2006 r.
- [5] I. Buchmann, Batteries in a portable world [on-line] [dostęp: 23.06.2014]. Dostępny w Internecie: <http://www.buchmann.ca/default.asp>
- [6] W. Kester, *Practical design techniques for power and thermal management*, Analog Devices, Nowy Jork, 1998.
- [7] M. Yoshio, R.J. Brodd, A. Kozawa, *Lithium-Ion Batteries. Science and Technologies*, Springer, Nowy Jork, 2009.
- [8] J. Tarascon, M. Armand, Nature, 2001, **414**, 359.
- [9] B. Scrosati, J. Garche, J. Power Sources, 2010, **195**, 2419.
- [10] K. Świerczek, Zjawisko interkalacji i efekt elektrochromowy [on-line] [dostęp: 23.06.2014]. Dostępny w Internecie: <http://home.agh.edu.pl/~xi/dokumenty/3.pdf>
- [11] R. Huggins, *Advanced Batteries. Materials Science Aspects*, Springer, Nowy Jork, 2009.
- [12] P. Bruce, Solid State Ionics, 2008, **179**, 752.
- [13] I. Buchmann, Types of Lithium-ion [on-line] [dostęp: 23.06.2014]. Dostępny w Internecie: [http://batteryuniversity.com/learn/article/types\\_of\\_lithium\\_ion](http://batteryuniversity.com/learn/article/types_of_lithium_ion)
- [14] H. Azuma, H. Imoto, S. Yamada, K. Sekai, J. Power Sources, 1999, **81-82**, 1.
- [15] Y. Wu, E. Rahm, R. Holze, J. Power Sources, 2003, **114**, 228.
- [16] A. Kamali, D. Fray, Rev. Adv. Mater. Sci., 2011, **27**, 14.

Praca wpłynęła do Redakcji 24 lipca 2014



**SYNTETYCZNE ODPOWIEDNIKI  
FOSFOENOLOPIROGRONIANU,  
CZYLI JAK NAŚLADOWAĆ BIOSYNTEZĘ  
KWASÓW ULOZONOWYCH**

**SYNTHETIC EQUIVALENTS  
OF PHOSPHOENOLPYRUVATE  
– HOW TO IMITATE THE BIOSYNTHESIS  
OF ULOSONIC ACIDS**

**Marta Agnieszka Molenda**

*Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński  
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków, Polska  
e-mail: marta.molenda@gmail.com*

Praca nagrodzona przez Krakowski Oddział PTChem

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Charakterystyka i znaczenie kwasów ulozonowych
  - 1.1. Występowanie oraz biosynteza DAH i KDN
  - 1.2. Analiza retrosyntetyczna DAH i KDN
2. Równoważniki fosfoenolpirogronianu w syntezie kwasów ulozonowych
  - 2.1. Pochodne tiazolu
  - 2.2. Acetal aldehydu pirogronowego - organokataliza
  - 2.3. Acetal aldehydu pirogronowego, 2-acetylotiazol – kataliza metaloorganiczna
  - 2.4. Pirogronian etylu
  - 2.5. Pirogronian aryłowy

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

---



**Marta Molenda** urodziła się w 1990 roku w Krakowie. W 2009 roku ukończyła V Liceum Ogólnokształcące im. Augusta Witkowskiego. W tym samym roku rozpoczęła studia I stopnia na kierunku Ochrona Środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, które ukończyła w 2012 roku. Następnie rozpoczęła studia drugiego stopnia na kierunku Chemia UJ, trafiając do Zespołu Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej pod opiekę prof. dr hab. Jacka Młynarskiego. Pracę dyplomową o tytule „Organokatalityczna enancjio- i diastereoselektywna reakcja aldolowa estrów kwasu pirogronowego” obroniła 24 czerwca 2014 r., otrzymując tytuł magistra chemii.

## ABSTRACT

Ulosonic acids are key intermediated in many important biochemical pathways. One of them is DAH, which takes part in the shikimic acid pathway, as precursor in aromatic amino acids biosynthesis [1]. Another interesting compound is KDN isolated from rainbow trout egg [2], where it is responsible for the protection of the embryo in the early stages of embryonic development [3].

In the nature ulosonic acids are synthesized from phosphorylated sugar aldehydes and phosphoenolpyruvate in enzymatic aldol reaction. Mimic of enzymatic catalysis by asymmetric direct aldol reaction is one of the challenges of modern organic synthesis. Unfortunately, installation of the pyruvate unit in laboratory conditions is quite problematic.

The aim of this short review was to present synthetic equivalents of phosphoenolpyruvate, which over the years become more and more similar to the biosynthesis of ulosonic acids in living cells.

The first applied pyruvic acid unit was 2-acetylthiazole used as stoichiometric lithium enolate in aldol addition [9]. Next, the same research group used the phosphine derivative of 2-acetylthiazole in Wittig olefination of sugar aldehydes with subsequent stereoselective *syn* Michael addition of the benzyl oxide anion.

Another pyruvate equivalent is dimethyl acetal of pyruvic aldehyde successfully used in organocatalytic [12] and metalorganocatalytic [14] direct aldol reactions.

Nowadays sterically hindered aromatic ester of pyruvic acid is probably the best pyruvate unit. This ester was successfully used as aldol reaction donor in synthesis of two 3-deoxy-2-ulosonic acids – KDG and KDO [18]. Aryl pyruvate reacts with aldehydes to give aldol product with high efficiency and good diastereoselectivity in reaction catalyzed by chiral tertiary amines represented by *Cinchona* alkaloids. Chiral sugar aldehydes and pyruvate ester, are the building blocks that famously mimic the biological precursors of ulosonic acids.

Keywords: aldol reaction, pyruvate unit, ulosonic acids

Słowa kluczowe: reakcja aldolowa, równoważnik pirogronianu, kwasy ulozonowe

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

## 1. Skróty opisowe:

<i>ee</i>	– nadmiar enancjomeryczny (ang. <i>enantiomeric excess</i> )
eq.	– równoważnik (ang. <i>equivalent</i> )
kat.	– katalizator
MS	– sita molekularne (ang. <i>molecular sieves</i> )
RT	– temperatura pokojowa (ang. <i>room temperature</i> )

## 2. Związki chemiczne i rozpuszczalniki:

BINOL	– 1,1'-bi-2-naftol
Cys	– cysteina
DAH	– kwas 3-deoksy-D- <i>arabino</i> -hept-2-ulozonowy
DCM	– dichlorometan
DMF	– <i>N,N</i> -dimetyloformamid
DMSO	– dimetylosulfotlenek
His	– histydyna
KDG	– kwas 2-keto-3-deoksy-D-glukozonowy (3-deoksy-D- <i>erythro</i> -heks-2-ulozonowy)
KDN	– kwas 3-deoksy-D- <i>glicero</i> -D- <i>galakto</i> -non-2-ulozonowy
KDO	– kwas 3-deoksy-D- <i>manno</i> -okt-2-ulozonowy
KHMDS	– amidek bis(trimetylosililu) potasu
LDA	– diizopropylamidek litu
Lys	– lizyna
Phe	– fenyloalanina
Pro	– prolina
THF	– tetrahydrofuran
Tyr	– tyrozyna
Trp	– tryptofan

## 3. Grupy funkcyjne i zabezpieczające:

Ac	– acetyl
Ar	– aryl
Bn	– benzyl
Bu	– butyl
<i>t</i> -Bu	– <i>tert</i> -butyl
Et	– etyl
Me	– metyl
Ph	– fenyl
<i>i</i> -Pr	– izopropyl
TBDMS	– <i>t</i> -butylo-di-metylosilil
TfO	– trifluorometanosulfonian
Th	– 2-tiazoil
PG	– grupa zabezpieczająca (ang. <i>protecting group</i> )



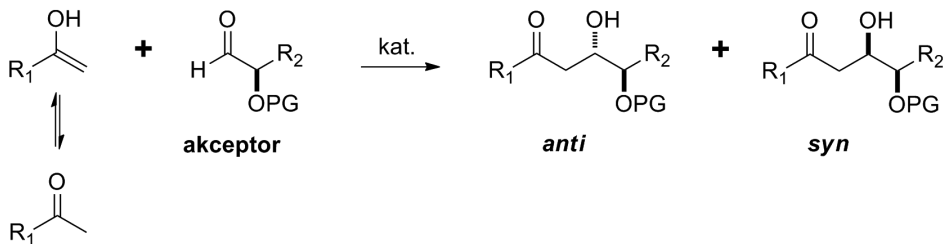
## WPROWADZENIE

Niniejszy artykuł stanowi część pracy magisterskiej o tytule „Organokatalityczna enancjo- i diastereo selektywna reakcja aldolowa estrów kwasu pirogronowego” obronionej 24 czerwca 2014 r.

Kwasy ulozonowe są ważnymi metabolitami wielu szlaków biochemicznych. Jednym z przedstawicieli kwasów ulozonowych jest DAH, który bierze udział w szlaku metabolicznym kwasu szikimowego [1], jako jeden z prekursorów biosyntezy aromatycznych aminokwasów. Drugim interesującym związkiem jest KDN znaleziony w ikrze pstrąga tęczowego [2], gdzie jego zadaniem jest ochrona zarodka na wczesnych etapach rozwoju embrionalnego [3].

Celem badań prowadzonych w ramach pracy magisterskiej była synteza pochodnych obu kwasów na drodze bezpośredniej asymetrycznej reakcji aldolowej. Substratami reakcji były chiralne cukrowe aldehydy oraz ester kwasu pirogronowego, tj. bloki budulcowe imitujące biologiczne prekursory tych związków.

Asymetryczne tworzenie wiązania węgiel-węgiel na drodze bezpośredniej reakcji aldolowej jest jednym z najważniejszych narzędzi współczesnej syntezy organicznej. W addycji aldolowej reagują ze sobą dwa związki karbonylowe, z których jeden jest nukleofilowym donorem reakcji, a drugi elektrofilowym akceptorem. Donor reaguje w postaci reaktywnej formy enolu lub enolanu. Produktem reakcji jest związek  $\beta$ -karbonylowy, posiadający nowe centrum (lub centra) stereogeniczne. W badanej reakcji możliwe jest powstanie dwóch produktów - o konfiguracji względnej *anti* lub *syn*. Schemat reakcji przedstawiono na Rysunku 1.

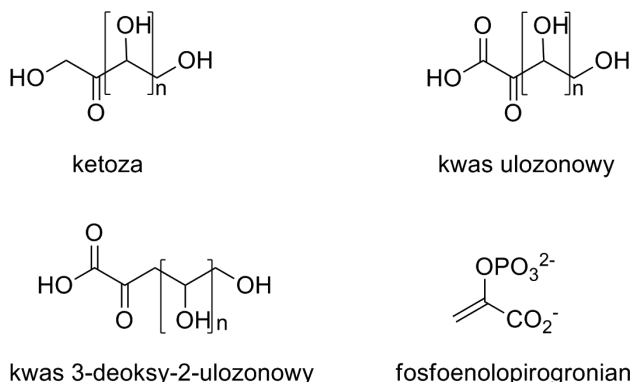


Rysunek 1. Schemat reakcji aldolowej prowadzącej do pochodnych kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych  
Figure 1. Scheme of aldol reaction leading to 3-deoxy-2-ulosonic acids derivatives

## 1. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE KWASÓW ULOZONOWYCH

Kwasy ulozonowe są istotnymi metabolitami szlaków biochemicznych. Są to analogi ketoz, w których pierwsza grupa hydroksylowa została utleniona do grupy karboksylowej. Interesującą grupą związków są kwasy 3-deoksy-2-ulozonowe, pozbawione grupy hydroksylowej przy trzecim atomie węgla, syntetyzowane w pro-

cesach biochemicznych z pochodnej kwasu pirogronowego – fosfoenolpirogro-  
nianu. Omawiane związki przedstawiono na Rysunku 2.

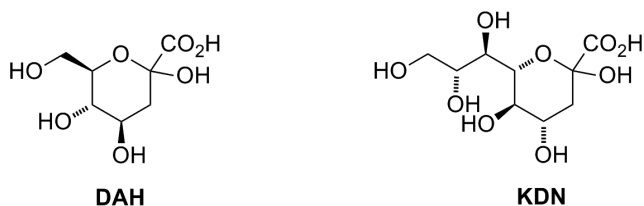


Rysunek 2. Budowa ogólna ketoz, kwasów ulozonowych, kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych oraz fosfoenolpirogrońianu

Figure 2. General structure of ketoses, ulosonic acids, 3-deoxy-2-ulosonic acids and phosphoenolpyruvate

### 1.1. WYSTĘPOWANIE ORAZ BIOSYNTETA DAH I KDN

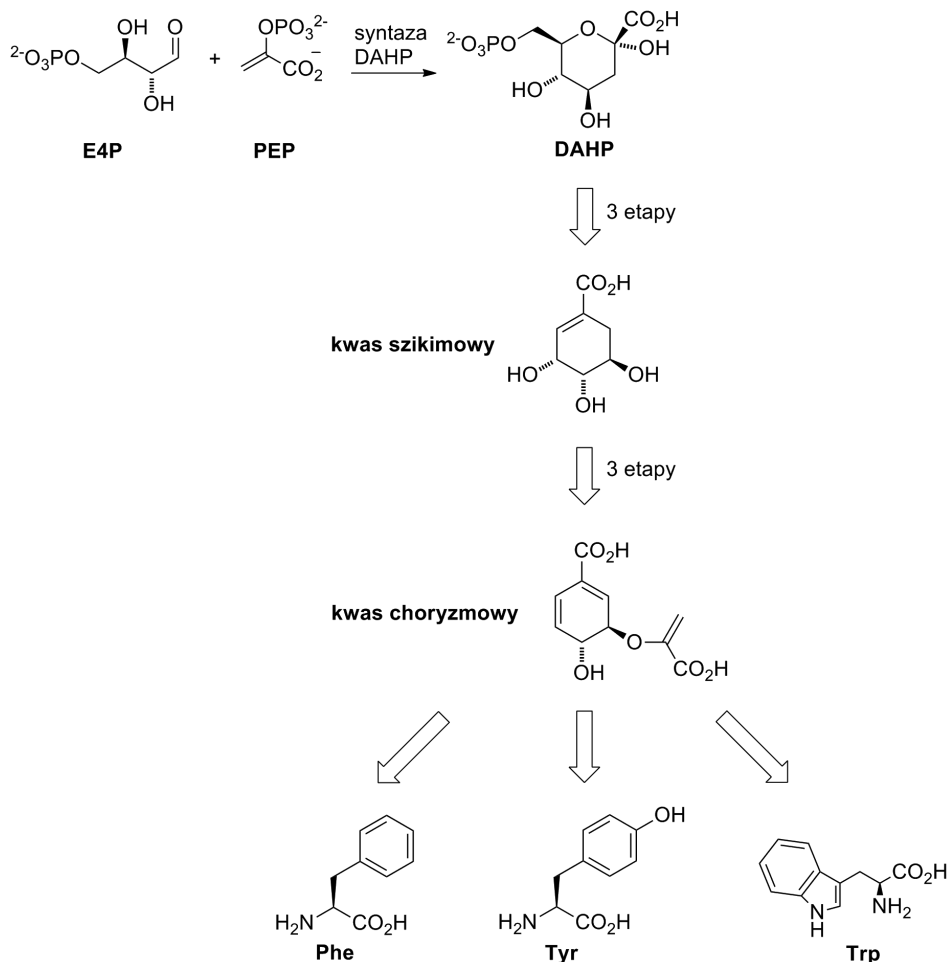
Niniejsza praca dotyczyła syntezy dwóch naturalnie występujących kwasów ulozonowych – siedmiowęglowego kwasu 3-deoksy-D-*arabino*-hept-2-ulozonowego (**DAH**) oraz dziewięciowęglowego kwasu 3-deoksy-D-*glicero*-D-*galakto*-non-2-ulozonowego (**KDN**) – przedstawionych na Rysunku 3.



Rysunek 3. Struktury DAH i KDN

Figure 3. DAH and KDN structure

**DAH** bierze udział w biosyntezie aminokwasów aromatycznych przez rośliny i mikroorganizmy – jego fosforan jest pierwszym produktem w szlaku metabolicznym kwasu szikimowego. Szlak ten zaczyna się od dwóch cukrowych prekursorów: fosfoenolpirogrońianu (**PEP**) i fosforanu-4 D-erytrozy (**E4P**), które ulegają reakcji aldolowej z utworzeniem fosforanu kwasu 3-deoksy-D-*arabino*-hept-2-ulozonowego (**DAHP**). Reakcję katalizuje enzym syntaza DAHP (EC 2.5.1.54). W kolejnych przemianach enzymatycznych powstaje **kwas szikimowy**, który ulega dalszym przekształceniom do **kwasu choryzmowego**, będącego substratem końcowych szlaków prowadzących do poszczególnych aromatycznych aminokwasów (Rys. 4) [1].



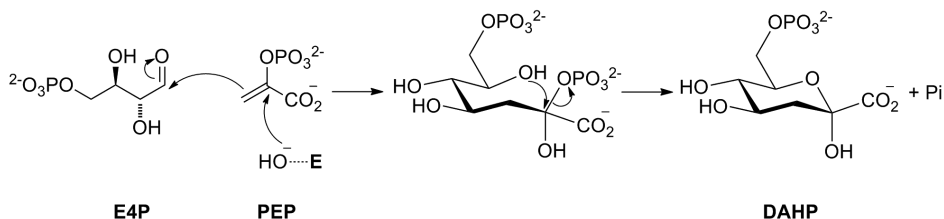
Rysunek 4. Ogólny schemat szlaku kwasu szikimowego [1]

Figure 4. General scheme of shikimic acid pathway [1]

Syntazy DAHP to białka tetrameryczne. Podjednostka prokariotycznej syntazy DAHP zbudowana jest z około 350 aminokwasów, natomiast enzym roślinny jest większy, rzędu 525 aminokwasów na podjednostkę [1]. Pomimo znacznych różnic strukturalnych wszystkie syntazy DAHP w swoim centrum aktywnym posiadają jon metalu na drugim stopniu utlenienia np.  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  lub  $Ca^{2+}$ , niezbędny do funkcjonowania enzymu. Pojedynczy jon metalu jest związany z każdą podjednostką enzymu, część miejsc wiążących zidentyfikowano jako motyw Cys-X-X-His. Preferowanym kofaktorem *in vivo* jest najprawdopodobniej  $Zn^{2+}$  [1, 4].

Proponowany mechanizm aktywacji substratu (Rys. 5) polega na nukleofilowym ataku cząsteczki wody na atom węgla C2 fosfoenolpirogronianu, w wyniku czego elektrony wiązania podwójnego enolanu ulegają przesunięciu atakując karbo-

nylowy atom węgla **E4P**. W dalszym etapie następuje cyklizacja, której towarzyszy odłączenie nieorganicznego fosforanu i utworzenie **DAHP**.



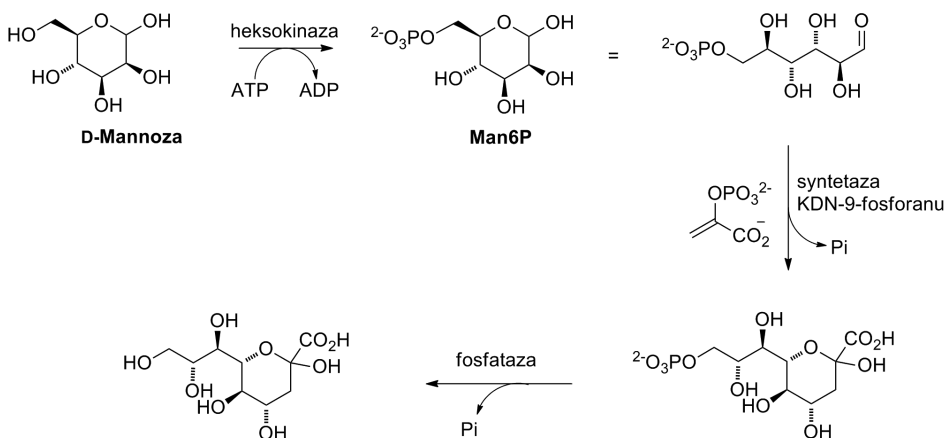
Rysunek 5. Sugerowany mechanizm biosyntezy DAHP [5]

Figure 5. The suggested mechanism for the biosynthesis of DAHP [5]

Rola jonu metalu w mechanizmie nie jest do końca poznana. Najprawdopodobniej ma on poprzez koordynację ułożyć w odpowiedniej geometrii łańcuchy boczne aminokwasów w centrum aktywnym – Cys-61 i His-268 – odpowiedzialnych za aktywację cząsteczki wody jako nukleofila poprzez jej koordynację [5].

**KDN** został wyizolowany w 1978 roku z polisialoglikoproteiny (PSPG) ikry pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri*) [2]. Tworzy on nieredukowalną sekwencję na końcu PSPG, której zadaniem jest ochrona przed egzosialidazami, na wczesnych etapach rozwoju zarodkowego [3].

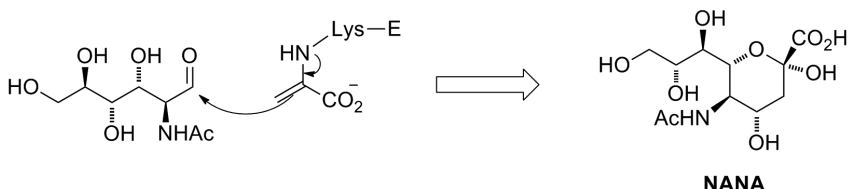
Biosynteza KDN składa się z trzech przemian. Pierwszy etap polega na ufosforylowaniu D-mannozy do fosforanu-6 mannozy (**Man6P**), reakcja ta katalizowana jest przez enzym heksokinazę. Następnie Man6P ulega reakcji aldolowej, katalizowanej przez syntetazę KDN-9-fosforanu, w wyniku czego powstaje fosforan-9 KDN (**KDN9P**). Ostatnim etapem jest defosforylacja katalizowana przez fosfatazę, prowadząca do KDN [6]. Schemat biosyntezy przedstawiono na Rysunku 6.



Rysunek 6. Biosynteza KDN

Figure 6. Biosynthesis of KDN

Dokładny mechanizm reakcji Man6P i PEP nie został jeszcze poznany, nie jest również znana struktura krystaliczna katalizującej reakcję syntetazy KDN-9-fosforanu. Wydaje się prawdopodobne, iż mechanizm jest analogiczny jak w przypadku aldolazy kwasu *N*-acetylneuraminowego (NeuA). KDN jest deaminowaną pochodną kwasu *N*-acetylneuraminowego, stąd można przypuszczać, iż mechanizm jego biosyntezy będzie podobny. NeuA jako aldolaza klasy I przekształca pirogronian będący donorem reakcji aldolowej w reaktywną enaminę, połączoną z enzymem poprzez lizynę w centrum aktywnym (Rys. 7) [7, 8].

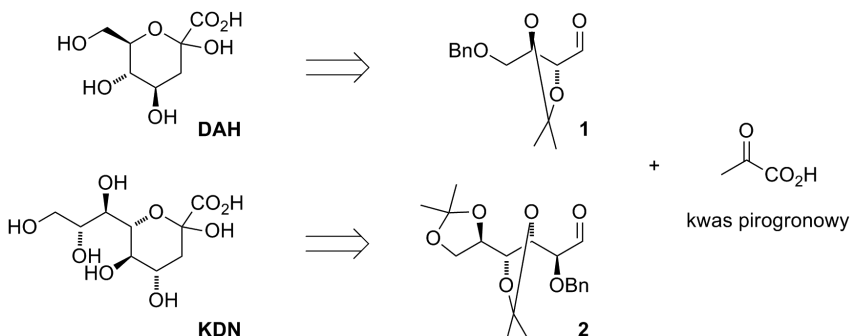


Rysunek 7. Mechanizm biosyntezy kwasu *N*-acetylneuraminowego (NANA)

Figure 7. Mechanism for the biosynthesis of *N*-acetylneuraminic acid (NANA)

## 1.2. ANALIZA RETROSYNTEZYCZNA DAH I KDN

Jak to często bywa we współczesnej syntezie organicznej i tym razem inspiracja pochodziła z natury. Celem podjętych badań było naśladowanie biosyntezy DAH i KDN w laboratorium chemicznym, jednak bez udziału drogich i trudnych w pracy enzymów. Jako akceptory reakcji aldolowej wybrano, dwa monosacharydy – *D*-erytrozę i *D*-mannozę, analogicznie jak w biosyntezie. Związki te odpowiednio zabezpieczono w celu ograniczenia reakcji ubocznych, otrzymując aldehydy **1** i **2**. Najbardziej problematycznym elementem syntezy kwasów ulozonowych jest cząsteczka donora - pirogronianu, która okazała się bardzo wymagającym substratem w bezpośredniej reakcji aldolowej. Problem ten zostanie omówiony w kolejnych podrozdziałach. Poniżej przedstawiono schemat retrosyntezy DAH i KDN (Rys. 8).



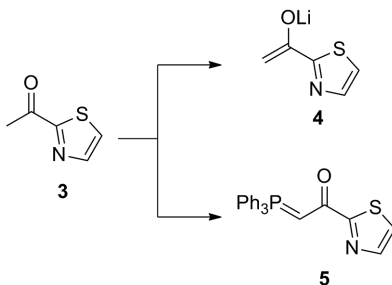
Rysunek 8. Analiza retrosyntezy DAH i KDN

Figure 8. Retrosynthetic analysis of DAH and KDN

## 2. RÓWNOWAŻNIKI FOSFOENOLOPIROGRONIANU W SYNTEZIE KWASÓW ULOZONOWYCH

### 2.1. POCHODNE TIAZOLU

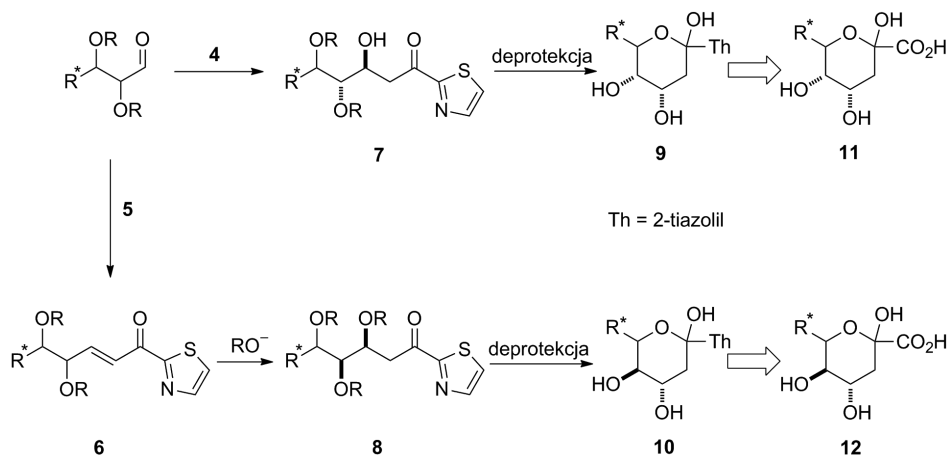
Z końcem XX w. zastosowano podstawione pochodne tiazolu **4** i **5** (Rys. 9) w syntezie kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych [9]. Pierścień tiazolowy jest prekursorem grupy formylowej, która może zostać łatwo utleniona do grupy karboksylowej.



Rysunek 9. „Tiazolowe” równoważniki pirogronianu  
Figure 9. The thiazole equivalents of pyruvate

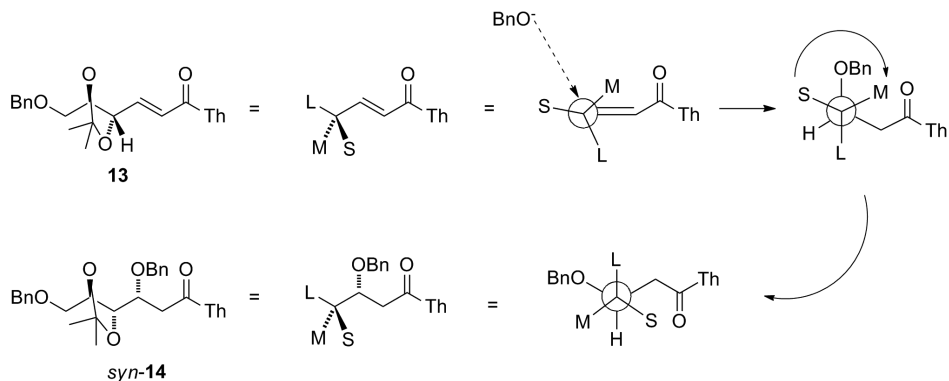
2-Acetylotiazol **3**, zastosowano jako donor w reakcji aldolowej z aldozami, przekształcając go stechiometrycznie w enolan litu **4**. Reakcja cechowała się wysoką *anti*-selektywnością, zgodnie z modelem Felkina-Ahna, co było korzystne w syntezie kwasu 3-deoksy-D-rybo-hept-2-ulozonowego z D-erytrozy, jednak zupełnie zawiodło w syntezie jego C4 epimeru (DAH) z tej samej tetrozy. Również otrzymanie istotnego biologicznie KDN tą metodą okazało się niemożliwe, gdyż jego synteza wymaga addycji preferującej konfigurację *syn* produktu.

Odwrócenie selektywności na korzyść produktu *syn* udało się osiągnąć poprzez sekwencję dwóch reakcji. Pierwszy etap to olefinacja Wittiga z użyciem fosfinowej pochodnej tiazolu, **5**. Produktem jest (*E*)- $\alpha,\beta$ -enon **6**, który dalej poddawany jest stereoselektywnej addycji Michaela z anionem alkoholowym (Rys. 10). Addukty **7**, **8** poddawano następnie cyklizacji (związki **9**, **10**) i przekształceniom pierścienia tiazolowego do grupy karboksylowej (**11**, **12**). Reakcje z użyciem obu tiazolowych odpowiedników pirogronianu przedstawiono na Rysunku 10.



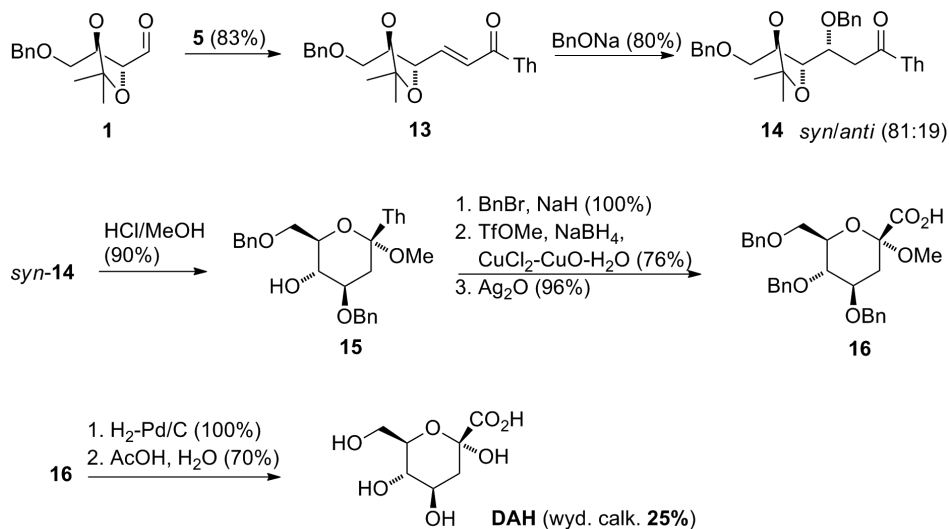
Rysunek 10. Tiazolowe równoważniki pirogronianu w syntezie kwasów ulozonowych  
 Figure 10. Thiazole equivalents of pyruvate in synthesis of ulosonic acids

W tym miejscu należałoby wytłumaczyć przyczynę *syn* selektywności sprzężonej addycji anionu benzyłanowego. Przedstawiony poniżej model (Rys. 11) jest rozszerzeniem modelu stanu przejściowego Felkina-Ahna addycji nukleofilowej [9, 10]. Największy  $\alpha$  podstawnik (L) jest zorientowany antiperiplanarnie do trajektorii ataku nukleofila, podstawnik średniej wielkości (M) w pobliżu wiązania podwójnego, natomiast najmniejszy podstawnik (S), w tym przypadku proton, lokuje się na zewnątrz, z dala od załoczenia, ale najbliżej trajektorii ataku nukleofila. Wysoka diastereoselektywność *syn* jest wynikiem asymetrycznej indukcji przez centrum stereogeniczne w bezpośrednim sąsiedztwie wiązania nienasyconego [10].



Rysunek 11. Wytłumaczenie stereoselektywności addycji Michaela  
 Figure 11. Explanation for the stereoselectivity of Michael addition

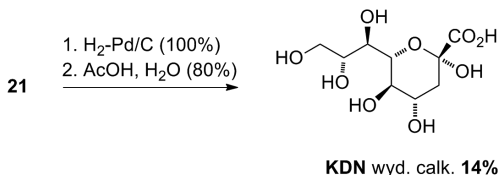
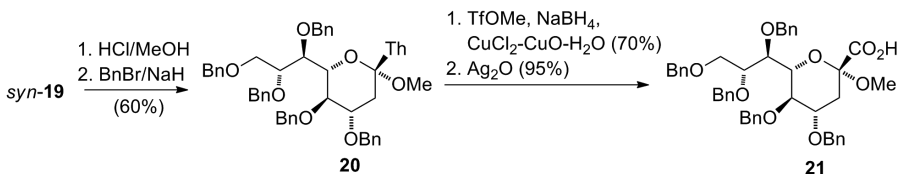
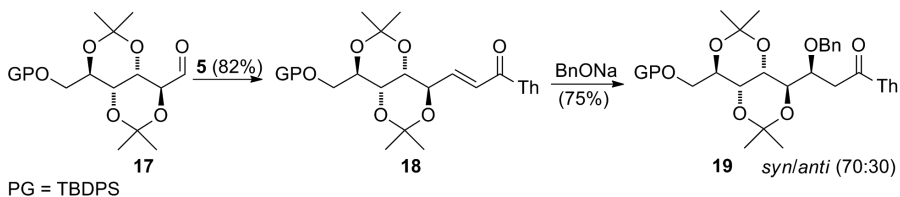
Stosując opracowaną metodę przeprowadzono syntezę totalną DAH z zabezpieczonej erytrozy **1** i związku **5**. Powstały w pierwszym etapie (*E*)- $\alpha,\beta$ -enon **13** poddano stereoselektywnej addycji sprzężonej z anionem  $\text{BnO}^-$ , otrzymując w przewodzie produkt **14** o konfiguracji *syn* (*syn/anti* 81:19), który następnie w sekwencji reakcji zaprezentowanych na schemacie poniżej przekształcono w DAH z całkowitą wydajnością 25% (Rys. 12).



Rysunek 12. Synteza totalna DAH  
Figure 12. Total synthesis of DAH

Kolejnym wyzwaniem było zastosowanie opracowanej metody w syntezie wyższego kwasu ulozonowego – KDN. Przeprowadzając olefinację Wittiga *D*-mannozy **17** związkiem **5**, a następnie asymetryczną addycją Michaela wraz z następczymi reakcjami, otrzymano produkt naturalny – KDN. Schemat syntezy przedstawia Rysunek 13.



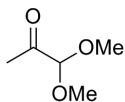


Rysunek 13. Synteza totalna KDN  
Figure 13. Total synthesis of KDN

Pomimo bardzo wysokich wydajności poszczególnych etapów syntezy, wydajności kwasów ulozonowych są niewielkie: 25% (DAH) i 14% (KDN). Spowodowane jest to długą i złożoną syntezą, na którą składają się dwuetapowe formowanie łańcucha głównego oraz dodatkowe etapy wymagane do przekształcenia pierścienia tiazolu w grupę karboksylową. Z tego powodu wciąż poszukiwana jest krótsza droga syntetyczna stosująca lepsze analogi pirogronianu.

## 2.2. ACETAL ALDEHYDU PIROGRONOWEGO - ORGANOKATALIZA

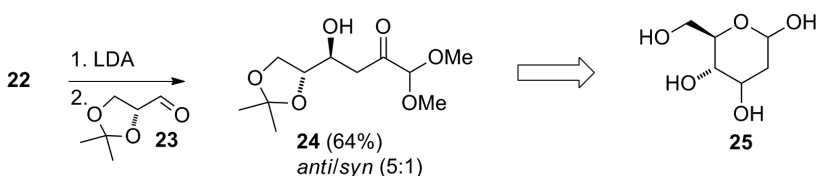
Kolejnym przykładem zamaskowanej jednostki kwasu pirogronowego jest aldehyd pirogronowy, w którym grupa formylowa została zabezpieczona w postaci dimetyloacetalu **22** (Rys. 14).



Rysunek 14. Dimetyloacetaldehyd pirogronowego

Figure 14. Dimethylacetal of pyruvic aldehyde

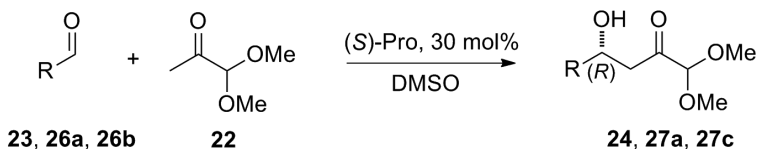
Asymetryczna reakcja aldolowa enolanu litu dimetyloacetalu aldehydu pirogronowego **22** znana jest od ponad 30 lat [11]. W reakcji z acetonidem aldehydu (*R*)-glicerynowego **23** otrzymano produkt **24** z wydajnością 64% i stosunkiem *anti/syn* około (5:1), zgodnie z przewidywaniami modelu Felkina-Ahna. Cel syntezy był jednak inny – produkt *anti*-**24** poddawano redukcji do 1,3-dioli, które przekształcano dalej do 3-deoksy-heksoz **25** (Rys. 15) [11].



Rysunek 15. Zastosowanie acetalowego równoważnika pirogronianu w syntezie 3-deoksy-heksoz

Figure 15. Application of acetal equivalent of pyruvate in synthesis of 3-deoxy-hexose

Pierwszy przykład organokatalitycznej reakcji aldolowej acetalu **22** z chiralnymi aldehydami przedstawił Enders [12]. Zastosował on prolinę i jej proste pochodne, jednak najefektywniejszy okazał się naturalny aminokwas (Rys. 16).

Rysunek 16. Schemat pierwszej organokatalitycznej reakcji aldolowej **22** z chiralnymi aldehydamiFigure 16. The first organocatalytic aldol reaction of **22** with chiral aldehydes

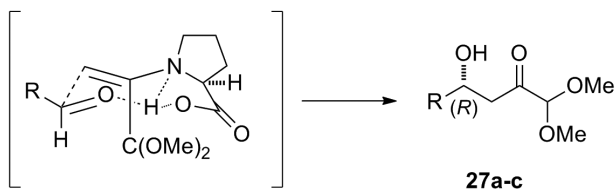
Dla grupy aldehydów otrzymano wyniki zebrane w Tabeli 1. Produkty **24** i **27a-b** otrzymano z niską wydajnością, ale za to z bardzo wysoką stereoselektywnością. D-Prolina o nienaturalnej konfiguracji (*R*) dawała lepszy rezultat pod względem wydajności w reakcji z aldehydem o konfiguracji (*R*) (wynik **27a\***), jednak nie wpływała znacząco na diastereoselektywność w stosunku do katalizy (*S*)-proliną.

Tabela 1. Wyniki reakcji acetalu **22** z chiralnymi aldehydami **23**, **26a**, **26b**  
 Table 1. The results of the reaction of acetal **22** with chiral aldehydes **23**, **26a** and **26b**

Lp.	Produkt	R	Wydajność [%]	<i>anti/syn</i>
1	<b>24</b>		38	1/21
2	<b>24*</b>		45	1/19
3	<b>27a</b>		31	19/1
4	<b>27b</b>		35	24/1

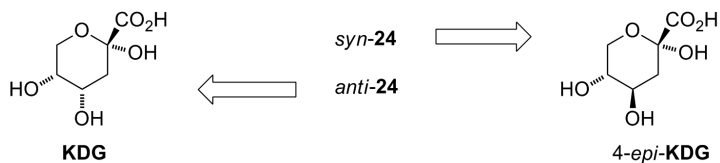
Warunki reakcji: DMSO, temperatura 4°C, czas reakcji 5–9 dni. \*użyto (R)-Proliny.

Konfiguracja (*R*) nowopowstałego centrum stereogenicznego jest wynikiem mechanizmu katalizy. Zgodnie z modelem Houka-Lista [13] w pierwszym etapie tworzy się imina będąca w równowadze z reaktywną enaminą. Aldehyd ustawia się do enaminy w sposób opisany przez model Zimmermanna-Traxlera, faworyzujący ułożenie grupy R aldehydu w pozycji „ekwatorialnej” (Rys. 17) [13].



Rysunek 17. Model stanu przejściowego katalizy (*S*)-proliną  
 Figure 17. Transition state model of (*S*)-proline catalysis

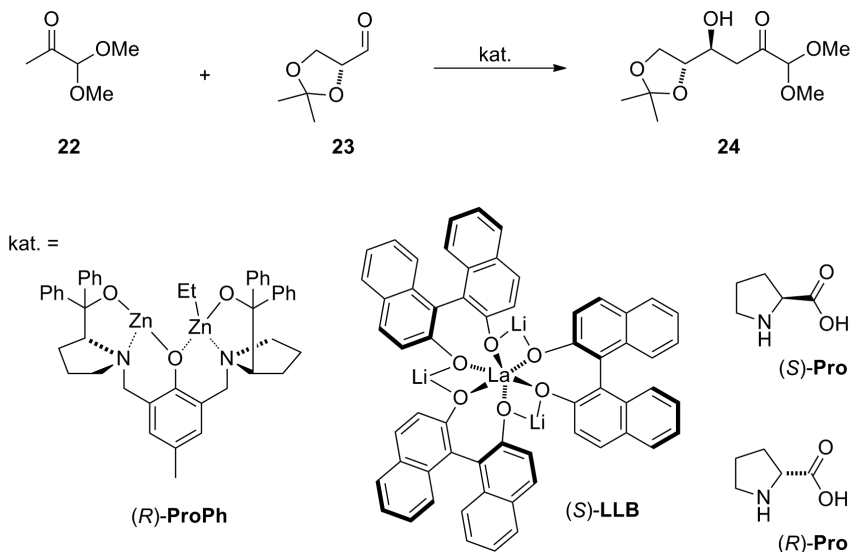
Otrzymane aldole **24** zabezpieczono przy pomocy żywicy jonowymienniej otrzymując prekursor kwasu 2-keto-3-deoksy-D-glukozonowego (KDG) i jego C4 epimeru (Rys. 18).



Rysunek 18. Produkty addycji aldolowej **24** jako prekursorzy KDG i 4-*epi*-KDG  
 Figure 18. Aldol addition products **24** as precursors of KDG and 4-*epi*-KDG

### 2.3. ACETAL ALDEHYDU PIROGRONOWEGO, 2-ACETYLOTIAZOL – KATALIZA METALOORGANICZNA

Bazując na wynikach Endersa [12], założono [14], że bezpośrednią reakcją aldolową donora **22** z chiralnymi cukrowymi aldehydami można przeprowadzić również z pomocą chiralnych kompleksów metali, które miałyby naśladować aldolazy typu II. Jako modelowy akceptor reakcji aldolowej wybrano ponownie aldehyd **23**, a jako katalizatory kompleksy cynku z ligandami (*R,R*)- i (*S,S*)-Profenolu, imitujące enzymy, oraz bimetaliczny katalizator na bazie BINOLu (**LLB**) (Rys. 19). Dla porównania wyników przeprowadzono również reakcje organokatalityczne z użyciem proliny.



Rysunek 19. Schemat reakcji oraz zastosowane katalizatory  
 Figure 19. Reaction scheme and applied catalysts

Autorom badań nie udało się powtórzyć tak dobrych wyników dla proliny, pomimo zastosowania identycznych warunków jak w przypadku prac Endersa [12]. Oba enancjomery proliny dawały jedynie śladowe ilości produktu **24** oraz wyraźnie

słabszą diastereo selekcję. W dodatku w reakcji katalizowanej (*S*)-proliną zaobserwowano całkowite odwrócenie stereoselektywności na korzyść produktu *syn* [14].

Jako główny produkt reakcji aldolowej aktywowanej organokatalizatorami otrzymywano produkt dehydratacji, co zniechęciło autorów i skierowało ich uwagę na obiecującą katalizę organometaliczną.

W reakcji aldehydu **23** z donorem **22** katalizowanej przez (*R*)- i (*S*)-**ProPh** uzyskano wysokie wydajności adduktu **24** przy przeciętnym stosunku *anti/syn*, przy czym oba parametry były nieco lepsze dla enancjomeru (*R*) katalizatora. Najlepsze rezultaty osiągnięto stosując (*S*)-LLB. Stosunek *anti/syn* (7:1) udało się poprawić na (13:1) przy obniżeniu temperatury, bez znacznej utraty wydajności. Wyniki zamieszczono w Tabeli 2.

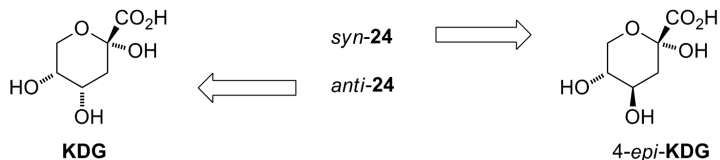
Tabela 2. Wyniki reakcji acetalu **22** z aldehydem (*R*)-glicerynowym **23**  
Table 2. The results of the reaction of acetal **22** with (*R*)-glyceraldehyde **23**

Lp.	Kat. (mol%)	Temp. [°C]	Wydajność [%]	<i>anti/syn</i>
1	( <i>R</i> )- <b>Pro</b> (30)	4	8	4/1
2	( <i>S</i> )- <b>Pro</b> (30)	4	4	1/4
3	( <i>R</i> )- <b>ProPh</b> (10)	RT	56	3/1
4	( <i>S</i> )- <b>ProPh</b> (10)	RT	49	2,5/1
5	( <i>R</i> )- <b>LLB</b> (10)	RT	45	2/1
6	( <i>S</i> )- <b>LLB</b> (10)	RT	45	7/1
7	( <i>S</i> )- <b>LLB</b> (10)	0	40	13/1

Warunki reakcji: Lp. 1-2 DMSO, 5 d, stosunek **23/22** (1:5); Lp. 3-4 DMF, 36 h, stosunek **23/22** (1:1.5); Lp. 5-6 THF, 8 h, stosunek **23/22** (1:1), dodatek KHMDS (10 mol%); Lp. 7 THF, 24 h, stosunek **23/22** (1:1), dodatek KHMDS (10 mol%).

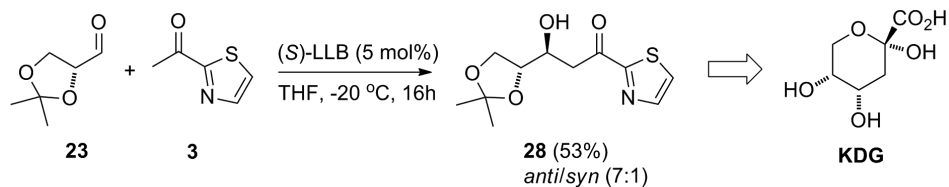
Stosunek *anti/syn* określono na widmie <sup>1</sup>H NMR.

Oba epimeryczne aldole **24** po odbezpieczeniu kwaśną żywicą jonowymienną dały prekursorzy KDG i 4-*epi*-KDG (Rys. 20)



Rysunek 20. Aldole **24** jako prekursorzy KDG i 4-*epi*-KDG  
Figure 20. Aldols **24** as precursors of KDG and 4-*epi*-KDG

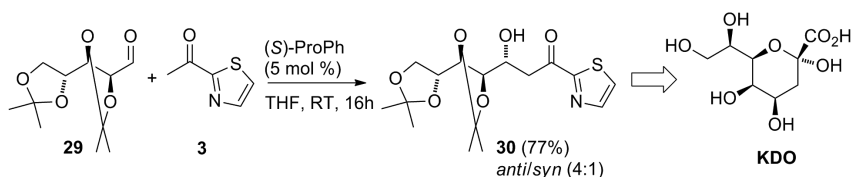
Kolejnym krokiem było zastosowanie chiralnych kompleksów metali w bezpośredniej reakcji aldolowej 2-acetylotiazolu **3**, stosowanego już wcześniej przez Dondoniego [9] w postaci enolanu litu **4**. Już 5 mol% (*S*)-LLB wystarczyło do otrzymania aldolu **28** z dobrą wydajnością i wysokim nadmiarem diastereoisomerycznym *anti/syn* (7:1). Otrzymany diastereoisomer *anti* jest bezpośrednim prekursorem KDG (Rys. 21).



Rysunek 21. Synteza prekursora KDG

Figure 21. Synthesis of KDG precursor

Uniwersalność metody sprawdzono również w syntezie wyższego kwasu ulozonowego. W reakcji z *D-arabinozą* **29** katalizowanej przez (S)-ProPh otrzymano produkt **30** z bardzo dobrą wydajnością (77%) i dobrą diastereo selektywnością (*anti/syn* 4:1). *anti*-Oktoza **30** w kilku prostych etapach [9] prowadzi do produktu naturalnego – kwasu 3-deoksy-*D-manno*-okt-2-ulozonowego (KDO) (Rys. 22).

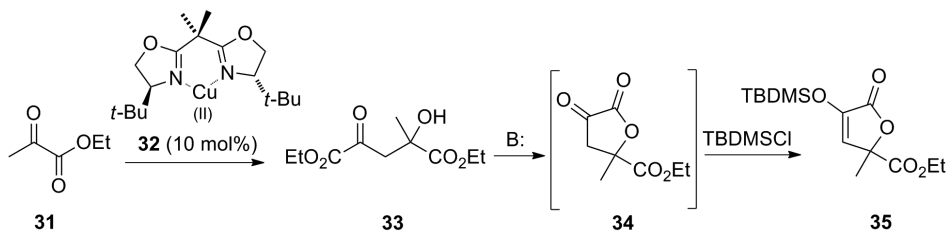


Rysunek 22. Synteza prekursora KDO

Figure 22. Synthesis of KDO precursor

## 2.4. PIROGRONIAN ETYLU

Bezspornie najprostszą drogą syntezy kwasów ulozonowych byłaby bezpośrednia reakcja kwasu pirogronowego lub jego estru. Po raz pierwszy estry kwasu pirogronowego w reakcji aldolowej zastosował Jørgensen w 2004 roku [15]. Jego zespół opracował enancjoselektywną reakcję homoaldolową pirogronianu etylu **31** katalizowaną przez chiralne bisoksazolinowe kompleksy miedzi(II) **32**. Addukt **33** okazał się niestabilny. Pod wpływem zasady cyklizował do laktonu **34**, który zabezpieczano eterem silylowym jako trwałą pochodną kwasu izotetronowego **35** (Rys. 23).

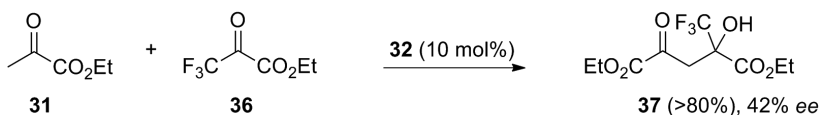


Rysunek 23. Reakcja homoaldolowa pirogronianu etylu

Figure 23. Homo-aldol reaction of ethyl pyruvate

Reakcje prowadzono z dodatkiem amin (*N,N*-dimetyloaniliny lub *N,N*-dibenzylloaniliny) w ilości katalitycznej (1–20 mol%) otrzymując do 96% *ee* enancjomeru (*S*)-35, przy wydajności reakcji powyżej 80%.

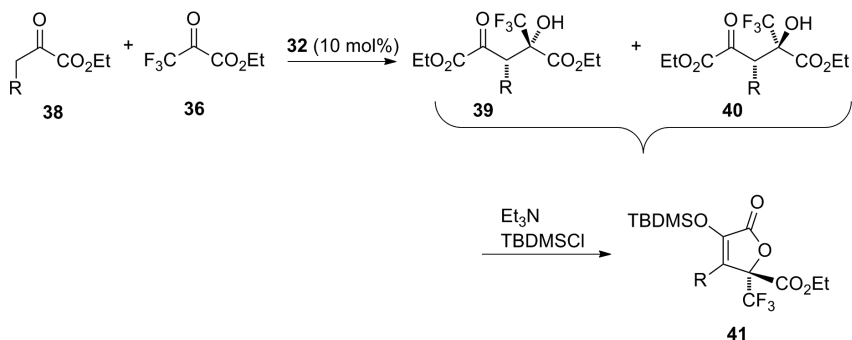
Kolejnym krokiem było rozszerzenie zastosowania estru kwasu pirogronowego na krzyżową reakcję aldolową. Donorem reakcji pozostawiono poprzednio używany pirogronian 31, a jako akceptor zastosowano nieenolizowalny i silnie elektrofilowy trifluoropirogronian etylu 36 (Rys. 24). Produkt 37 otrzymano z wysoką wydajnością (>80%), lecz przeciętną enancjoselektywnością (42% *ee*), którą tylko nieznacznie udało się poprawić obniżeniem temperatury i dodatkiem wspomnianych wcześniej amin, jednak tracąc przy tym znacznie na stopniu konwersji.



Rysunek 24. Krzyżowa reakcja aldolowa estrów kwasu pirogronowego

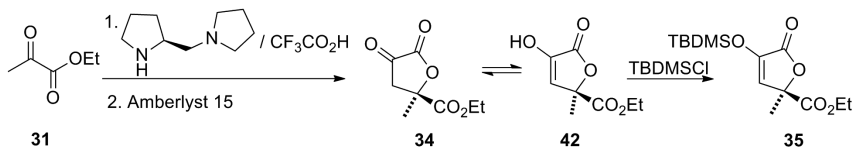
Figure 24. Cross-aldol reaction of pyruvic acid esters

Ta sama grupa badawcza opracowała również krzyżową reakcję aldolową pirogronianów w wariancie diastereoselektywnym. W reakcji pomiędzy akceptorem 36 i podstawionymi 2-ketoestrami 38 otrzymano addukty (39, 40) ze słabą diastereo-selekcją (1.1/1 do 1.8/1) oraz wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (69–93% *ee*). Produkty te były dalej przekształcane w aktywne optycznie pochodne kwasu izotetronowego 41 (Rys. 25).



Rysunek 25. Diastereo selektywna krzyżowa reakcja aldolowa pochodnych kwasu pirogronowego  
 Figure 25. Diastereoselective cross-aldol reaction of pyruvic acid derivatives

Organokatalityczną wersję bezpośredniej reakcji homoaldolowej pirogronianu etylu opracował Dondoni [16]. Stosując katalizator na bazie piperolidyny i kwasu trifluoroctowego otrzymał pochodną kwasu izotetronowego **42** z wolną grupą hydroksylową, którą następnie zabezpieczył eterem silylowym, otrzymując trwałą pochodną **35** z wydajnościami rzędu 40–60% i wysokim nadmiarem enancjometrycznym sięgającym do 88% *ee*. Schemat syntezy przedstawiono na rysunku poniżej.



Rysunek 26. Organokatalityczna synteza pochodnej kwasu izotetronowego  
 Figure 26. Organocatalytic synthesis of isotetronic acid derivative

## 2.5. PIROGRONIAN ARYLOWY

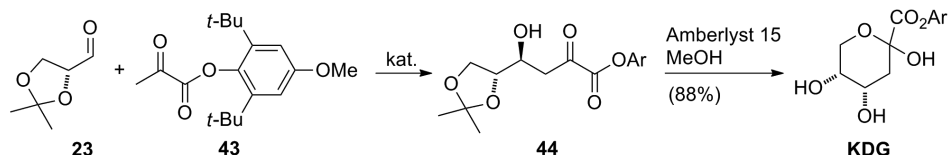
Wyzwaniem okazała się organokatalityczna reakcja aldolowa estrów pirogronowych z alifatycznymi aldehydami, która mogłaby doprowadzić do kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych, w łatwy i tani sposób, naśladując ich biosyntezę. Niestety, dotychczas reakcja aldolowa pirogronianu etylu została z sukcesem zaaplikowana jedynie dla wysoce reaktywnego aldehydu trichlorooctowego [17]. Prawdopodobnie trwałość alifatycznych estrów kwasu pirogronowego jest wystarczająca dla silnych elektrofilów, natomiast mniej reaktywne aldehydy wymagają stabilniejszej formy enolowej donora [18].

Większą stabilność formy enolowej otrzymano poprzez zwiększenie zatłoczenia sterycznego grupy estrowej. Przetestowano ester *t*-butylový, fenylový i *p*-metoksyfenylový, jednak bez większego powodzenia. Sukcesem okazało się zastosowanie estru 2,6-di-*t*-butylo-4-metoksyfenylového **43**, którego zatłoczenie przestrzenne



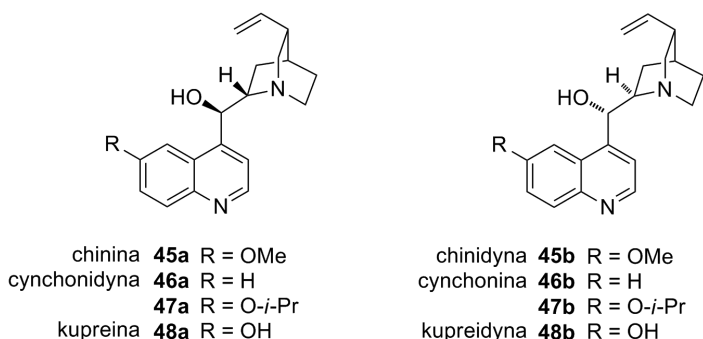
wymusza odpowiednią orientację substratów względem siebie oraz utrudnia reakcję homoaldolową donora, a grupa *p*-metoksyłowa dostarcza elektrony do pierścienia, co aktywuje ugrupowanie  $\alpha$ -ketonowe ułatwiając jego enolizację [18].

Pirogronian **43** poddano reakcji aldolowej z acetonidem aldehydu (*R*)-glicerynowego **23**, katalizowanej przez (*S*)- i (*R*)-ProPh, otrzymując pożądany produkt **44** z dobrą diastereo selektywnością (3:1, 8:1), faworyzującą izomer *anti*. Stereoselektywność reakcji udało się znacznie poprawić (16:1) stosując (*S*)-LLB oraz obniżając temperaturę z pokojowej do  $-20^{\circ}\text{C}$ . Schemat reakcji przedstawiono poniżej.



Rysunek 27. Schemat reakcji pirogronianu aryłowego **43** z aldehydem (*R*)-glicerynowym **23**  
Figure 27. Reaction of aryl pyruvate **43** with (*R*)-glyceraldehyde

W reakcji przetestowano również chiralne aminy trzeciorzędowe tj. alkaloidy kory drzewa chinowego. Alkaloidy te można podzielić na dwie grupy, będące względem siebie diastereoizomerami. Centra stereogeniczne w obrębie ugrupowania chinuklidyny są zawsze takie same, natomiast pozostałe dwa centra zaznaczone na Rysunku 28 są w obu grupach odbiciami lustrzanymi, z tego powodu diastereoizomery te czasem nazywane są *pseudoenancjomerami*.



Rysunek 28. Alkaloidy kory drzewa chinowego oraz ich pochodne  
Figure 28. *Cinchona* alkaloids and their derivatives

Spośród alkaloidów najlepszy rezultat otrzymano dla chininy **45a** i jej izopropylowej pochodnej **47a**. Wyniki przedstawiono w Tabeli 3.

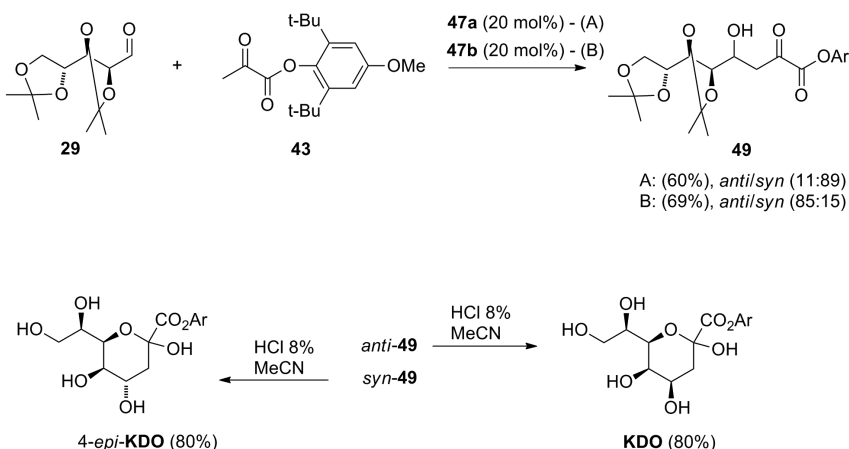
Tabela 3. Wyniki reakcji pirogronianu **43** z aldehydem (*R*)-glicerynowym **23**  
 Table 3. The results of the reaction of pyruvate **43** with (*R*)-glyceraldehyde **23**

Nr	Kat. (mol%)	Wydajność [%]	<i>anti/syn</i>
1	( <i>S</i> )- <b>ProPh</b> (5)	62	3/1
2	( <i>R</i> )- <b>ProPh</b> (5)	62	8/1
3	( <i>S</i> )- <b>LLB</b> (5)	81	16/1
4	( <i>R</i> )- <b>LLB</b> (5)	81	4/1
5	<b>45a</b> (20)	75	7/1
6	<b>45b</b> (20)	61	1/1
7	<b>46a</b> (20)	31	5/1
8	<b>46b</b> (20)	31	2/1
9	<b>47a</b> (20)	80	16/1
10	<b>47b</b> (20)	59	1/1.5
11	<b>48a</b> (20)	51	1.5/1
12	<b>48b</b> (20)	62	6/1

Warunki reakcji: Stosunek **23/43** (1:1); Lp. 1–4 THF, 12 h; Lp. 5–12 CHCl<sub>3</sub>, 48 h.  
 Stosunek *anti/syn* określono na widmie <sup>1</sup>H NMR.

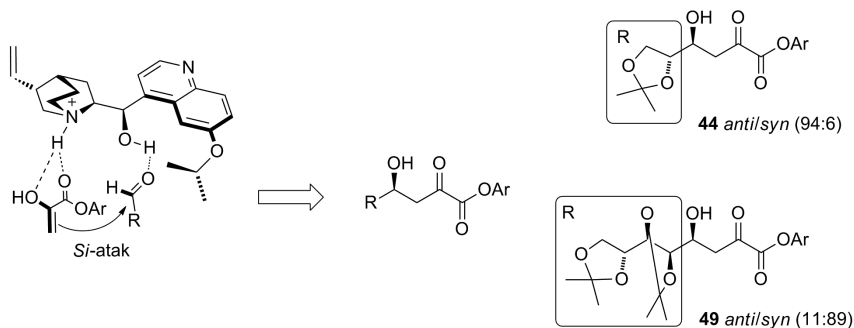
Deprotekcja aldolu *anti* pozwoliła otrzymać pożądaný ester KDG (Rys. 27).

W następnej kolejności opracowaną metodę zastosowano w asymetrycznej syntezie wyższego kwasu ulozonowego – ośmiowęglowego KDO. Wychodząc z diacetonidu *D*-arabinozy **29** i pirogronianu **43** otrzymano aldol **49**, w reakcji katalizowanej przez **47a**, z wysoką wydajnością (60%) i stosunkiem *syn/anti* (89:11), otrzymując prekursor 4-*epi*-KDO. Produkt o pożądaney konfiguracji uzyskano odwracając stereoselektywność na korzyść aldolu *anti*, zmieniając katalizator **47a** na jego pseudoenantjomer **47b** (69%, *anti/syn* 85:15) (Rys. 29).



Rysunek 29. Schemat syntezy KDO i jego C4 epimeru  
 Figure 29. Synthesis of KDO and its C4-epimer

Aby wytłumaczyć kierunek stereoselektywności reakcji autorzy zaproponowali strukturę stanu przejściowego kompleksu substratów i katalizatora **47a** (Rys. 30). Mechanizm reakcji rozpoczyna się deprotonowaniem pirogronianu przez **47a**, po którym następuje atak enolu na elektrofilowy aldehyd. Jednak tutaj nie kończy się rola katalizatora – alkaloid poprzez sieć wiązań wodorowych tworzy asymetryczne środowisko w centrum reakcji. Grupa R aldehydu lokuje się na zewnątrz centrum katalitycznego, co powoduje przesłonięcie strony *Re* przez układ chinoliny katalizatora. Atak pirogronianu faworyzowany jest od strony *Si*, co skutkuje konfiguracją (*S*) produktu.



Rysunek 30. Proponowana struktura stanu przejściowego reakcji katalizowanej przez **47a**  
Figure 30. The proposed structure of the transition state of the reaction catalyzed by **47a**

Jeśli katalizator **47a** zamieniono na pseuenancjomeryczny **47b** w przypadku obu aldehydów powstawał głównie produkt o konfiguracji (*R*) nowego centrum. Alkaloid **47b** posiada przeciwną konfigurację centrów stereogenicznych przy grupie hydroksylowej i trzeciorzędowej grupie aminowej, przez co zmianie ulega geometria wiązań wodorowych stanu przejściowego. W efekcie obserwujemy odwrócenie stereoselektywności addycji aldolowej.

## UWAGI KOŃCOWE

W porównaniu z poprzednio stosowanymi [9, 12, 14] równoważnikami fosfoenolopirogronianu zastosowanie aromatycznego estru kwasu pirogronowego **43** pozwala otrzymywać pochodne kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych ze znacznie wyższą wydajnością i lepszą stereoselektywnością.

Przy zastosowaniu tych samych katalizatorów organometalicznych w porównaniu z acetalem **22** poprawiono zarówno wydajność, jak i diastereoselekcję bezpośredniej reakcji aldolowej, prowadzącej do pochodnych KDG i KDO.

Co więcej, reakcje z sukcesem przeprowadzono w warunkach organokatalizy, stosując po raz pierwszy chiralne aminy trzeciorzędowe.

Ester **43** wydaje się być obecnie najlepszym ekwiwalentem jednostki kwasu pirogronowego, z pewnością jego struktura oraz mechanizm reakcji naśladowują biosyntezę kwasów ulozonowych lepiej niż wcześniej stosowane pochodne tiazolowe i acetalowe.

### PODZIĘKOWANIE

Pragnę podziękować Profesorowi Jackowi Młynarskiemu za cierpliwość, cenne rady oraz za kierowanie moją pracą dyplomową.

Dziękuję także mgr inż. Sebastianowi Basiowi za opiekę, pomoc merytoryczną i motywację w trudnych chwilach, mgr inż. Bartoszowi Gutowi za opiekę i wsparcie oraz wszystkim pozostałym Członkom Zespołu Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej za niepowtarzalną atmosferę pracy.

### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] K. Herrmann, R. Entus, *Shikimate Pathway: Aromatic Amino Acids and Beyond, Encyclopedia of Life Sciences*, 2001, doi:10.1038/npg.els.0001315.
- [2] S. Inoue, M. Iwasaki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1978, **83**, 1018.
- [3] D. Nadano, M. Iwasaki, S. Endo, K. Kitajima, S. Inoue, Y. Inouc, *J. Biol. Chem.*, 1986, **261**, 11550.
- [4] C.M. Stephens, R. Bauerle, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 20810.
- [5] C. Furdui, L. Zhou, R.W. Woodard, K.S. Anderson, *J. Biol. Chem.*, 2004, doi: 10.1074/jbc.M404753200.
- [6] T. Angata, D. Nakata, T. Matsuda, K. Kitajima, F.A. Troy, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 22949.
- [7] B.J. Smith, M.C. Lawrence, J.A. Barbosa, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 945.
- [8] P. Clapes, J. Joglar, [w:] R. Mahrwald, *Modern Method in Stereoselective Aldol Reaction*, 2010.
- [9] A. Dondoni, A. Marra, P. Merino, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 3324.
- [10] K.N. Houk, M.N. Paddon-Row, N.G. Rondan, Y.D. Wu, F.K. Brown, D.C. Spellmeyer, J.T. Metz, Y. Li, R.J. Loncharich, *Science*, 1986, **231**, 1108.
- [11] K. Narasaka, F.-C. Pai, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 2233.
- [12] D. Enders, T. Gasperi, *Chem. Commun.*, 2007, 88.
- [13] S. Bahmanyar, K.N. Houk, H.J. Martin, B. List, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 2475.
- [14] O. El-Sepelgy, D. Schwarzer, P. Oskwarek, J. Mlynarski, *Eur. J. Org. Chem.*, 2012, 2724.
- [15] N. Gathergood, K. Juhl, T.B. Poulsen, K. Thordrup, K.A. Jørgensen, *Org. Biomol. Chem.*, 2004, **2**, 1077.
- [16] P. Dambruoso, A. Massi, A. Dondoni, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 4657.
- [17] H. Torii, K. Nakadai, S. Ishihara, S. Saito, H. Yamamoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 1983.
- [18] O. El-Sepelgy, J. Mlynarski, *Adv. Synth. Catal.*, 2013, **355**, 281.

Praca wpłynęła do Redakcji 7 lipca 2014

**WIELOWARSTWOWE FILMY POLIMEROWE  
OTRZYMYWANE METODĄ LBL  
– WARSTWA PO WARSTWIE (ANG. LAYER-BY-  
LAYER): ROZWÓJ I ZASTOSOWANIE**

MULTILAYERED POLYMER FILMS OBTAINED  
BY MEANS OF LAYER-BY-LAYER (LBL) METHOD:  
EVOLUTION AND APPLICATIONS

**Artur Jarema Wójcik**

*Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego  
ul. R. Ingardena 3, 30-060 Kraków  
e-mail: artur2.wojcik@uj.edu.pl*

Praca nagrodzona przez Krakowski Oddział PTChem

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Rozwój techniki LbL
2. Metody nanoszenia materiału polimerowego na podłoże
  - 2.1. Zanurzanie w roztworach związków osadzanych
  - 2.2. Technika „spin-assisted”
  - 2.3. Natryskiwanie powierzchni adsorbenta
3. Zastosowanie
  - 3.1. Czułe na bodźce filmy samonośne („free-standing”)
  - 3.2. Samonaprawiające się powłoki polimerowe
  - 3.3. Powłoki o dużej wytrzymałości mechanicznej
  - 3.4. Wysoce selektywne detektory gazów

Podsumowanie

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---



**Artur Jarema Wójcik** – ur. w 1993 r. w Szczecinie. Student II roku Międzywydziałowych Indywidualnych Studiów Matematyczno-Przyrodniczych (I stopnia) na Uniwersytecie Jagiellońskim; członek Zespołu Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów Wydziału Chemii UJ, w którym prowadzi pod opieką dra hab. Szczepana Zapotocznego, prof. UJ, prace badawcze dotyczące wielowarstwowych filmów polimerowych. Absolwent XIII Liceum Ogólnokształcącego w Szczecinie. Laureat i finalistą Ogólnopolskiej Olimpiady Chemicznej (2012, 2011), zdobywca Nagrody Ministra Edukacji Narodowej (2012).

---

## ABSTRACT

The production of varied materials with nanoscale precision requires both suitable components and a right method. In the past two decades, layer-by-layer (LbL) assembly has been proven to be a convenient and versatile technique for fabrication of functional films. The LbL method enables obtaining systems composed of a few or even hundreds layers of beforehand chosen substances, which are characterized by a thickness ranging from nano- to micrometers. The building blocks of LbL assembly include, but are not limited to, synthetic polymers, polymeric microgels, biomacromolecules, (nano)particles, dendritic molecules, and complexes of these species [1].

This method involves simple alternative adsorption of oppositely charged polyelectrolytes on supporting materials [2]. The LbL assembly can be driven by multiple weak interactions, including electrostatic interactions, hydrogen-bonds, halogen-bonds, coordination bonds, charge-transfer interactions, biospecific interactions (e.g., sugar-lectin interactions), cation-dipole interactions, and the combined interaction of the above forces, etc.

The multilayered composite films fabricated by means of the LbL technique have generated much interest among researchers worldwide due to the simplicity of the whole process by which they are produced and their numerous applications such as antireflection coatings, superhydrophobic surfaces, electrochromic devices, biosensors, cell adhesion or resistance coatings, drug delivery systems, proton exchange membranes, solar-energy conversion devices, and separation membranes [3].

In this *review* the evolution of the LbL method and the applications of the multilayered polymer films were discussed.

Keywords: LbL, polymer films, polyelectrolytes

Słowa kluczowe: metoda LbL – warstwa po warstwie (ang. *layer-by-layer*), filmy polimerowe, polielektrolity

---

---

## WPROWADZENIE

Szeroko stosowaną w ciągu ostatnich dwóch dekad metodę, umożliwiającą otrzymywanie kompozytowych filmów polimerowych, stanowi technika LbL – warstwa po warstwie (ang. *layer-by-layer*). Opiera się ona na naprzemiennym osadzeniu na zadanym podłożu cząsteczek dwu różnych substancji, charakteryzujących się komplementarnymi oddziaływaniami chemicznymi. Pomimo że pionierską pracą poruszającą tę tematykę był artykuł Ilera z roku 1966 [4], to z różnych względów (opisanych poniżej) została ona ponownie odkryta dopiero przez Dechera i jego współpracowników na początku lat 90. ubiegłego stulecia. Od tego okresu nastąpił niebywały rozwój na polu LbL, obejmujący zarówno sam sposób konstruowania wielowarstwowych układów polimerowych, jak i liczbę oraz rodzaj związków wykorzystywanych w tym celu.

Sposób budowania wielopoziomowych układów opiera się głównie na występowaniu pomiędzy kolejnymi warstwami substancji różnorodnych oddziaływań międzycząsteczkowych, obejmujących oddziaływania elektrostatyczne, wiązania: wodorowe, halogenowe, koordynacyjne, oddziaływania typu CT, związane z przeniesieniem ładunku (ang. *charge transfer*), oddziaływania biospecyficzne (np. w układzie cukier-lektyna), bądź wybrane kombinacje sił powyżej wymienionych. Natomiast do grona swoistych „bloków budulcowych” w metodzie LbL zalicza się: polimery syntetyczne, mikrożele polimerowe, biomakromolekuły, dendrymery, nanocząstki organiczne i nieorganiczne, kompleksy wspomnianych substancji oraz wiele innych [1].

Proces produkcji filmu kompozytowego przy zastosowaniu techniki LbL jest wręcz banalnie prosty (w podstawowej wersji nie wymaga niczego poza tryskawką, dwoma zlewkami oraz pensetą), co obok gwarancji dokładnej kontroli grubości otrzymywanych układów stanowi główną zaletę opisywanej metody. W jednej z jej pierwszych, lecz nadal powszechnie stosowanych odmian, stałe podłoże (np. płytkę krzemową pokrytą cienką warstwą  $\text{SiO}_2$ ) zanurza się kolejno w roztworach polimerów na określony czas (zwykle 5–10 min.), przemywając je każdorazowo przed przeniesieniem do kolejnego roztworu rozpuszczalnikiem i susząc w strumieniu obojętnego gazu (z reguły azotu). Liczba wykonanych zanurzeń determinuje liczbę adsorbowanych warstw polimerów. Kontrolę nad składem, grubością pojedynczej warstwy, topografią powierzchni czy stopniem mieszania się poszczególnych poziomów można sprawować przez właściwe ustalanie parametrów przebiegu całości procesu, takich jak: temperatura, siła jonowa, stężenia składników, bądź też pH poszczególnych roztworów.

W porównaniu do innych technik otrzymywania wielowarstwowych filmów LbL wykazuje dwie podstawowe zalety: (i) pozwala na precyzyjną kontrolę składu chemicznego oraz architektury układu, a ponadto (ii) przy jej pomocy można pokryć wybranym materiałem zarówno powierzchnie płaskie, jak i te o bardziej skomplikowanej topografii.



Filmy uzyskane przy użyciu opisywanej metody znalazły zastosowania w dużej liczbie obszarów dzisiejszego życia, również tego „szarego”, codziennego. Wykorzystuje się je m.in. w powłokach antyrefleksyjnych (okulary), powłokach superhydrofobowych, urządzeniach i artykułach wykazujących elektrochromizm (światłiki itp.), biosensorach, podłożach do hodowli komórkowych, systemach do celowego dostarczania leków w organizmie, membranach umożliwiających: wymianę protonów, konwersję energii słonecznej czy rozdział mieszanin gazowych, a także w wielu innych miejscach [3], z których część została opisana poniżej.

## 1. ROZWÓJ TECHNIKI LBL

Podstawowa wersja metody LbL opiera się na osadzaniu na stałym podłożu kolejnych, odmiennie naładowanych warstw dwu różnych polimerów. Jak już wspomniano, po raz pierwszy została ona zaproponowana przez Ilera [4] i Kirklanda [5] w latach 1965–1966. Obydwie opublikowane prace dotyczyły tworzenia filmów złożonych z ujemnie naładowanych cząstek tlenku krzemu oraz dodatnio naładowanych włókienek bemitu. Jednakże z uwagi na opatentowanie techniki przez Kirklanda (w latach 1970–1984) [6, 7], a także brak odpowiednich metod badawczych, umożliwiających wykonanie szczegółowej charakterystyki procesu tworzenia wspomnianych konstrukcji, jej rozwój został czasowo zahamowany. Dopiero w ósmym dziesięcioleciu ubiegłego wieku Fromherz i in. oraz Gölander i in. donieśli o stopniowo (ang. *step-by-step*) tworzonych układach złożonych z przeciwnie naładowanych protein i polielektrolitów [8, 9]. Pomimo tego, że Fromherz nie dysponował odpowiednimi metodami pomiarowymi do zweryfikowania swojej tezy, wysunął on przypuszczenie, iż wraz z osadzaniem kolejnych warstw substancji zmienia się każdorazowo ładunek powierzchniowy całego układu. Potwierdzenia wspomnianego pomysłu dostarczyli w 1991 r. Decher i Hong, którzy jako pierwsi scharakteryzowali w pełni wzrost filmu otrzymywanego metodą LbL, zbudowanego z przeciwnie naładowanych molekuł o kształcie bolasów (ang. *bolaform*) [10] (Rys. 1).



Rysunek 1. Amfifilowa molekula w kształcie bolasów, złożona z długiego łańcucha hydrofobowego, zakończonego hydrofilowymi grupami

Figure 1. An amphiphilic bolaform molecule composed of a long hydrophobic chain ended with hydrophilic groups

Po tym wydarzeniu nastąpił gwałtowny rozwój opisywanej techniki [11], a uznanie wśród badaczy znalazła przede wszystkim idea stosowania jako materiału

budulcowego polielektrolitów. W roku 1992 Decher, Hong i Schmitt przedstawili wyniki swoich doświadczeń, obejmujących układ otrzymany z poli(4-styrenosulfonianu sodu) (PSS) i poli(winylosiarczanu potasu) (ang. *potassium poly(vinyl sulfatate)*) (PVS) jako polianionów oraz poli(jodku dietylometylowinylobezyloamoniowego) (ang. *poly[diethylmethyl(4-vinylbenzyl)ammonium iodide]*) i chlorowodoru poli(aliloaminy) (ang. *poly(allylamine hydrochloride)*) (PAH), pełniących rolę polikationów, w którym zaobserwowano liniowy wzrost grubości filmu wraz z wykonywaniem kolejnych procesów osadzania nowej porcji materiału polimerowego [12]. Rok później Lvov i in. przedstawili pełną charakterystykę systemu poli(winylo siarczan) / poli(alliloamina) [13], a Schmitt i in. udowodnili, posługując się reflektometrią neutronową, iż jego budowa jest stricte warstwowa [14]. Fakt ten miał ogromne znaczenie, ponieważ otwierał drogę do niezwykle precyzyjnej kontroli architektury produkowanych filmów. Sam mechanizm tworzenia filmów metodą LbL w jej podstawowej odmianie, tj. wysycenie ładunku powierzchniowego (ang. *charge saturation*), a także naprzemienna adsorpcja przeciwnie naładowanych polielektrolitów, został potwierdzony doświadczalnie przez Kunitake i współpracowników, którzy wykorzystali w tym celu pomiary sił powierzchniowych [15].

W latach 1993–1997 nastąpił dalszy rozwój techniki LbL. Do konstrukcji filmów zaczęto stosować glinki [16, 17], nanocząstki [18–21] oraz polimery przewodzące [22, 23]. Apogeum wzrostu popularności metoda ta uzyskała w 1997 r., gdy Decher opublikował w *Science* artykuł zatytułowany „Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites”, wprowadzający ostatecznie do świata nauki technikę LbL jako doskonały sposób otrzymywania wielowarstwowych układów, złożonych z elektrostatycznie przyciągających się cząsteczek polielektrolitów [24]. W tym przypadku postulowane oddziaływania elektrostatyczne, gwarantujące utworzenie filmów, a także towarzyszące procesowi ich produkcji inwersje ładunku powierzchniowego po nałożeniu kolejnej warstwy polimeru, znalazły potwierdzenie w wynikach pomiarów potencjału powierzchniowego  $\zeta$  [25, 26]. W roku 1998 grupa Möhwalda wykorzystwała metodę LbL do produkcji kapsuł, których jądro stanowił koloidalny lateks, usuwany po uzyskaniu satysfakcjonującej eksperymentatora wielowarstwowej powłoki [27–29].

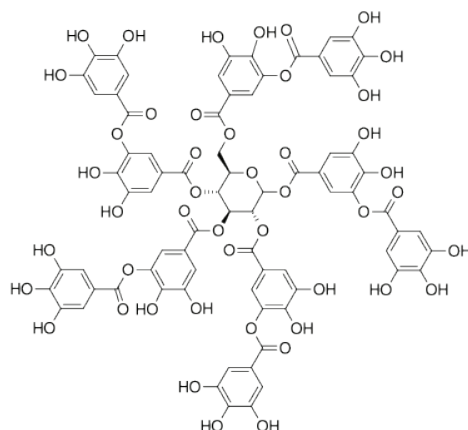
Technika „warstwa po warstwie” cieszyła się i wciąż cieszy dużą popularnością, począwszy od momentu, gdy możliwe okazało się konstruowanie układów o różnej budowie, przy wykorzystaniu rozmaitych podłoży, takich jak złoto, kwarc, krzem, szkło, german, platyna czy glina [30]. Ponadto w 1997 r. Stocton i in. oraz Wang i in. donieśli o utworzeniu metodą LbL filmu, stabilizowanego przez wiązania wodorowe [31, 32]. Ich występowanie potwierdziły badania z użyciem spektroskopii FT-IR. Z uwagi na „odwracalność” tworzenia wiązania wodorowego w zależności od pH środowiska, wspomniane układy bardzo szybko znalazły zastosowanie w wielowarstwowych filmach i kapsułach, uwalniających zgromadzone w nich substancje [33]. Niektóre pokrycia zostały również otrzymane przy wykorzystaniu: wiązań koordynacyjnych pomiędzy poli(styrenosulfonianem miedzi) a poli(4-winylopirydyną) [34] bądź zjawiska przeniesienia ładunku (ang. *charge transfer*) między poli(me-

takrylanem (9-karbazoilo)etylu) i poli(matakrylnem 2-(3,5-dinitrobenoilo)oksy)etylu) [35], o czym poinformowano w publikacjach z lat 1997–1998.

Niestety, zdecydowana większość otrzymanywanych metodą LbL układów charakteryzowała się bardzo słabymi właściwościami mechanicznymi, co utrudniało, a nawet uniemożliwiało w wielu przypadkach praktyczne wykorzystanie wielowarstwowych filmów czy kapsułów, zwłaszcza na większą skalę. Ze względu na wspomniany fakt uwaga badaczy w ciągu ostatniego dwudziestolecia skupiła się na zwiększeniu wytrzymałości opisywanych systemów poprzez wprowadzenie do ich struktury sieci kowalencyjnych wiązań [36–38], co też czyniono, z reguły na dwa sposoby: (i) późniejsze sieciowanie, po utworzeniu samego filmu, bądź (ii) przeprowadzanie reakcji każdorazowo po naniesieniu kolejnej warstwy na matrycę. Sposób (i) po raz pierwszy wykorzystał Laschewsky ze współpracownikami w roku 1997 [39], używając promieniowania UV jako czynnika zapoczątkowującego cały proces. Jednakże największą popularność zyskało wprowadzone dwa lata później przez Harrisa i in. poddawanie nałożonych już filmów obróbce termicznej [40]. Dużą ciekawość wzbudziło, począwszy od roku 2002, stosowanie przyjaznych środowisku substancji sieciujących [41]. Mniej wysiłku wymaga natomiast sposób (ii). Członkowie grupy Ringsdorfa wykorzystywali już w 1996 r. fakt tworzenia się wiązań amidowych, mocznikowych czy uretanowych do otrzymywania sieciowanych filmów stabilizowanych głównie przez oddziaływania kowalencyjne pomiędzy cząsteczkami substancji, znajdującymi się w kolejnych warstwach [42].

Od czasu, gdy tzw. „click-chemistry” zyskiwała coraz bardziej na znaczeniu, wielowarstwowe filmy polimerowe stały się potencjalną uniwersalną platformą, w której można by umieszczać cząsteczki substancji, ulegających reakcjom zaliczanym do wspomnianego rodzaju chemii. Jeden z przykładów stanowi zaproponowany w 2010 r. sposób przeprowadzenia cykloaddycji Huisgena: należy w nim użyć alkinów i azydów związanych z kwasem poliakrylowym (ang. *poly(acrylic acid)*) (PAA) w obecności roztworu skompleksowanych jonów miedzi(II), które zostają następnie poddane elektrochemicznej redukcji do aktywnej katalitycznie formy Cu(I), powstającej dzięki temu bardzo blisko substratów zaraz po przyłożeniu napięcia [43].

W roku 2013 natomiast nastąpiło zdecydowane przyspieszenie samego procesu konstruowania filmów. Przeprowadzono mianowicie jednoetapowe (ang. *one-step*) tworzenie układu, składającego się z zależnego od pH kompleksu koordynacyjnego Fe(III) (pełniącego rolę nieorganicznego czynnika sieciującego) z kwasem taninowym (będącym ligandem organicznym) (Rys. 2.), osadzanego na matrycy z polistyrenu. Zastosowanie ciągłego natrysku roztworu związku na podłoże, z pominięciem jego przemywania rozpuszczalnikiem oraz suszenia (stąd pochodzi określenie „one-step”), umożliwiło znaczące zredukowanie czasu trwania konstrukcji systemu [44].



Rysunek 2. Kwas taniowy  
Figure 2. Tannic acid

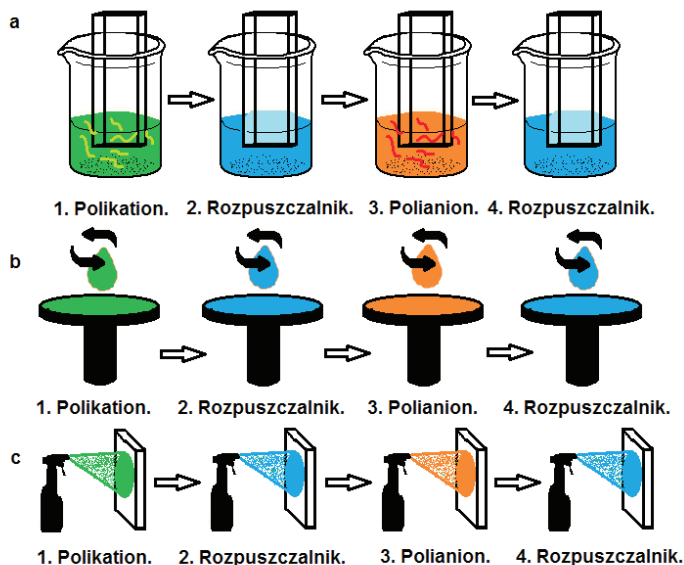
## 2. METODY NANOSZENIA MATERIAŁU POLIMEROWEGO NA PODŁOŻE

Wyróżnia się 3 podstawowe sposoby osadzania substancji z fazy ciekłej na wybranych powierzchniach stałych: „tradycyjne” zanurzenie w odpowiednich roztworach, zawierających niezbędne polimery, natryskiwanie powierzchni adsorbenta określonymi mieszaninami, a także nanoszenie analizowanych związków przy użyciu tzw. techniki „spin-assisted”. Ponadto obecnie stosuje się również połączenie spryskiwania z metodą „spin-assisted”, co wydatnie obniża czas całego procesu oraz gwarantuje uzyskanie bardziej jednorodnej powierzchni filmu w stosunku do układów otrzymywanych pozostałymi technikami.

### 2.1. ZANURZANIE W ROZTWORACH ZWIĄZKÓW OSADZANYCH

Zostało już wstępnie przedstawione we *Wprowadzeniu*. Stanowi pierwszy z wykorzystywanych dotąd sposobów. Do jego wykonania wymagane są tylko dwie zlewki, tryskawka z rozpuszczalnikiem (najczęściej wodą destylowaną) oraz szczypczyki. Polega na naprzemiennym zanurzeniu wybranego wcześniej podłoża (np. złota, ITO, płytki kwarcowej), posiadającego określony ładunek powierzchniowy, w roztworach zawierających przeciwnie naładowane związki, zwykle polielektrolity (Rys. 3a – podpunkty 1. i 3.). Pomiędzy nakładaniem kolejnych warstw substancji należy płytkę przepłukać rozpuszczalnikiem (Rys. 3a – podpunkty 2. i 4.) w celu usunięcia nadmiaru słabo już związanego substratu, a także osuszyć w strumieniu gazu obojętnego (ze względów ekonomicznych najczęściej rolę tę pełni azot). W ramach uproszczenia całej procedury i skrócenia czasu jej trwania można zrezygnować z etapu suszenia.

Metoda zanurzeniowa znajduje głównie zastosowanie w procesie produkcji ultracienkich filmów polimerowych (tzn. filmów o grubości nie przekraczającej 100 nm), ponieważ, z reguły, każda pojedyncza warstwa polimeru ma kilka nanometrów grubości, a proces jej nanoszenia może trwać od 5 do nawet kilkudziesięciu minut. Jeśli należy otrzymać np. polielektrolitowy film wielowarstwowy, stanowiący jednowymiarową matrycę kryształu fonicznego, składający w standardowych warunkach z przeszło 800 pojedynczo nakładanych warstw [45], to wówczas można posłużyć się układami polimerowymi, wykazującymi eksponencjalny wzrost grubości w zależności od liczby wykonanych zanurzeń.



Rysunek 3. Schemat procesów stosowanych do wytwarzania polielektrolitowych filmów wielowarstwowych metodą LbL. (a) Zanurzenie w roztworze. (b) Technika „spin-assisted”. (c) Spryskiwanie powierzchni adsorbenta. Filmy wielowarstwowe otrzymuje się dzięki cyklicznemu powtarzaniu kroków oznaczonych numerami 1–4

Figure 3. Schematic representation of the processes used to fabricate polyelectrolyte multilayer films by LbL assembly. (a) Dipping LbL assembly. (b) Spin assisted LbL assembly. (c) Spray-assisted LbL assembly. Multilayer films are formed by repeating steps 1 to 4 in a cyclic fashion

## 2.2. TECHNIKA „SPIN-ASSISTED”

Osadzanie warstw polimerów na wybranej powierzchni jest procesem złożonym, obejmującym takie etapy, jak dyfuzja, adsorpcja oraz reorganizacja struktury przestrzennej łańcuchów związków wielocząsteczkowych. W celu przyspieszenia przebiegu przytoczonych zjawisk została wprowadzona równoległe przez dwie grupy badawcze: Chara i współpracowników, a także Wanga i współpracowników, technika „spin-assisted” [46, 47]. Polega ona na nanoszeniu cienkiej warstwy roztworu substancji adsorbującej na płaską, wirującą dookoła własnej osi z określoną

szybkością powierzchnię adsorbentu. Jak pokazano na Rysunku 3b, film polimerowy został otrzymany przy wykorzystaniu automatycznego powlekkacza obrotowego (ang. *spin coater*). Układ warstwowy PAH/PSS został utworzony się w wyniku naprzemiennego nakładania warstw obu polimerów na kręcące się podłoże, posiadające ładunek powierzchniowy. Pomiędzy poszczególnymi krokami przemywano tworzący się film odpowiednią ilością rozpuszczalnika [46]. Zaraz po naniesieniu porcji roztworu polimeru na adsorbent uruchamiano powlekkacz obrotowy, który kręcił się z szybkością 4000 obrotów na minutę do chwili, gdy otrzymano dostatecznie wysuszoną kompozycję (trwało to  $8 \pm 15$  s). Uzyskany układ przemywano bardzo dokładnie wodą i ponownie włączano urządzenie, które pracowało do momentu osuszenia powierzchni filmu. Dla takich samych stężeń roztworów obu polimerów, wynoszących  $0,010 \text{ mol/dm}^3$  (w przeliczeniu na mer), wykazano, iż średnia grubość pojedynczej biwarstwy PAH/PSS była równa 2,4 nm. Opisujący układ posiadał gładszą powierzchnię w porównaniu do identycznego systemu, ale otrzymywanego przy użyciu „tradycyjnej”, zanurzeniowej metody LbL. Dwa kluczowe dla przebiegu całego procesu osadzania materiału z wykorzystaniem techniki „spin-assisted” parametry stanowią: stężenia наносzonych roztworów, a także szybkość wirowania powlekkacza obrotowego. Opisująca technika służy nie tylko do produkcji filmów powstających w oparciu o oddziaływania elektrostatyczne, ale również innych układów [48].

W zestawieniu z podstawową odmianą LbL, „spin-assisted” LbL cechują następujące zalety: (i) znacząco zredukowany czas produkcji filmów o grubości mikrometrów z uwagi na fakt osadzania pojedynczej warstwy w ciągu sekund, a nie, jak dotąd, minut; (ii) wytwarzanie filmów posiadających uporządkowaną strukturę wewnętrzną oraz stosunkowo gładką powierzchnię (ponieważ proces wzajemnej penetracji (ang. *interpenetration*) przez sąsiadujące ze sobą warstwy został drastycznie ograniczony); (iii) możliwość otrzymywania wielowarstwowych filmów złożonych z niepolarnych bądź pozbawionych ładunku powierzchniowego polimerów.

Naturalnie technika „spin-assisted” nie jest też pozbawiona wad, do grona których niewątpliwie zaliczają się ograniczenia w jej praktycznym użyciu, wynikające z konieczności osadzania związków wielkocząsteczkowych tylko i wyłącznie na płaskich powierzchniach adsorbentu oraz trudności z uzyskaniem w pełni jednorodnych filmów na podłożach o dużych rozmiarach, zwłaszcza przy użyciu wodnych roztworów polimerów [1].

### 2.3. SPRYSKIWANIE POWIERZCHNI ADSORBENTA

Wielowarstwowe układy polielektrolitowe mogą być również wytwarzane przez sekwencyjne rozpylanie wodnych roztworów alternatywnie naładowanych polielektrolitów na wybranych powierzchniach (ang. *spray-assisted LbL*). Pierwsze opublikowane doniesienia na ten temat pochodzą z artykułu przygotowanego przez Schlenoffa i współpracowników z roku 2000 [49]. Wykorzystali oni opisywaną metodę



do produkcji systemu poli(chlorek diallilodimetyloamoniowy) (ang. *poly(diallyldimethylammonium chloride)*) (PDDA)/PSS. Ponadto dowiedli oni, iż otrzymany układ charakteryzował się morfologią, jednorodnością oraz składem chemicznym podobnymi do filmu uzyskanego „tradycyjną” odmianą LbL. „Spray-assisted” LbL rozwijały następnie zespoły Dechera i Schaafa, aż stał się on wygodną, szybką oraz powszechnie stosowaną metodą produkcji wielowarstwowych filmów polielektrolitowych [50].

Schematyczny diagram obrazujący procedurę osadzania materiału polimerowego na wybranym podłożu został pokazany na Rysunku 3c. W naczyniu rozpylacza panuje przez cały proces spryskiwania jednakowe ciśnienie płynu, co gwarantuje jednorodne pokrywanie powierzchni adsorbenta. Zraszanie odbywa się prostopadle do umieszczonej w pozycji wertykalnej płytki. Takie jej ułożenie umożliwia szybkie usuwanie nadmiaru naniesionego roztworu, który po prostu spływa pod wpływem sił grawitacji, a także zapobiega nierównomiernemu osadzaniu się warstw adsorbenta. Cały proces obejmuje kilka etapów: (i) rozpylenie roztworu polielektrolitu na podłożu; (ii) jednoczesne spływanie cieczy oraz adsorpcję powierzchniową cząstek polimeru; (iii) spryskanie układu roztworem rozpuszczalnika w celu pozbycia się nadmiaru słabo związanego substratu; (iv) spłynięcie wody. Naprzemienne nanoszenie polikationów oraz polianionów prowadzi do wytworzenia wielowarstwowego filmu polielektrolitowego [51].

Decher ze współpracownikami dokładnie zbadali różnice strukturalne pomiędzy układami otrzymywanymi z wykorzystaniem „tradycyjnej” oraz natryskowej techniki LbL [51]. Indywidualne warstwy PSS oraz PAH zostały osadzone podczas rozpylania ich macierzystych roztworów, trwającego 3 s, po którym następowało 27-sekundowe spływanie cieczy, 20-sekundowe przemywanie wodą, a następnie jej 10-sekundowe spływanie (cała procedura trwała więc dokładnie 60 s). Grubość filmów PSS/PAH wzrastała liniowo wraz ze zwiększającą się liczbą osadzonych porcji materiału. Wymienieni badacze udowodnili, iż pomimo nienasyconej adsorpcji polielektrolitów na podłożu, wynikającej z bardzo krótkiego czasu efektywnego kontaktu pomiędzy powierzchnią adsorbentu a cząsteczkami adsorbentów, układ PSS/PAH charakteryzował się taką samą jednorodnością oraz gładkością jak filmy otrzymywane z wykorzystaniem podstawowej metody LbL. Wyraźny kontrast stanowi fakt, że „tradycyjna”, zanurzeniowa (ang. *dipping*) technika LbL zawodzi zwłaszcza w sytuacjach, gdy czas kontaktu pomiędzy roztworem substancji osadzonej a wybranym podłożem waha się w granicach 0–30 s. Z uwagi na wspomniany brak wysycenia wszystkich miejsc aktywnych na powierzchni adsorbentu, kolejne warstwy w układach polielektrolitowych, sporządzonych z użyciem metody „spray-assisted”, cechują się mniejszą grubością w porównaniu z systemami wyprodukowanymi „tradycyjną” odmianą techniki „warstwa po warstwie”, w której dopiero po okresie zanurzenia płytki w roztworze polimeru, trwającym 20 min., obserwuje się maksymalny stopień pokrycia powierzchni podłoża. Decher z pozostałymi członkami swojej grupy badawczej ustalili ponadto, iż nadal jednorodne filmy PSS/PAH

otrzymuje się przy wykorzystaniu metody LbL typu „spray-assisted”, nawet po zrezygnowaniu z etapu przemywania konstruowanego układu wodą.

Czynnikami w znaczącym stopniu decydującymi o kompozycji i strukturze produkowanych wielowarstwowych systemów polielektrolitowych są: dystans pomiędzy dyszami dozownika a powierzchnią spryskiwaną, czas kontaktu roztworów polimerów z podłożem oraz ich spływania, wielkość strumienia cieczy, jego ciśnienie, a także objętość наносzonych mieszanin wraz z ich stężeniami. Główną wadę opisywanej metody, utrudniającą jej praktyczne zastosowanie, stanowi niejednorodność filmu na skrajach powierzchni adsorbentu, wynikająca z niecałkowitego suszenia jej brzegów. Rozwiązaniem zaistniałego problemu jest użycie podłoża wirującego ze stałą, aczkolwiek małą szybkością (rzędu 10 obrotów na minutę), podczas procesu spryskiwania próbki roztworem zawierającym osadzone polimery.

Dalszy, a obecnie ostatni, etap rozwoju techniki LbL stanowi metoda łącząca w sobie odmianę „spin-assisted” oraz natrysk roztworów substratów, tzw. „spray-spin-assisted” LbL. Gwarantuje ona przyspieszenie produkcji filmów oraz zmniejszenie ilości użytych materiałów [1].

### 3. ZASTOSOWANIE

W przeciągu ostatnich dwóch dekad odkryto liczne zastosowania wielowarstwowych filmów produkowanych techniką „warstwa po warstwie”. W związku z dynamicznym rozwojem metody LbL, umożliwiającej szybkie otrzymywanie znacznej ilości układów wspomnianego typu, np. polielektrolitowych, produkcja różnorodnych filmów o grubości dochodzącej do kilku, a nawet kilkudziesięciu mikrometrów, stała się zdecydowanie wygodniejsza i „praktyczniejsza”. Ogólnie rzecz biorąc, układy o podanej powyżej grubości posiadają wyróżniającą się na tle innych systemów stabilność mechaniczną, mogą zawierać znaczną ilość osadzonego na wybranym podłożu materiału, a także łączą w jednym filmie liczne cechy, umożliwiające spełnianie przez układ wielorakich funkcji jednocześnie. Te zalety napędzały niewątpliwie dalsze poszukiwania potencjalnych obszarów zastosowania wytwarzanych filmów oraz przyczyniały się do postępującej wciąż optymalizacji procesu produkcji ultracienkich materiałów wielowarstwowych z wykorzystaniem techniki LbL [1].

W niniejszym opracowaniu opisane są jedynie wybrane zastosowania filmów LbL, reprezentatywne dla tych układów. W szczególności przedstawione szerzej są wyjątkowo ciekawe kwestie czułych na bodźce zewnętrzne układów pozbawionych stałego podłoża, filmy posiadające zdolności samonaprawiania się (ang. *self-healing*) w przypadku wystąpienia mechanicznego uszkodzenia fragmentu systemu (zdarcia czy zadrapania), cienkie powłoki наносzone na wybrane obiekty materialne i gwarantujące im niezwykłą wytrzymałość mechaniczną, a także wysoce selektywne detektory gazów otrzymane na bazie tak ostatnimi czasy popularnego grafenu.

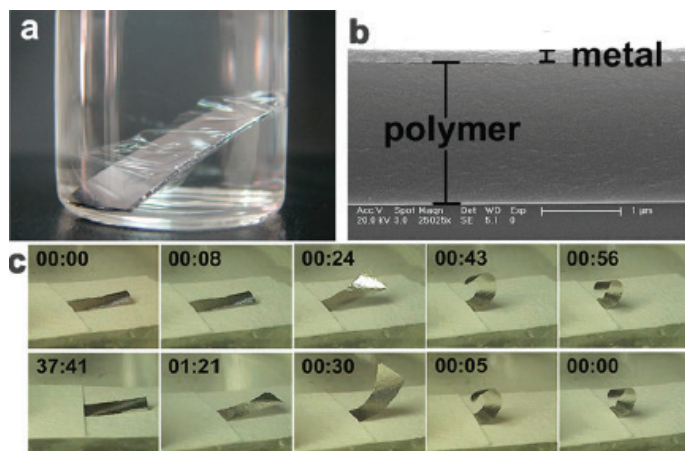


### 3.1. CZUŁE NA BODŹCE FILMY SAMONOŚNE („FREE-STANDING”)

**Oddzielanie filmu od stacjonarnego podłoża.** Układy typu „free-standing” nie posiadają stałego podłoża, na którym został wcześniej zaadsorbowany nano-szony materiał, lecz stanowią zbiór warstw filmu polimerowego, znajdującego się bezpośrednio w roztworze lub wysuszonego, w stanie „wolnym”. W metodzie LBL wielopoziomowe systemy polielektrolitowe otrzymuje się w wyniku osadzania materiału na powierzchni ciała stałego, zapewniającego oparcie dla całej konstrukcji, jednakże ograniczającego funkcjonalność tworzonego układu. Oddzielenie filmu od podłoża powoduje zwiększenie liczby potencjalnych zastosowań całego systemu m.in. w zakresie pełnienia funkcji siłowników, sztucznych mięśni polimerowych czy też membran filtrujących. Wysoka wytrzymałość mechaniczna stanowi warunek wstępny dla stworzenia wolnego od defektów, wielkopowierzchniowego filmu samonośnego. W rozpatrywanych układach wzrost ich grubości odpowiada zwiększeniu wytrzymałości mechanicznej. Stąd też cienkie układy wielowarstwowe mogą z powodzeniem służyć do produkcji stabilnych filmów odseparowanych od stacjonarnej powierzchni.

W ogólnym przypadku układy „free-standing” otrzymuje się w wyniku roztworzenia specjalnej warstwy substancji, znajdującej się pomiędzy podłożem a właściwym filmem. Zabieg ten wymaga z reguły drastycznych warunków, które mogą negatywnie wpłynąć na całość tworzonego układu. Ponadto niezbędne jest, aby warstwy polimerowe w żaden sposób nie rozpuszczały związku oddzielającego je od powierzchni ciała stałego [52].

Ostatnio rozwijaną metodę uwalniania filmu od podłoża stanowi eksfoliacja (ang. *exfoliation*), oparta na procesie wprowadzania do układu jonów zaburzających interakcję pomiędzy pierwszą warstwą właściwego filmu a warstwą substancji odseparowującej [53]. Aby zapewnić delikatne warunki środowiskowe całego zabiegu (roztwór wodny o małej sile jonowej), wymagana jest obecność słabego polielektrolitu w najniższej warstwie układu polimerowego. Jeśli zastosuje się układ termicznie sieciowanego PAA/PAH (30 biwarstw, rozmiar  $1,0 \times 3,0 \text{ cm}^2$ ), osadzony na zmodyfikowanej za pomocą PDDA płytce krzemowej, zanurzony następnie na okres 5 min. do wodnego roztworu o pH wynoszącym 2, to w rezultacie otrzyma się wielkopowierzchniowy film samonośny (Rys. 4a) [53]. Ponadto możliwe jest oddzielanie wielowarstwowych układów naniesionych na niepłaskie powierzchnie, np. wewnętrzne ściany próbówki, w wyniku czego powstają (w tym wypadku) filmy w kształcie tuby.



Rysunek 4. (a) Eksfoliacja z wykorzystaniem jonów termicznie sieciowanego układu (PAA/PAH)\*30 /30 biwarstw/ (powierzchnia:  $1,0 \times 3,0 \text{ cm}^2$ ), osadzonego na zmodyfikowanej za pomocą PDDA płytce krzemowej, umieszczonego w roztworze wodnym o  $\text{pH} = 2$ . (b) Obraz SEM będący przekrojem poprzecznym biwarstwy siłownika (PAA/PAH)\*30/Al. (c) Profile czasowe ruchów zginających i rozprostowujących układu siłownika (PAA/PAH)\*30/Al. (pow.  $0,4 \times 0,9 \text{ cm}^2$ ) wraz ze zmieniającą się wilgotnością. Wilgotność względna zmienia się w górnym wierszu z 12 do 5%, natomiast w dolnym w kierunku odwrotnym. Umieszczono za zgodą z [54]. Prawa autorskie 2014, American Chemical Society

Figure 4. (a) An ion-triggered exfoliation method to release a thermally cross-linked (PAA/PAH)\*30 multilayer film ( $1.0 \times 3.0 \text{ cm}^2$ ) deposited on a PDDA-modified silicon wafer in water ( $\text{pH} = 2$ ). (b) Crosssectional SEM image of a bilayer (PAA/PAH)\*30/Al actuator. (c) Time profiles of bending and unbending movements of a (PAA/PAH)\*30/Al. actuator ( $0.4 \times 0.9 \text{ cm}^2$ ) with changing humidity. The humidity in the top row changed from 12 to 5% RH (relative humidity) and in the bottom row from 5 to 12% RH. Reprinted with permission from ref. 54. Copyright 2014, American Chemical Society

**Inicjowanie działania filmów typu “free-standing”.** Tzw. inteligentne materiały (ang. *smart materials*), zdolne do odwracalnej i kontrolowanej odpowiedzi na zewnętrzne bodźce, odgrywają istotną rolę w produkcji czujników typu wspornikowego (ang. *cantilever sensors*), sztucznych mięśni czy nawet mikrorobotów. Poli-merowe filmy pozbawione stacjonarnego podłoża, produkowane metodami LbL, są z pewnością obiecującymi układami, mogącymi służyć jako niezbędne części wszelakich (nano)siłowników z uwagi na fakt, iż z jednej strony łatwo poddają się w procesie tworzenia kształtowaniu przez eksperymentatora, co prowadzi do otrzymywania systemów zdolnych do konkretnego działania pod wpływem wybranego czynnika, a z drugiej strony ich elastyczność gwarantuje trwałość całego układu podczas powtarzających się cyklicznie deformacji.

Biwarstwowy siłownik, czuły na zmiany temperatury i wilgotności otoczenia, został z sukcesem otrzymany w wyniku próżniowego osadzenia atomów glinu na termicznie sieciowanym filmie PAA/PAH (typu „free-standing”) [54]. Układ wykazuje szybkie i odwracalne ruchy zginające/rozprostowujące w ramach adaptacji do panujących akurat w środowisku temperatury oraz wilgotności. Składający się z

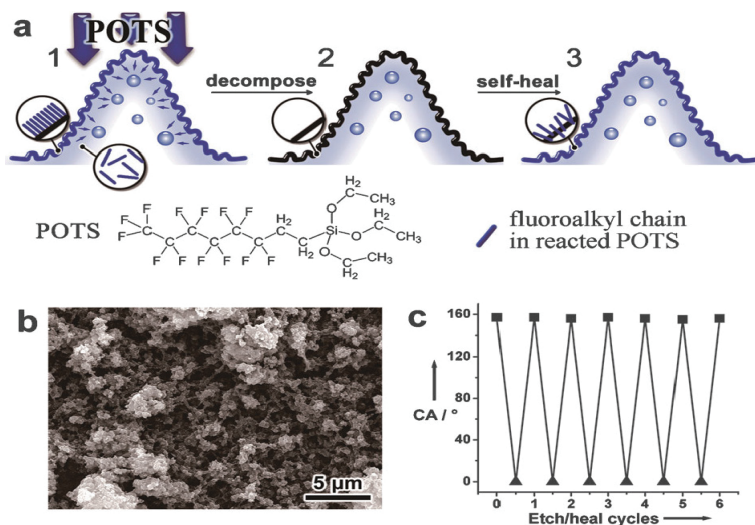
30 biwarstw film charakteryzuje się grubością równą  $1,79 \pm 0,01 \mu\text{m}$  oraz posiadaniem efektywnej powierzchni kontaktu z górną powłoką glinową (o stałej grubości wynoszącej 1576 nm) (Rys. 4b). Poziom polimerowy posiada zdolność adsorpcji/desorpcji wody wraz ze wzrastającą/malejącą wilgotnością powietrza, co z kolei skutkuje puchnięciem/kurczeniem się warstwy PAA/PAH. System może pochłoniąć ilość cieczy stanowiącą do 12,5% jego masy własnej przy zmianie wilgotności względnej RH (ang. *relative humidity*) w zakresie 0–100%. W ramach podkreślenia różnic – warstwa atomów glinu jest obojętna na zmiany wartości RH. Jak pokazano to na Rysunku 4c, spadek wilgotności względnej z 12 do 5% w rezultacie delikatnego przepływu nad układem strumienia suchego azotu powoduje kurczenie się górnej warstwy PAA/PAH (w wyniku desorpcji wody), podczas gdy dolna warstwa metaliczna pozostaje bez wyraźnych zmian. Powstałe pomiędzy obydwojema poziomami naprężenia wywołują zgięcie całego biwarstwowego układu o kąt bliski  $180^\circ$  w ciągu zaledwie 56 s. Stopniowy powrót aktuatora do oryginalnego kształtu, trwający w tym wypadku 80 s, odbywa się na skutek ponownej adsorpcji wody przez sieciowany układ polimerowy, towarzyszący zwiększeniu wartości RH do 12%. Cały system wykazuje zdolność do odwracalnego i powtarzalnego zmieniania swojego ułożenia bez wykazywania oznak tzw. „zmęczenia” materiału. Ponadto opisywany element wykonawczy jest czuły (z podobnym skutkiem) na zmiany temperatury otoczenia – wzrost temperatury prowadzi do zginania biwarstwowego siłownika (termiczne rozszerzenie poziomego metalicznego i przyspieszona desorpcja wody z usieciowanego obszaru polimerowego), natomiast jej spadek – do rozciągnięcia aktuatora (kurczliwość termiczna warstwy Al, sprzyjanie adsorpcji wody przez układ PAA/PAH).

Analogiczne systemy produkowane są techniką LbL z wykorzystaniem tytanu, fluorowanych alkilosilanów i innych rodzajów polimerów (charakteryzujących się eksponencjalnym wzrostem grubości wraz z nakładaniem kolejnych ilości substancji) [55].

### 3.2. SAMONAPRAWIAJĄCE SIĘ POWŁOKI POLIMEROWE

Zdolność do samonaprawy (ang. *self-healing*) należy do podstawowych cech organizmów żywych (aczkolwiek nie we wszystkich tkankach czy narządach tkwi taki potencjał). Sztucznie wytwarzane materiały, do zalet których zalicza się niewątpliwie wspomniany przymiot, mogą w sposób bezproblemowy przywracać utracone w wyniku uszkodzenia właściwości mechaniczne i nadal wzorowo pełnić przeznaczone im funkcje. Sam proces „leczenia” odbywa się na różne sposoby. Polega on m.in. na uwalnianiu specjalnych substancji, zgromadzonych uprzednio w mikrokapsułach bądź porach, które docierają do miejsca zniszczenia i usuwają je [56]. Inne z kolei niejako przywracają występujące dotychczas pomiędzy uszkodzonymi obszarami wiązania chemiczne lub oddziaływania fizyczne, takie jak dwustronne wiązania kowalencyjne, wiązania odwracalne o charakterze niekowalencyjnym czy

dyfuzję molekularną [57]. Również wielowarstwowe filmy produkowane metodą LbL mogą wykazywać zdolność do odbudowy powstałych uszkodzeń.



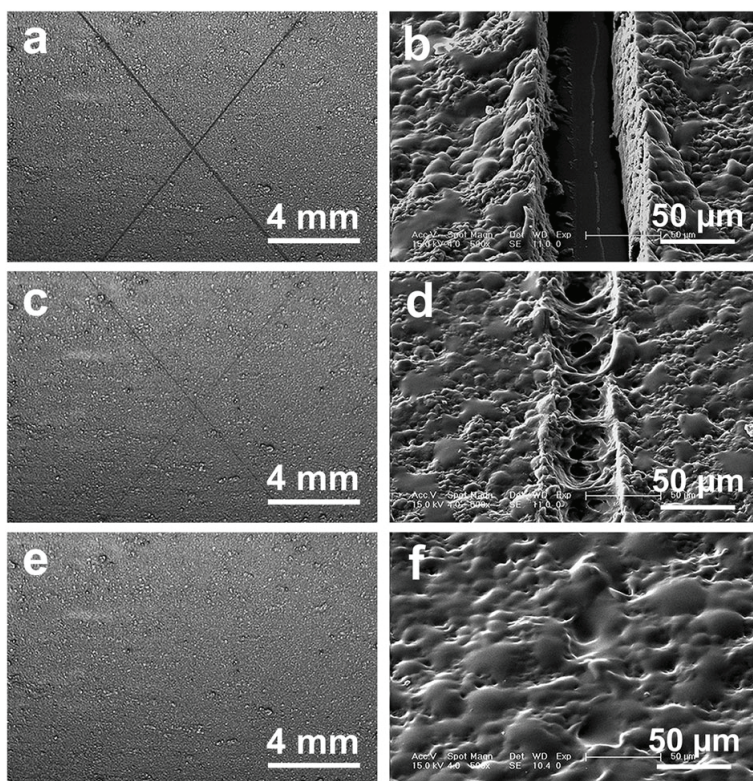
Rysunek 5. (a) Przebieg procesu samonaprawiania powłok superhydrofobowych. (b) Obraz SEM powierzchni układu PAH-SPEEK / PAA złożonego z 60,5 biwarstw, osadzonego na krzemowej płytce (widok z góry). (c) Kąt zwilżania, CA (ang. *contact angle*), powłoki zniszczonej za pomocą plazmy  $O_2$  (▲) i tej samej powłoki już po procesie samonaprawienia (■). Umieszczono za zgodą z [58]. Prawa autorskie 2014, Wiley-VCH

Figure 5. (a) Working principle of self-healing superhydrophobic coatings. (b) Top-view SEM images of a (PAH-SPEEK/PAA)\*60.5 coating on a silicon wafer. (c) Contact angle (CA) of  $O_2$  plasmadamaged superhydrophobic coating (▲) and the same coating after self-healing (■). Adapted with permission from ref. 58. Copyright 2014, Wiley-VCH

**Samonaprawiające się powłoki superhydrofobowe.** Otrzymuje się je w wyniku umieszczania specjalnych substancji „lecniczych” – w tym przypadku fluorowanych alkilosilanów (ang. *fluoroalkylsilane*), w porowatych, elastycznych układach polielektrolitowych produkowanych metodą LbL, posiadających hierarchiczną strukturę zarówno w skali mikro, jak i nano [58]. Przykładowy system (Rys. 5a i b), zbudowany z 60,5 biwarstw, obejmuje polielektrolitowe kompleksy PAH i sulfonowanego poli(eter-eter-ketonu) (SPEEK; poziom podstawienia grupami sulfonowymi: 82%) z PAA. Jego średnia grubość wynosiła  $2,7 \pm 0,4 \mu\text{m}$ . Termiczne sieciowanie układu, powodujące powstanie wiązań amidowych pomiędzy grupami aminowymi oraz karboksylanowymi, zwiększyło jego trwałość mechaniczną. W wyniku chemicznego osadzenia par związku POTS (ang. *1H,1H,2H,2H-perfluorooctyltriethoxysilane*) (Rys. 5a) na powierzchni filmu wytworzono superhydrofobową powłokę charakteryzującą się kątem zwilżania wynoszącym  $157^\circ$  oraz kątem ślizgania (ang. *sliding angle*) o wartości rzędu  $1^\circ$ . Po naniesieniu POTS jego obecność obserwuje się nie tylko na zewnętrznej stronie filmu, ale również pomiędzy łańcuchami polimerowymi, gdzie przedostaje się on przez pory układu. Traktowanie superhydro-



fobowych powłok plazmą  $O_2$  skutkuje usunięciem części cząsteczek POTS oraz powstaniem systemu o właściwościach superhydrofilowych (Rys. 5c). Dopiero umieszczenie układu w pierwotnym środowisku o wilgotności względnej równej 40% na okres 4 godz. gwarantuje odzyskanie cech podłoża hydrofobowego. Natomiast sam proces samonaprawiania przebiega w sposób następujący. Po zniszczeniu zewnętrznej warstwy POTS film staje się superhydrofobowy superhydrofilowy i może pochłaniać wodę z wilgotnego środowiska. Zachowane wewnątrz układu molekuly POTS wędrują w stronę powierzchni, obniżając energię powierzchniową w wyniku zmian konformacji łańcuchów polielektrolitowych. Dzięki temu układ odzyskuje stopniowo swoje pierwotne właściwości superhydrofobowe. Sekwencja niszczenie/naprawianie powtarzana wielokrotnie nie obniża poziomu hydrofobowości zregenerowanego filmu polimerowego z uwagi na jego grubość, gwarantującą zgromadzenie w wolnych przestrzeniach między usieciowanymi łańcuchami odpowiedniej ilości molekuł POTS.



Rysunek 6. Obserwacja powłoki PEI/PAA złożonej z 30 biwarstw [(PEI/PAA)\*30], z nacięciem o szerokości 50  $\mu\text{m}$ , po zanurzeniu w wodzie na okres (a,b) 0 s, (c,d) 10 s i (e,f) 5 min. Umieszczono za zgodą z [59]. Prawa autorskie 2014, Wiley-VCH

Figure 6. Visual observation of a (PEI/PAA)\*30 coating containing cuts with a width of 50  $\mu\text{m}$  after immersion in water for (a, b) 0 s, (c, d) 10 s, and (e, f) 5 min. Adapted with permission from ref. 59. Copyright 2014, Wiley-VCH

**Wielowarstwowe powłoki polielektrolitowe zdolne do samonaprawy pod wpływem wody.** Przygotowanie polimerowych podłoży, potrafiących odbudowywać swoją strukturę i usuwać uszkodzenia powstałe w wyniku cięcia bądź zadrapania ich powierzchni, odgrywa istotną rolę w licznych zastosowaniach praktycznych. Sun ze współpracownikami zademonstrował wytworzony z użyciem techniki LbL film polielektrolitowy złożony z poli(etylenoiminy) (PEI)/PAA, charakteryzujący się eksponencjalnym wzrostem grubości wraz z osadzaniem kolejnych warstw materiału [59]. Średnia grubość zbudowanego z 30 biwarstw systemu oscylowała w granicach  $34,1 \pm 3,3 \mu\text{m}$ . Cięcie o szerokości  $50 \mu\text{m}$ , sięgające aż do krzemowego podłoża, na którym powstał cały układ, wykonano przy użyciu skalpela (Rys. 6a i b). Oczywiście, aczkolwiek tylko częściową naprawę uszkodzenia, obserwowano już po zanurzeniu filmu do wody na okres 10 s (Rys. 6c i d). Całkowite odbudowanie struktury nastąpiło po 5 min. (Rys. 6e i f). Uszkodzenie o takim rozmiarze można również „zreperować” w ciągu 5 min. poprzez spryskanie zniszczonej powierzchni strumieniem wody. Proces samonaprawy, niezależny od ilości czasu, który upłynął od momentu cięcia lub zadrapania, może zostać wielokrotnie powtórzony nawet dla tego samego obszaru. Kiedy uszkodzony układ PEI/PAA zanurzono w wodzie, uległ on znacznemu napuchnięciu i wykazywał silną tendencję do płynięcia w kierunku powstałych w filmie dziur. Cząsteczki polielektrolitów, znajdujące się na pękniętej powierzchni, w wyniku elektrostatycznych oddziaływań wchodziły ze sobą w kontakt i mieszały się, co pozwalało na odtworzenie uszkodzonego systemu.

### 3.3. POWŁOKI O DUŻEJ WYTRZYMAŁOŚCI MECHANICZNEJ

Mocne, twarde filmy znajdują się w kręgu zainteresowań wielu badaczy z uwagi na szerokie zastosowania, począwszy od powłok chroniących przed zarysowaniami, a skończywszy na różnorodnych urządzeniach optycznych. Elastyczność metody LbL umożliwia precyzyjne dopasowanie oddziaływań, ustawienia, interdyfuzji i konfiguracji poszczególnych rodzajów związków tworzących wielowarstwowy układ, a tym samym dokładne predefiniowanie jego właściwości mechanicznych [1].

**Filmy naśladujące masę perłową.** Montmorylonit (MTM) (minerał ilasty; uwodniony krzemian glinu, sodu i magnezu) był i wciąż jest szeroko używany do produkcji niezwykle twardych materiałów z uwagi na łatwą dostępność, a także wyjątkową wytrzymałość mechaniczną. Zainspirowani masą perłową oraz kośćmi, które są znane z ekstremalnie wysokich twardości, wytrzymałości i wiązkości (zwanej również energią pęknięcia; ang. toughness), Kotov i jego współpracownicy, posługując się „tradycyjną”, zanurzeniową techniką LbL, wytworzyli przez sekwencyjne osadzanie MTM ze starannie wyselekcjonowanymi polimerami specyficzne układy kompozytowe [60]. Filmy te posiadały dobrze zdefiniowaną kompozycję glinki i polimerów, a także charakteryzowały się wytrzymałością na rozciąganie (ang. *tensile strengths*) i wartością modułu Younga podobnymi, a nawet wyższymi niż

w przypadku naturalnych biokompozytów (włączając w to masę perłową i kości). Układ PDDA/MTM, obejmujący 200 biwarstw, ma grubość równą  $4,9 \pm 0,06 \mu\text{m}$ , a jego moduł Younga wynosi  $13 \pm 2 \text{ GPa}$ , podczas gdy dla filmu PVA/MTM (PVA – poli(alkohol winylowy); ang. *poly(vinyl alcohol)*), składającego się z 300 usieciowanych przy użyciu aldehydu glutarowego biwarstw, wartość modułu Younga oscyluje w granicach  $106 \pm 11 \text{ GPa}$ . Lepsze w drugim z wymienionych przypadków właściwości mechaniczne wynikają ze stabilizowania układu licznymi wiązaniami kowalencyjnymi i wodorowymi, a także większej sztywności łańcuchów PVA niż PDDA. Natomiast wykorzystywanie gliniek w filmach polielektrolitowych (wykazujących do tego tzw. eksponencjalny wzrost) umożliwia łatwą i opłacalną produkcję materiałów kompozytowych o znacznej wytrzymałości mechanicznej.

**Przezroczyste i odporne na zarysowania powłoki zawierające dobrze rozproszone wypełniacze (w skali nano).** Jednorodna dyspersja nanowypełniaczy (ang. *nanofillers*) o ekstremalnie małych rozmiarach w materiale polimerowym stanowi niezwykle efektywny sposób wytwarzania układów kompozytowych o wysokiej przejrzystości i znacznej wytrzymałości mechanicznej (m.in. z powodu braku rozpraszania na cząstkach wypełniacza światła z zakresu widzialnego). Nanowypełniacze, posiadające stosunkowo dużą powierzchnię względem swojej objętości, wykazują tendencję do tworzenia aglomeratów, które zdecydowanie ujemnie wpływają zarówno na przezroczystość, jak i odporność na uszkodzenia produkowanych systemów. Na szczęście otrzymywane metodą LbL wielowarstwowe filmy polimerowe, wykazujące eksponencjalny wzrost grubości wraz z nanoszeniem kolejnych warstw substancji, zawierające rozproszone w nich w sposób homogeniczny cząstki nanowypełniaczy, zapobiegają wspomnianemu powyżej niekorzystnemu zjawisku oraz gwarantują wysoką przejrzystość, znaczną wytrzymałość mechaniczną, a także odporność na zarysowania [61].

Jako tanie wypełniacze stosuje się nanocząstki  $\text{CaCO}_3$ . Przygotowuje się *in situ* kompleks PAA ze wspomnianymi nanocząstkami (oznaczany PAA- $\text{CaCO}_3$ ), który następnie nanosi się naprzemiennie z PAH na wybraną powierzchnię, tworząc film kompozytowy PAA- $\text{CaCO}_3$ /PAH. Termicznie sieciowany układ PAA- $\text{CaCO}_3$ /PAH, składający się z 20 biwarstw, cechuje się stałą grubością wynoszącą  $1,72 \pm 0,09 \mu\text{m}$ , przy zawartości masowej wypełniacza rzędu 4,2%. Jednorodne rozproszenie nanocząstek  $\text{CaCO}_3$  w całej objętości systemu, a także ich średnica, osiągająca wartość 2 nm, zostały potwierdzone pomiarami wykonanymi z użyciem transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Powstały układ posiada wyjątkowo gładką powierzchnię, wysoką przejrzystość, a także niezwykłą twardość i odporność na zadrapania, dzięki czemu może m.in. pełnić rolę powłoki ochronnej dla innych filmów [61].

### 3.4. WYSOCE SELEKTYWNE DETEKTORY GAZÓW

Ji wraz ze współpracownikami otrzymał metodą LbL filmy złożone ze zredukowanego tlenku grafenu, RGO (ang. *reduced graphene oxide*), oraz cieczy jonowej (ang. *ionic liquid*) [62]. W tym doświadczeniu arkusze tlenku grafenu GO (ang. *graphene oxide*), zostały spreparowane w wyniku reakcji utlenienia grafenu w warunkach kwasowych, po którym nastąpiła ich redukcja (ang. *reduction*) w obecności cieczy jonowej. Uzyskany materiał kompozytowy – GS-IL (ang. *graphene sheet – ionic liquid*), zachowywał się jak obdarzone ładunkiem powierzchniowym tafle, dzięki czemu mógł on być nanoszony naprzemiennie z PSS na powierzchnię czujnika mikrowagi kwarcowej. Kontakt otrzymanego systemu detekcyjnego z nasyconymi parami badanych związków umożliwiał badanie liczby zaadsorbowanych przez film cząstek, ponieważ w miarę wzrostu masy osadzonego na filmie materiału obserwowano odpowiedni spadek częstotliwości rezonansowych wagi. Ilość zaadsorbowanego (w tym wypadku) benzenu (z jego mieszaniny z cykloheksanem) w znaczący sposób zależała od rodzaju wchodzącej w skład kompozytu cieczy jonowej. Opisany system ma wiele potencjalnych zastosowań, np. pochłanianie atmosferycznego CO<sub>2</sub>, co czyni wydajniej od analogicznych układów, w skład których wchodzi tylko GS.

### PODSUMOWANIE

Zaprezentowane techniki LbL umożliwiają łatwe i szybkie otrzymywanie zarówno prostych wielowarstwowych filmów polimerowych, jak i bardziej skomplikowanych bioukładów. Opierają się na podstawowych rodzajach oddziaływań pomiędzy badanymi związkami, głównie oddziaływaniach elektrostatycznych, dzięki czemu bardzo szeroka gama różnorodnych substancji może być użyta do tworzenia opisywanych systemów. Cząsteczki są nanoszone nie tylko na płaskie, ale również na inne typy powierzchni, rolę których spełniają równie dobrze materiały metaliczne, naturalne, jak i sztuczne. Dzięki swoim specyficznym cechom, obejmującym uporządkowaną strukturę hierarchiczną, stabilność (gwarantującą w niektórych przypadkach otrzymywanie materiałów pozbawionych stacjonarnego podłoża), stały, z góry definiowany skład jakościowy (a w ogromnym stopniu również ilościowy), a także elastyczność i wiele, wiele innych, znajdują one liczne zastosowania w różnych dziedzinach nauki, począwszy od produkcji biokompatybilnych elementów, przez urządzenia optyczne, sensory, a skończywszy na powłokach ochronnych.

Ze względu na fakt, iż np. natryskową technikę LbL bardzo łatwo można dostosować do skali przemysłowej, prawdopodobnie już niedługo będzie ona powszechnie stosowana w produkcji (istnieją eksperymentalne urządzenia wielkości tych spotykanych w samochodowych myjniach automatycznych, nanoszące wielowarstwowe filmy na karoserię pojazdu; ponadto w Japonii otrzymano już film o szerokości 1 m) [63].



## PODZIĘKOWANIA

Chciałbym serdecznie podziękować Panu dr. hab. Szczepanowi Zapotocznemu, prof. UJ, za wsparcie i pomoc okazane podczas pisania niniejszego tekstu, a także krakowskiemu Oddziałowi PTChem. i Pani dr. hab. Ewie Witek za umożliwienie mi stworzenia tejże pracy.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Y. Li, X. Wang, J. Sun, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 5998.
- [2] P.K. Deshmukh I in., *Journal of Controlled Release*, 2013, **166**, 294.
- [3] G. Decher, J. Schlenoff, *Multilayer Thin Films*, Wiley-VCH, Weinheim, druga edycja, 2012.
- [4] R.K. Iler, *J. Colloid Interface Sci.*, 1966, **21**, 569.
- [5] J.J. Kirkland, *Anal. Chem.*, 1965, **37**, 1458.
- [6] Opatentowany przez H. E. Bergna i J. J. Kirklanda w 1984.
- [7] Opatentowany przez J. J. Kirklanda w 1970.
- [8] P. Fromherz, [w:] *Life Sciences*, W. Baumeister, W. Vogell (Red.), Springer, Berlin, 1980, str. 338.
- [9] C.G. Gölander, H. Arwin, J.C. Eriksson, I. Lundstrom, R. Larsson, *Colloids Surf.*, 1982, **5**, 1.
- [10] G. Decher, J.-D. Hong, *Makromol. Chem., Macromol. Symp.*, 1991, **46**, 321.
- [11] G. Decher, J.D. Hong, *Ber. Bunsen.-Ges. Phys. Chem.*, 1991, **95**, 1430.
- [12] G. Decher, J.D. Hong, J. Schmitt, *Thin Solid Films*, 1992, **210**, 831.
- [13] Y. Lvov, G. Decher, H. Möhwald, *Langmuir*, 1993, **9**, 481.
- [14] J. Schmitt, T. Grünewald, G. Decher, P. S. Pershan, K. Kjaer, M. Lösche, *Macromolecules*, 1993, **26**, 7058.
- [15] P. Berndt, K. Kurihara, T. Kunitake, *Langmuir*, 1992, **8**, 2486.
- [16] E.R. Kleinfeld, G.S. Ferguson, *Science*, 1994, **265**, 370.
- [17] Y. Lvov, K. Ariga, I. Ichinose, T. Kunitake, *Langmuir*, 1996, **12**, 3038.
- [18] N.A. Kotov, I. Dékány, J.H. Fendler, *J. Phys. Chem.*, 1995, **99**, 13065.
- [19] M. Gao, X. Zhang, B. Yang, J. Shen, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 2229.
- [20] K. Ariga, Y. Lvov, M. Onda, I. Ichinose, T. Kunitake, *Chem. Lett.*, 1997, 125.
- [21] Y. Lvov, K. Ariga, M. Onda, I. Ichinose, T. Kunitake, *Langmuir*, 1997, **13**, 6195.
- [22] A.C. Fou, M. F. Rubner, *Macromolecules*, 1995, **28**, 7115.
- [23] M. Ferreira, M. F. Rubner, *Macromolecules*, 1995, **28**, 7107.
- [24] G. Decher, *Science*, 1997, **277**, 1232.
- [25] F. Caruso, D.N. Furlong, K. Ariga, I. Ichinose, T. Kunitake, *Langmuir*, 1998, **14**, 4559.
- [26] G. Ladam, P. Schaad, J.C. Voegel, P. Schaaf, G. Decher, F. Cuisinier, *Langmuir*, 2000, **16**, 1249.
- [27] G.B. Sukhorukov, E. Donath, S. Davis, H. Lichtenfeld, F. Caruso, V.I. Popov, H. Möhwald, *Polym. Adv. Technol.*, 1998, **9**, 759.
- [28] G.B. Sukhorukov, M. Brumen, E. Donath, H. Möhwald, *J. Phys. Chem. B*, 1999, **103**, 6434.
- [29] B.G. De Geest, G.B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Expert Opin. Drug Delivery*, 2009, **6**, 613.
- [30] P.Y. Vuillaume, K. Glinel, A.M. Jonas, A. Laschewsky, *Chem. Mater.*, 2003, **15**, 3625.
- [31] W.B. Stockton, M. F. Rubner, *Macromolecules*, 1997, **30**, 2717.
- [32] L. Wang, Z. Wang, X. Zhang, J. Shen, L. Chi, H. Fuchs, *Macromol. Rapid Commun.*, 1997, **18**, 509.
- [33] J.F. Quinn, A.P.R. Johnston, G.K. Such, A.N. Zelikin, F. Caruso, *Chem. Soc. Rev.*, 2007, **36**, 707.
- [34] H. Xiong, M. Cheng, Z. Zhou, X. Zhang, J. Shen, *Adv. Mater.*, 1998, **10**, 529.
- [35] Y. Shimazaki, M. Mitsuishi, S. Ito, M. Yamamoto, *Langmuir*, 1997, **13**, 1385.

- [36] D.E. Bergbreiter, K.-S. Liao, *Soft Matter*, 2009, **5**, 23.
- [37] Y. Wang, L. Hosta-Rigau, H. Lomas, F. Caruso, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, **13**, 4782.
- [38] G. Rydzek, P. Schaaf, J.-C. Voegel, L. Jierry, F. Boulmedais, *Soft Matter*, 2012, **8**, 9738.
- [39] A. Laschewsky, E. Wischerhoff, P. Bertrand, A. Delcorte, *Macromol. Chem. Phys.*, 1997, **198**, 3239.
- [40] J. Chen, W. Cao, *Chem. Commun.*, 1999, 1711.
- [41] P. Tengvall, E. Jansson, A. Askendal, P. Thomsen, C. Gretzer, *Colloids Surf., B*, 2003, **28**, 261.
- [42] D. Beyer, T. M. Bohanon, W. Knoll, H. Ringsdorf, G. Elender, E. Sackmann, *Langmuir*, 1996, **12**, 2514.
- [43] G. Rydzek, J.-S. Thomann, N.B. Ameur, L. Jierry, P. Mésini, A. Ponche, C. Contal, A.E. El Haitami, J.-C. Voegel, B. Senger, P. Schaaf, B. Frisch, F. Boulmedais, *Langmuir*, 2010, **26**, 2816.
- [44] H. Ejima, J.J. Richardson, K. Liang, J.P. Best, M.P. van Koeverden, G.K. Such, J. Cui, F. Caruso, *Science*, 2013, **341**, 154.
- [45] T.C. Wang, R.E. Cohen, M.F. Rubner, *Adv. Mater.*, 2002, **14**, 1534.
- [46] J. Cho, K. Char, J.-D. Hong, K.-B. Lee, *Adv. Mater.*, 2001, **13**, 1076.
- [47] P.A. Chiarelli, M.S. Johal, J.L. Casson, J.B. Roberts, J.M. Robinson, H.-L. Wang, *Adv. Mater.*, 2001, **13**, 1167.
- [48] J. Seo, J.L. Lutkenhaus, J. Kim, P.T. Hammond, K. Char, *Langmuir*, 2008, **24**, 7995.
- [49] J.B. Schlenoff, S.T. Dubas, T. Farhat, *Langmuir*, 2000, **16**, 9968.
- [50] C.H. Porcel, A. Izquierdo, V. Ball, G. Decher, J.-C. Voegel, P. Schaaf, *Langmuir*, 2005, **21**, 800.
- [51] A. Izquierdo, S.S. Ono, J.-C. Voegel, P. Schaaf, G. Decher, *Langmuir*, 2005, **21**, 7558.
- [52] C. Jiang, X. Wang, R. Gunawidjaja, Y.-H. Lin, M.K. Gupta, D.L. Kaplan, R.R. Naik, V.V. Tsukruk, *Adv. Funct. Mater.*, 2007, **17**, 2229.
- [53] Y. Ma, J. Sun, J. Shen, *Chem. Mater.*, 2007, **19**, 5058.
- [54] Y. Ma, J. Sun, *Chem. Mater.*, 2009, **21**, 898.
- [55] L. Shen, J. Fu, K. Fu, C. Picart, J. Ji, *Langmuir*, 2010, **26**, 16634.
- [56] Y. Ma, Y. Zhang, B. Wu, W. Sun, Z. Li, J. Sun, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, **50**, 6254.
- [57] B.J. Blaiszik, S.L.B. Kramer, S.C. Olugebefola, J.S. Moore, N.R. Sottos, S.R. White, *Annu. Rev. Mater. Res.*, 2010, **40**, 179.
- [58] Y. Li, L. Li, J. Sun, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 6129.
- [59] X. Wang, F. Liu, X. Zheng, J. Sun, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, **50**, 11378.
- [60] Z. Tang, N.A. Kotov, S. Magonov, B. Ozturk, *Nat. Mater.*, 2003, **2**, 413.
- [61] X. Liu, L. Zhou, F. Liu, M. Ji, W. Tang, M. Pang, J. Sun, *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 7721.
- [62] Q. Ji, I. Honma, S.-M. Paek, M. Akada, J.P. Hill, A. Vinu, K. Ariga, *Angew. Chem., Int. Ed.* 2010, **49**, 9737.
- [63] K. Ariga i in., *Chem. Lett.*, 2014, **43**, 36.

Praca wpłynęła do Redakcji 25 lipca 2014

**W POGONI ZA SADZĄ**  
**THE PURSUIT OF SOOT**

**Anna Kopacz**

*Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, Zakład Chemii Nieorganicznej,  
Grupa Chemii Powierzchni i materiałów,  
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków  
e-mail: anna.kopacz@uj.edu.pl*

Praca nagrodzona przez Krakowski Oddział PTChem

---

Abstract

1. Sadza – właściwości i reaktywność
2. Katalizatory dopalania sadzy
3. Katalityczne dopalanie sadzy
4. Materiały zawierające tlenki i hydroksytlenki żelaza
  - 4.1. Hematyt
  - 4.2. Maghemit
  - 4.3. Magnetyt
  - 4.4. Wustyt
  - 4.5. Ferrihydryt
  - 4.6. Lepidokroki, akagenit, getyt

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---



**Mgr Anna Kopacz** urodziła się w 1990 roku w Tarnowie. W 2014 roku ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego na kierunku chemia, w specjalności nanochemia i kataliza. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad opracowaniem katalizatora żelazowego do dopalania cząstek sadzy. Prezentowany tekst jest fragmentem pracy magisterskiej autorki.

---

**ABSTRACT**

Soot is produced simultaneously by the incomplete combustion of fossil fuels. Investigations of soot elimination methods are currently focused on light fuel oil boilers. The overview of various transition metal properties points at iron as the most promising cation. The technology of existing oil burners excludes modifications necessary to install additional catalytic converters. The most feasible way to eliminate soot is to introduce the catalyst in the form of fuel additive. Iron iron oxides and/or hydroxides are suggested as base for production of fuel-borne-catalyst.

Keywords: catalysis, iron oxide, catalyst, soot, combustion

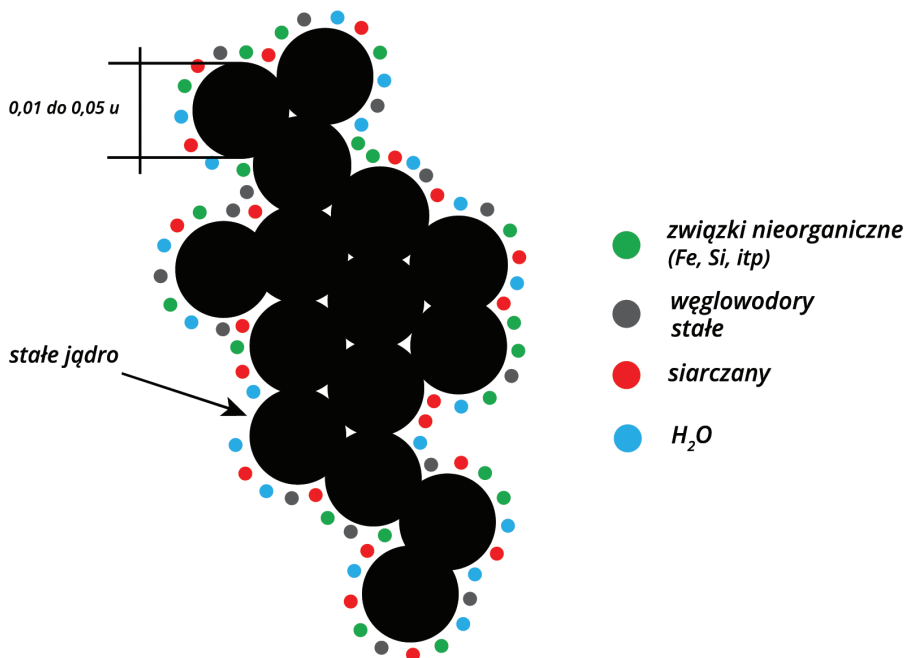
Słowa kluczowe: kataliza, tlenki żelaza, katalizator, sadza, spalanie

---

---

## 1. SADZA – WŁAŚCIWOŚCI I REAKTYWNOŚĆ

Przemysł od lat emituje znaczne ilości sadzy do atmosfery. Prócz niego do głównych źródeł emisji zaliczyć należy nie tylko rury wydechowe samochodów i statków napędzanych silnikami Diesla, ale także procesy spalania następujące w wyniku ogrzewania gospodarstw domowych paliwami stałymi takimi jak węgiel czy lekkim olejem opałowym w kotłach grzewczych [1].



Rysunek 1. Budowa cząstki sadzy  
Figure 1. Structure of soot particles

Sadza powstaje w wyniku spalania rozmaitych paliw przy ograniczonym dostępie tlenu. Głównym, jednakże nie jedynym jej składnikiem, jest węgiel występujący w postaci zwanej amorficzną. Jeśli jednak przyjrzeć się bliżej drobinom sadzy to okazuje się, że mamy do czynienia z podobną do grafitu strukturą warstwową powstałą ze skondensowanych pierścieni sześć- i pięciocząłonowych. Obecność tych ostatnich wymusza zwinięcie rozrastających się warstw w kuliste (zwykle dość luźne) twory o średnicy kilkudziesięciu nanometrów. Pojedyncze kuleczki sadzy formują agregaty o rozmiarach wyrażanych w mikronach. Budowę agregatu sadzy schematycznie przedstawia Rysunek 1.

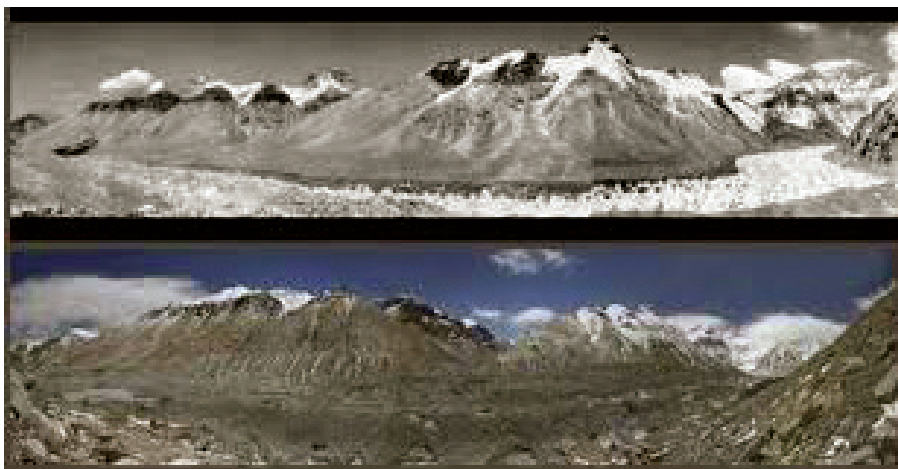
Z uwagi na swoją dobrze rozwiniętą powierzchnię właściwą, sadza posiada duże zdolności adsorpcyjne. Sprawia to, że wraz z nią przenoszone są toksyczne pierwiastki i związki chemiczne tj. metale ciężkie (arsen, kadm, ołów) oraz rakotwórcze wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, których przykładem jest

3,4-benzopiren [2]. Ponieważ sadza ma bardzo małą gęstość, może utrzymywać się w atmosferze przez długi czas. Małe rozmiary cząstek sadzy (sadza wchodzi w skład pyłów PM10 i PM2,5) sprawiają, że może ona przenikać bariery organizmu wnikając nie tylko drogą oddechową, ale niekiedy nawet przez skórę [3]. Badania medyczne prowadzone w tym kierunku wykazały, że może ona wywoływać zmiany mutagenne i kancerogenne w organizmie człowieka [4], a także schorzenia układu krwionośnego i oddechowego [2].

O sadzy mówi się również ostatnio jako o czynniku ocieplającym klimat ziemski. Początkowo udział sadzy w tym efekcie traktowano bardzo marginalnie, a cała uwaga skupiała się przede wszystkim na dwutlenku węgla, jako głównym czynnikiem przyczyniającym się do ocieplenia klimatu.

Ostatnie badania amerykańskich i chińskich naukowców pokazują, że sadza jest kolejnym po dwutlenku węgla najważniejszym czynnikiem wywołującym obecne zmiany klimatyczne.

To jej obecności (a ściślej jej wpływie na absorpcję promieniowania) przypisuje się rosnące tempo topnienia alpejskich lodowców. Około 1850 roku lodowce te zajmowały dwukrotnie większy obszar niż obecnie. Zauważono wtedy, że zaczynają się one cofać, co było faktem dosyć zastanawiającym, tym bardziej, że temperatura cały czas spadała, aż do około 1910 roku. Wtedy też zaczęto zastanawiać się nad inną tego przyczyną. Zbadano w związku z tym wycinki z lodowych rdzeni. Okazało się, że stężenie sadzy w masywie Monte Rosa rosło stopniowo od 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  około 1860 roku do 20  $\mu\text{g}$  w 1880 i 30  $\mu\text{g}$  w 1940 roku. Od tej pory stężenie sadzy w alpejskich lodowcach stopniowo rośnie, co przypisywane jest wzrostowi transportu kolejowego i przemysłu turystycznego w Alpach [5].



Rysunek 2. Rongbuk, największy lodowiec na północnych stokach Mount Everest's w roku 1968 (na górze) i 2007 roku (na dole). Zdjęcie: Chinese Academy of Sciences and Greenpeace

Figure 2. Rongbuk, the largest glacier on Mount Everest's northern slopes, in 1968 (top) and 2007 (bottom). Photo: Chinese Academy of Sciences and Greenpeace

Emitowane do środowiska drobiny sadzy osadzają się na powierzchni śniegu, zmniejszając jego zdolność do odbijania światła słonecznego. W wyniku tego część promieniowania pochłonięta zostaje przez sadzę i następnie zamieniona na energię cieplną, powodując szybsze topnienie śniegu.

Skutki, jakie powoduje sadza nie ograniczają się do lodowców. Badania przeprowadzone przez NASA pokazały, że obecność sadzy w atmosferze indukuje również znaczące zmiany w temperaturze i w wielkościach opadów na obszarze Chin. Surabi Menon i James Hansen sugerują, że obecność sadzy może istotnie wpływać na klimat na skalę kontynentalną. Sadza emitowana w przemysłowych regionach Chin, zmniejsza lokalne albedo, co prowadzi do podgrzania powietrza i zachwiania obiegu wody i ciepła powodując zmiany w temperaturze i wielkości opadów na terenie całej Azji południowo-wschodniej. W ten sposób, emisja sadzy daje swój wkład do częstszego ostatnio występowania powodzi i suszy na tych obszarach [6, 7].

W związku z sukcesywnie zwiększającym się stężeniem sadzy w powietrzu Komisja Europejska wprowadziła Europejskie Normy Emisji Spalin (EURO), które ustalają dopuszczalne wartości emisji szkodliwych substancji takich jak: tlenki azotu ( $\text{NO}_x$ ), cząsteczki stałe, czyli głównie sadza (PM), węglowodory (HC) czy tlenki węgla (CO). Istota norm EURO polega na stopniowym zaostrzaniu granicznych wartości emisji spalin, które muszą spełnić pojazdy mechaniczne, aby mogły zostać dopuszczone do poruszania się na drogach Unii Europejskiej. Przemysł samochodowy przygotowuje się obecnie do działań mających na celu sprostać limitom narzuconym przez normę EURO 6. W Tabeli 1 przedstawiono jak zmieniały się dopuszczalne graniczne wartości emisji spalin na przestrzeni lat.

Tabela 1. Dopuszczalne wartości emisji spalin w poszczególnych normach EURO dla pojazdów z silnikiem wysokoprężnym [8]

Table 1. The exhaust emission limit values in different Euro standards for diesel vehicles [8]

g/km	EURO 1	EURO 2	EURO 3	EURO 4	EURO 5	EURO 6
CO	3,16	1	0,64	0,5	0,5	0,5
HC	–	0,15	0,06	0,05	0,05	0,05
$\text{NO}_x$	–	0,55	0,5	0,25	0,018	0,08
<b>PM</b>	<b>0,14</b>	<b>0,08</b>	0,05	0,009	0,005	0,005

Wprowadzone kolejno po sobie normy EURO mają na celu osiągnięcie celu, jaki został postawiony w Białej Księdze – „wprowadzenie technologii niezbędnych do przekształcenia unijnego systemu transportu w system nowoczesny, wydajny i przyjazny dla użytkownika” [9]. Spełnienie powyższych norm wymagało od producentów samochodów stworzenia zaawansowanych technicznie układów usuwania sadzy. Co prawda wyeliminowanie emisji sadzy z silników wysokoprężnych rozwiązuje tylko drobną część problemów związanych z jej antropogeniczną produkcją, ale stanowi dobry punkt wyjścia do ogólniejszej dyskusji. Rozważając możliwe sposoby usuwania sadzy ze źródeł stacjonarnych warto na początku przyjrzeć się doświadczeniom pochodzącym z obszaru zastosowań motoryzacyjnych.



## 2. KATALIZATORY DOPALANIA SADZY

Równolegle do zaostrzających się norm emisji spalin prowadzone są starania o ograniczenie emisji cząstek sadzy do atmosfery. Prace trwają jednocześnie w obszarach zapobiegania powstawaniu, oraz eliminacji powstałej sadzy. Rozwijane są nieustannie pomysły modyfikacji silników, między innymi przez optymalizację kształtu komory spalania oraz przez modyfikację wtrysku. Ponieważ jest to czasochłonne, więc rezultaty pojawiają się stopniowo, wraz z kolejnymi generacjami silników. W obszarze eliminacji powstałej sadzy sytuacja jest zróżnicowana. Oczyszczanie spalin z silników o zapłonie iskrowym nie stanowi obecnie problemu (katalizatory trójfunkcyjne skutecznie wyeliminowały emisję cząstek stałych z silników benzynowych) natomiast w przypadku silników wysokoprężnych technologie usuwania są mniej dopracowane. Jednym z najczęściej stosowanych sposobów eliminacji sadzy są filtry cząstek stałych zwane DPF (ang. *Diesel Particle Filters*) lub FAP (fr. *filtre á particules*). Filtry te: wyłapują, gromadzą, zagęszczają oraz spalają sadzę ze spalin. Do budowy takich filtrów używa się najczęściej tzw. monolitów z węgliku krzemu lub kordierytu ( $2\text{MgO}\cdot 2\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 5\text{SiO}_2$ ) z uwagi na ich wytrzymałość termiczną i mechaniczną [10]. Monolit taki ma postać przestrzennej struktury zbudowanej z porowatej ceramiki, która przepuszcza gazy wydechowe, ale zatrzymuje cząstki sadzy. Cząstki te osadzają się stopniowo na ściankach, a gdy filtr zostaje zapełniony następuje proces jego regeneracji, który polega na zwiększeniu temperatury i dopaleniu sadzy. Z czasem jednakże w filtrze gromadzą się trudne do spalania większe cząstki sadzy, co stopniowo zmniejsza jego skuteczność, dlatego poszukuje się wciąż nowych sposobów eliminacji sadzy. Sposobem na polepszenie skuteczności filtra DPF jest zastosowanie dodatkowego katalizatora dopalania osadzonego na ceramicznym monolicie. Sama sadza (bez wspomaganie) spala się w temperaturze powyżej  $550^\circ\text{C}$ , podczas gdy typowa temperatura gazów wydechowych z silnika wysokoprężnego zawiera się w przedziale  $200\text{--}400^\circ\text{C}$  [11] i dlatego zastosowany katalizator, powinien obniżyć temperaturę zapłonu sadzy do temperatur osiąganych w trakcie normalnej eksploatacji.

Wśród katalizatorów aktywnych w reakcji dopalania sadzy wyróżnić należy przede wszystkim metale szlachetne tj. platyna, rod czy pallad [12]. Katalizatory te charakteryzują się wysoką aktywnością w reakcji dopalania sadzy, jednakże biorąc pod uwagę ceny tych metali (50 tys. zł kg palladu, 175 tys. zł platyny, 300 tys. zł kg rodu) oraz rzadkość ich występowania wciąż poszukuje się nowych rozwiązań mających na celu znalezienie tańszych zamienników.

Jako alternatywę dla metali szlachetnych wyróżnić należy przede wszystkim materiały tlenkowe o strukturze perowskitu oraz spinelu. Katalizatory te są, co prawda mniej aktywne niż metale szlachetne, ale ze względu na swoją dostępność oraz niską cenę są coraz intensywniej badane.

Wspomniane materiały katalityczne pracują jako osadzone na nośniku, w tym przypadku na monolicie. Ich działanie jest uzależnione od szeregu czynników, z których najważniejsze to aktywność materiału, temperatura oraz fizyczny kontakt

między katalizatorem a dopalaną sadzą. Ten ostatni czynnik powoduje, że dopalanie zachodzi efektywnie dopiero, gdy filtr jest mocno zatkany sadzą, a to pogarsza efektywność i trwałość silników.

Oprócz katalizatorów nośnikowych można stosować tak zwane dodatki FBC (ang. *Fuel-Born Catalyst*), które są dodawane do paliwa w trakcie produkcji. W trakcie ich spalania z paliwem następuje wytworzenie aktywnej formy katalizatora, który eliminuje sadzę już na etapie jej wytwarzania. Dodatki te stanowią najczęściej koidalne połączenia organiczne, zawierające związki metali bloku d w postaci tlenków lub hydroksytlenków.

Aby rozważyć zastosowanie danego materiału katalitycznego w realnym procesie trzeba być pewnym, że materiał ten spełnia tak zwaną „zasadę 3E” czyli, że ma być efektywny, ekonomiczny i ekologiczny. Spełnienie tych warunków jest pierwszym sitem pozwalającym oddzielić materiały „interesujące poznawczo” od „interesujących aplikacyjnie”. Neef, Makkee i Moulijn [15] opracowali szereg aktywności katalitycznej tlenków metali w procesie utleniania sadzy:

Pb>Co>V>Mo>Fe>La>Mn>Sb>Bi>Ca>Cu>Ag>Ni>Cr>Zr>Ba>Zn>Ce>Mg>Nb>  
W>Sn>Ge

Jak wynika z niego materiałami, które najlepiej spełniają przytoczoną zasadę 3E są tlenki żelaza gdyż tlenki aktywniejszych metali (Pb, Co, V, Mo) są wysoce szkodliwe, tlenki o niskiej szkodliwości (np. Ca, Ag, Mg) są zbyt mało aktywne lub zbyt drogie.

Związki żelaza (np. hematyt czy maghemit) odgrywają i najprawdopodobniej nadal odgrywać będą znaczącą rolę jako katalizatory stosowane w reakcji utleniania sadzy. Wszystko to za sprawą wymagań technologii środowiskowych, które stosują katalizatory nieszkodliwe dla środowiska. W kontekście tym tlenki żelaza są obiecującymi materiałami do zastosowania jako katalizatory utleniania sadzy, ponieważ oprócz swojej wysokiej aktywności katalitycznej jako jedyne z pierwszej piątki szeregu aktywności są ekologiczne, tanie i łatwo dostępne [16–18].

### 3. KATALITYCZNE DOPALANIE SADZY

W spalinach silnika wysokoprężnego oprócz wcześniej wspomnianej sadzy obecny jest również tlenek węgla(IV)  $\text{CO}_2$ , tlenek węgla(II) CO, oraz tlenki azotu, NOx. Wśród tlenków azotu na szczególną uwagę zasługują tlenek azotu(II) NO i tlenek azotu(IV)  $\text{NO}_2$ . Najbardziej szkodliwym tlenkiem azotu jest brunatno czerwony tlenek azotu(IV),  $\text{NO}_2$ , który działa drażniąco na płuca oraz przyczynia się do obniżenia ciśnienia krwi. Głównym źródłem  $\text{NO}_2$  jest mniej szkodliwy NO, który w atmosferze ulega utlenieniu do  $\text{NO}_2$ . Źródłem tlenku azotu(II) jest azot, który zawarty jest w paliwie oraz azot cząsteczkowy z powietrza. Niedostateczne wymieszanie paliwa i powietrza warunkuje powstawanie tlenku węgla(II). Oprócz tego jest

on produktem spalania w piecach i kotłach opalanych węglem lub paliwami stałymi, spowodowanym zbyt krótkim czasem przebywania paliwa w wysokiej temperaturze [19].

Reakcja pomiędzy sadzą i  $\text{NO}_x$  w komorze spalań może być stosowana jako technika minimalizacji tych zanieczyszczeń, ponieważ obie, sadza i  $\text{NO}_x$ , mogą reagować ze sobą *in-situ* [20]. W wyniku tej reakcji mogą powstawać takie produkty w fazie gazowej jak:  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}$  i  $\text{CO}_2$  [21].

Mechanizm spalania sadzy zależy od wielu czynników m.in. od temperatury, procesów wymiany masy i ciepła, a także od właściwości reagujących ziaren sadzy i kontaktu pomiędzy nimi. Mimo wielu badań proces spalania sadzy jak i jego mechanizm jest trudny do ustalenia i nadal intensywnie badany. Schematycznie proces spalania sadzy możemy przedstawić następująco:



Badania prowadzone przez Setzera i in. potwierdziły, że tlenki metali, które łatwo zmieniają swój stopień utlenienia np. Fe, Cu, Co, są dobrymi katalizatorami utleniania sadzy [22].

Inne z kolei badania wykazują, że katalizatory posiadające mniejsze rozmiary krystalitów są aktywniejsze w reakcji dopalania sadzy, aniżeli te o większych rozmiarach. Przykładem są tu badania Wanga i in., którzy przeprowadzili pomiary termoprogramowanej desorpcji  $\text{O}_2$  ( $\text{O}_2$ -TPD) z katalizatora Au [23]. Przedstawione wyniki badań wskazują, że intensywność pików desorpcji tlenu znacznie maleje wraz ze wzrostem wielkości cząstek Au, co oznacza, że adsorpcja i aktywacja tlenu jest zależna od wielkości krystalitów katalizatora, zwłaszcza ilości powierzchniowych aktywnych form tlenu, których liczba wzrasta wraz z malejącym rozmiarem krystalitów katalizatora.

Tlenki metali przejściowych również zostały niejednokrotnie poddane badaniom nad wpływem rozmiaru ich krystalitów na aktywność katalityczną w reakcji dopalania sadzy. Przykładem jest tlenek ceru badany m.in. przez Bueno-Lopez [24]. Badania te wskazują, że  $\text{CeO}_2$  jest w stanie wymieniać tlen sieciowy z tlenem pochodzącym ze strumienia gazów wydechowych z silnika wysokoprężnego. Podczas zachodzącego procesu adsorpcji tlenu z fazy gazowej utworzone zostają reaktywne formy tlenu, które mogą być z kolei zaangażowane w proces utleniania sadzy. Im mniejsze rozmiary krystalitów posiada tlenek ceru, tym większa jest jego powierzchnia właściwa. Zwiększenie powierzchni właściwej katalizatora implikuje wzrost liczby możliwych miejsc adsorpcji tlenu, a co się z tym wiąże możliwość

utworzenia większej ilości powierzchniowych aktywnych form tlenu. Wysoce aktywne formy tlenu szybciej i łatwiej wchodzi w reakcje z sadzą prowadząc do utworzenia powierzchniowych kompleksów CO, które prowadzą ostatecznie do powstania CO<sub>2</sub> [24].

#### 4. MATERIAŁY ZAWIERAJĄCE TLENKI I HYDROKSYTLENKI ŻELAZA

Tlenki żelaza, oprócz zastosowania jako katalizatory w procesie utleniania sadzy, są stosowane w wielu dziedzinach przemysłu i techniki. Najdawniej były wykorzystywane jako barwniki, a ludzie pierwotni ozdabiali nimi ściany jaskiń, w których zamieszkiwali. Dwa najpopularniejsze barwniki to ochra żółta (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) i ochra czerwona (bezwodny tlenek żelaza(III)). Kolory te przez długi okres czasu były jedynymi kolorami, jakimi dysponowali ówcześni artyści. Przykładem wykorzystania tych barwników jest prehistoryczny rysunek konia w jaskini Lascaux, przy tworzeniu którego wykorzystane zostały żółta i czerwona ochra [25]. W miarę postępu cywilizacyjnego związku żelaza zaczęto wykorzystywać w metalurgii. Pierwsze żeliwo uzyskano około 2500 roku p.n.e., natomiast Era Żelaza rozpoczęła się dopiero około 1500 roku p.n.e. [26]. Pod koniec XIX wieku niemiecki chemik Hans Goldschmidt z mieszaniny sproszkowanego tlenku żelaza i pyłu aluminiowego utworzył termit, który do dnia dzisiejszego wykorzystywany jest do spawania szyn tramwajowych i kolejowych [27].



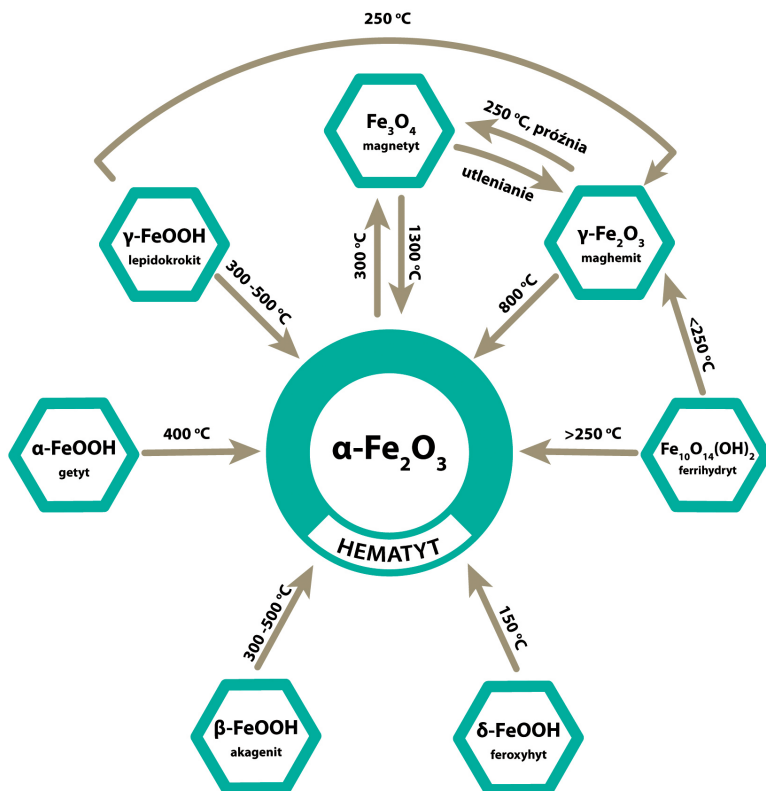
Rysunek 3. Prehistoryczny rysunek konia w jaskini Lascaux. Źródło: [http://www.mageist.net/Images/lascaux\\_horse.jpg](http://www.mageist.net/Images/lascaux_horse.jpg)

Figure 3. Prehistoric drawing of a horse from the Lascaux cave. Source: [http://www.mageist.net/Images/lascaux\\_horse.jpg](http://www.mageist.net/Images/lascaux_horse.jpg)

Z czasem zaczęto również wykorzystywać właściwości katalityczne tlenków żelaza stosując je jako katalizatory w syntezie Fischera Tropscha. Następnie znalazły zastosowanie jako adsorbenty metali ciężkich, materiały kontrastujące w obrazo-

waniu magnetycznego rezonansu jądrowego NMR lub dodatki do paliw typu FBC [28, 29]. Dzięki rozwiniętej powierzchni właściwej oraz właściwościom sorpcyjnym tlenki żelaza znalazły zastosowanie jako adsorbenty metali ciężkich.

Dzięki odpowiednim warunkom syntezy bądź też zastosowaniu odpowiedniej temperatury można przejść z poszczególnych związków żelaza w ich stabilniejsze formy. Przemiana praktycznie każdego ze związków żelaza w obecności tlenu prowadzi ostatecznie do hematytu ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) [30], który jest jednocześnie najpopularniejszym ze związków żelaza. Przemiany poszczególnych związków żelaza w hematyt przedstawiono na Rysunku 4.



Rysunek 4. Przejścia fazowe tlenków i hydroksytlenków żelaza  
Figure 4. Phase transitions of iron oxides and hydroxides

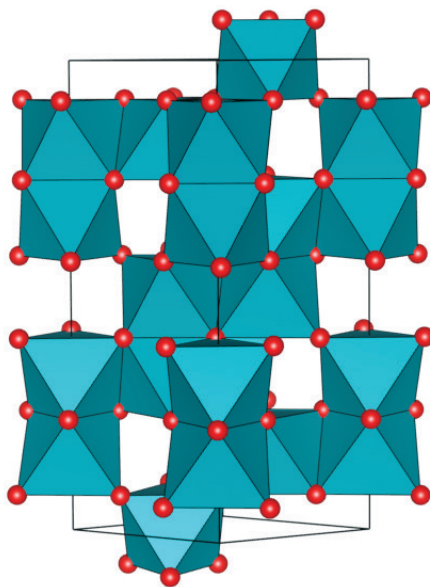
#### 4.1. HEMATYT $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$

Nazwa tego związku pochodzi od greckiego słowa *haema* znaczącego krew, z uwagi na jego barwę po sproszkowaniu. Pierwsze wzmianki o hematycie sięgają już 315 r. p.n.e., gdzie opisany został w dziełach greckiego filozofa Theophrastusa. Następnie w XVI w. badany był przez Williama Colchestera – ojca magnetyzmu,

jednak to *Działoszyńskiemu* przypisuje się dokładne zbadanie jego właściwości magnetycznych, klasyfikując go do grupy antyferromagnetyków. Hematyt swoje właściwości antyferromagnetyczne wykazuje poniżej temperatury Neela, tj. 675°C [31].

Od starożytności hematyt wykorzystywany jest jako ruda żelaza. Ponad to znalazł również zastosowanie jako czerwony pigment do produkcji farb, a w czasach współczesnych, ze względu na swoje właściwości katalityczne jako katalizator do utleniania CO [32], SO<sub>2</sub>, amoniaku [33] oraz propylenu [34]. Z uwagi na wspomniane wcześniej właściwości magnetyczne wykorzystywany jest również w produkcji dysków magnetycznych czy taśm [35].

Hematyt zbudowany jest z warstw oktaedrów FeO<sub>6</sub> połączonych ze sobą czołowo i krawędziami, co przedstawione zostało na Rysunku 5. Oktaedry obsadzone są w 2/3 przez jony żelaza(III), reszta natomiast to wakancje.



Rysunek 5. Struktura krystaliczna hematytu  
Figure 5. The crystal structure of hematite

Hematyt można otrzymać w reakcji rozkładu soli żelaza(III) np. azotanu lub siarczanu żelaza(III), w wyniku prażenia wodorotlenku żelaza(III), dehydratacji hydroksytlenków żelaza czy też ogrzewania ferrihydrytu w temp. ponad 250°C [36].

#### 4.2. MAGNETYT Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

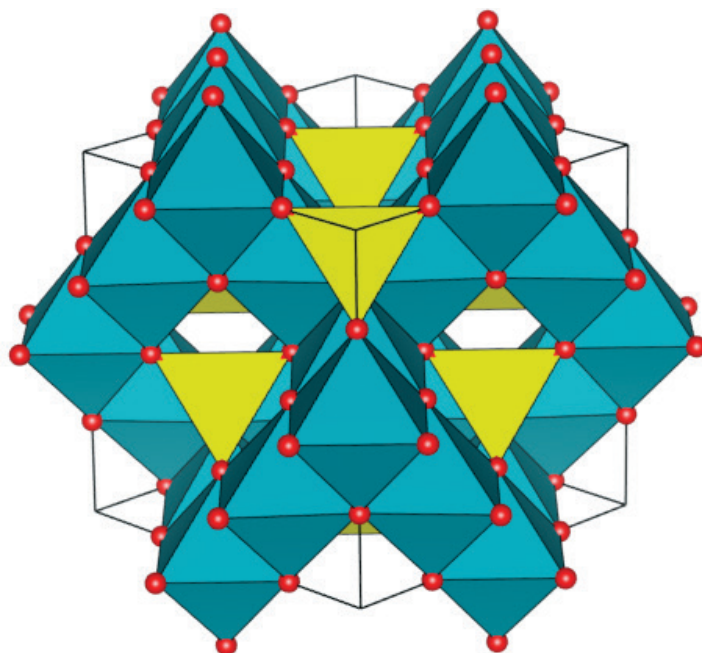
Magnetyt Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, zapisywany również jako FeO·Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> jest przedstawicielem ferrytów o mieszanej zawartości żelaza na II i III stopniu utlenienia. Występuje jako

minerał w skorupie ziemskiej i posiada naturalne własności magnetyczne. Magnetyt występuje w skałach magmowych, a lava wulkanu El Laco w Chile składa się praktycznie z czystego magnetytu i hematytu. Złoża magnetytu występują również w skałach głębinowych [41].

Kryształy magnetytu mają symetrię regularną, powyżej temperatury przejścia zwanego przejściem Verwey'a w temperaturze  $T_v \sim 120\text{K}$  [42] magnetyt krystalizuje w strukturze odwróconego spinelu (grupa przestrzenna  $Fd-3m$ ). W komórce elementarnej spinelu odwróconego znajdują się 32 jony  $O^{2-}$  pomiędzy którymi występują dwa rodzaje luk: tetraedryczne oraz oktaedryczne (Rys. 6). W strukturze tej 8 kationów żelaza  $Fe^{3+}$  zajmuje miejsca tetraedryczne, a 16 kationów zajmuje połowę miejsc w otoczeniu oktaedrycznym, których połowa jest zajęta przez jony żelaza  $Fe^{2+}$  a połowa przez jony  $Fe^{3+}$ . Wzdłuż kierunku (001) magnetyt posiada strukturę warstwową, a na komórkę elementarną składają się dwa rodzaje warstw tworząc w sumie ich 8. Jedne z nich zawierają tylko kationy żelaza w położeniach tetraedrycznych, drugie natomiast zawierają oktaedryczne jony żelaza oraz jony tlenu [43, 44]. Pomiedzy kationami żelaza w pozycjach oktaedrycznych powyżej  $T_v$  następuje przeskok elektronu tzw. hopping elektronowy. Dzięki ciągłej wymianie elektronów między jonami  $Fe^{2+}$  i  $Fe^{3+}$  w lukach oktaedrycznych magnetyt wykazuje wysokie przewodnictwo elektronowe. Brak kompensacji momentów magnetycznych, wynikający z ich niejednakowej liczby, czy też odmiennych własności jonów podsieci, powoduje, że magnetyt zaliczany jest do ferrimagnetyków. Momenty magnetyczne  $Fe^{3+}$  występujące w dwóch różnych, uporządkowanych podsieciach magnetytu kompensują się, w związku z czym, to jony  $Fe^{2+}$  występujące w lukach oktaedrycznych decydują o wypadkowym momencie magnetycznym magnetytu  $Fe_3O_4$  [45].

Magnetyt posiada szerokie zastosowanie m.in. jako katalizator do syntezy amoniaku, czujnik gazu, materiał elektrodowy, magnetyczny nośnik danych czy też materiał absorbujący mikrofalę ze względu na swoje właściwości dielektryczne i magnetyczne [46]. Właściwości magnetyczne magnetytu zanikają w temperaturze  $580^\circ\text{C}$ . Zjawisko to ma bardzo duże zastosowanie praktyczne i wykorzystywane jest do prognozowania wybuchów wulkanów. Zbliżający się wylew lawy jest sygnalizowany zmniejszeniem natężenia pola magnetycznego. Kryształy magnetytu są czarne, mają postać ośmiościanów i ich kombinacji. Magnetyt to najbogatsza ruda żelaza i zaraz obok hematytu stanowi główny surowiec do otrzymywania żelaza [41].





Rysunek 6. Struktura krystaliczna magnetytu  
Figure 6. The crystal structure of magnetite

### 4.3. MAGHEMIT $\Gamma$ - $\text{Fe}_2\text{O}_3$

Maghemit wykazujący podobieństwo do hematytu jest jednak mniej od niego stabilnym tlenkiem żelaza. Struktura maghemitu jest bardzo podobna do magnetytu (struktura spinelu) jednak w maghemicie występuje lepsze uporządkowanie wakancji niż w hematycie. W maghemicie jedna z sześciu możliwych pozycji oktaedrycznych pozostaje trwale nieobsadzona jonem metalu. Powoduje to obniżenie symetrii z regularnej  $Fd\text{-}3m$  do tetraedrycznej  $P4_3 2_1 2$  [37, 38]. Maghemit ze względu na swoje silne właściwości magnetyczne znalazł zastosowanie w magnetycznych nośnikach pamięci oraz w przemyśle medycznym dzięki swojej stabilności chemicznej i kompatybilności biologicznej.

Nanocząstki maghemitu wykazują w temperaturze pokojowej właściwości superparamagnetyczne i zostają silnie namagnesowane po przyłożeniu zewnętrznego pola magnetycznego. Dzięki temu możliwe jest dokładne sterowanie ruchem nanocząstek poprzez zewnętrzne pole, a co z tym idzie wykorzystanie ich do precyzyjnego dostarczania leków w konkretne miejsca organizmu [39]. Nanocząstki maghemitu wykorzystywane są w urządzeniach magnetoptycznych, jako kontrast w metodzie obrazowania rezonansu magnetycznego oraz jako katalizatory utlenia-



nia glukozy w ogniwach paliwowych. W ostatnich czasach maghemit wykorzystywany jest również do zastosowań środowiskowych jako fotokatalizator [40].

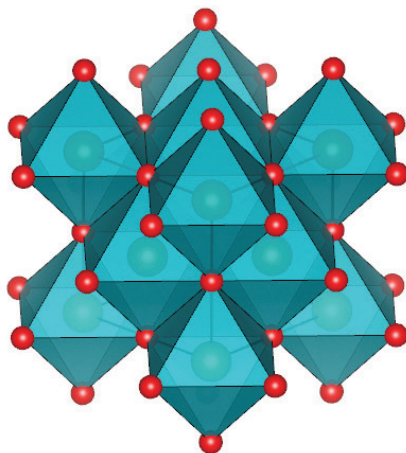
Maghemit można otrzymać w wyniku ogrzewania lepidokrokitu lub magnetytu, poprzez utlenianie roztworu  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  w temperaturze pokojowej bądź też ogrzewając ferrihydryt w obecności substancji organicznych [36].

#### 4.4. WUSTYT $\text{FeO}$

Wustyt  $\text{FeO}$  jest niestechiometrycznym tlenkiem charakteryzującym się niedoborem żelaza, przez co możemy go zapisać jako  $\text{Fe}_{1-x}\text{O}$ , gdzie  $x$  należy do przedziału 0,05–0,15. Tlenek ten stanowi trwałą fazę tylko powyżej  $570^\circ\text{C}$ . Kiedy temperatura spada poniżej  $200^\circ\text{C}$  przechodzi w stan metastabilny i ulega dysproporcjonowaniu na metaliczne żelazo i magnetyt  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  [47].



Wustyt można otrzymać np. w wyniku wysokotemperaturowego rozkładu szczawianu żelaza(II) w atmosferze beztlenowej lub też poprzez ogrzewanie mieszaniny granulowanego hematytu i żelaza w temperaturze  $837^\circ\text{C}$  w szczelnie zamkniętej rurce krzemionkowej przez 24 h, a następnie hartowanie w ciekłym azocie  $\text{N}_2$ . Wustyt otrzymany tymi metodami ma postać czarnego proszku [48]. Jeśli tlenek żelaza(II) otrzymamy pod ciśnieniem atmosferycznym, wówczas ma niedomiar Fe i tworzy wcześniej wspomniany  $\text{Fe}_{1-x}\text{O}$ .



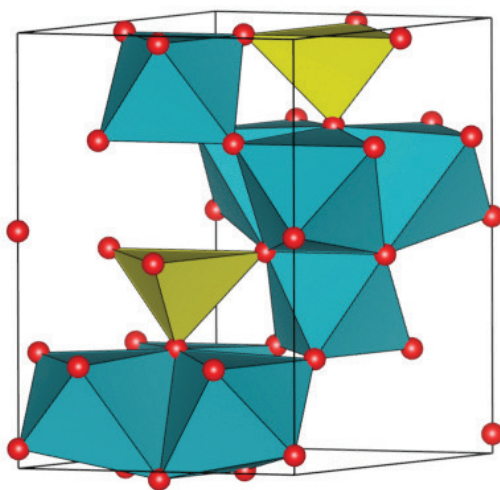
Rysunek 7. Struktura krystaliczna wustytu  
Figure 7. The crystal structure of wustytu

Kryształ uzyskuje swoją elektryczną obojętność poprzez usunięcie jednego jonu  $\text{Fe}^{2+}$  i utlenienie 2 innych jonów  $\text{Fe}^{2+}$  do  $\text{Fe}^{3+}$  [48]. Jony  $\text{Fe}^{2+}$  preferują zajmowanie

miejsc oktaedrycznych, natomiast jak wskazują badania przeprowadzone metodą rozpraszania neutronów i rozpraszania promieni X jony  $\text{Fe}^{3+}$  preferują zajmowanie miejsc w koordynacji tetraedrycznej. Strukturę krystaliczną wustytu przedstawiono na Rysunku 7. Wustyt otrzymany w temperaturze ok.  $1030^\circ\text{C}$  zmienia swój skład w granicach  $\text{Fe}_{0,946}\text{O}$ - $\text{Fe}_{0,815}\text{O}$ . W niższych temperaturach granice te są węższe i w temperaturze  $570^\circ\text{C}$  mamy  $\text{Fe}_{0,93}\text{O}$ , a w temperaturach jeszcze niższych mamy do czynienia z dysproporcjonowaniem na  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  [48]. We wszystkich tych preparatach struktura sieci przestrzennej typu NaCl nadal pozostaje zachowana. Wustyt ujawnia swoje właściwości antyferromagnetyczne poniżej temperatury Neel'a ( $T_N = 200\text{K}$ ), [47].

#### 4.5. FERRIHYDRYT

Ferrihydryt jest powszechny w przyrodzie i szeroko wykorzystywany w wielu gałęziach przemysłu m.in. przemyśle metalurgicznym [49]. Ze względu na swoją wyjątkowo dużą powierzchnię właściwą ( $100\text{--}700\text{ m}^2/\text{g}$ ) i reaktywność ferrihydryt odgrywa istotną rolę w eliminacji zanieczyszczeń ze środowiska. Dodatkowo jest wykorzystywany jako pochłaniacz metali ciężkich i niemetali w procesie oczyszczania ścieków [50].



Rysunek 8. Struktura krystaliczna ferrihydrytu

Figure 8. The crystal structure of ferrihydrite

Ferrihydryt występuje jako „ferrihydryt dwuliniowy” lub „ferrihydryt sześcioliniowy” ze względu na liczbę maksimum dyfrakcyjnych obserwowanych w dyfrakcji rentgenowskiej. Materiały te różnią się między sobą stopniem krystaliczności. „Ferrihydryt dwuliniowy” jest materiałem wykazującym bardzo małą krystaliczność, a „ferrihydryt sześcioliniowy” odznacza się zdecydowanie większym stopniem

krystaliczności. Małe rozmiary ziaren ferrihydrytu oraz jego mała krystaliczność powodują trudności w ustaleniu jego struktury krystalicznej. Jak słusznie zauważył Drits istnieje kilka zaproponowanych modeli strukturalnych dla ferrihydrytu, jednakże żaden z nich nie jest uniwersalny [51].

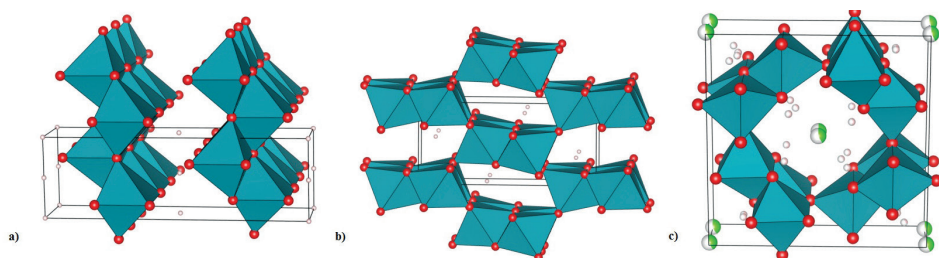
Ferrihydryt o rozmiarach ziaren 2 do 6 nm jest zaliczany do grupy przestrzennej  $P6_3mc$ . Dla tak zaproponowanej struktury, wzór ferrihydrytu jest przedstawiany jako  $Fe_{10}O_{14}(OH)_2$ . Ze względu na zmienną zawartość wody w ferrihydrylicie żaden wzór chemiczny nie został jednak jednoznacznie zaakceptowany. Różne dane literaturowe przedstawiają wzór ferrihydrytu w odmienny sposób m.in.  $Fe_5HO_8 \cdot 4H_2O$ ,  $5Fe_2O_3 \cdot 9H_2O$ ,  $Fe_6(O_4H_3)_3$ ,  $Fe_2O_3 \cdot 2FeOOH \cdot 2,6H_2O$ . Zaproponowana przez Marck Michel'a struktura ferrihydrytu (Rys. 8) w swojej idealnej postaci składa się w 20% z tetraedrów  $FeO_4$  i 80% z oktaedrów  $FeO_6$  [52].

#### 4.6. LEPIDOKROKIT, AKAGENIT, GETYT

Lepidokrokit  $\gamma$ - $FeOOH$  należy do grupy hydroksotlenków żelaza  $FeO(OH)$  i jest izostrukturalny względem bohemitu ( $\gamma$ - $AlOOH$ ). Zbudowany jest z podwójnych warstw oktaedrów  $FeO_3(OH)_3$ , które połączone krawędziami tworzą zygzakowate warstwy połączone ze sobą wiązaniami wodorowymi. Strukturę krystaliczną lepidokrokitu przedstawiono na Rysunku 9a.

Lepidokrokit w ostatnich latach znalazł zastosowanie jako materiał w procesach fotokatalitycznych do zastosowań środowiskowych. Zastosowanie takie obejmuje m.in. fotodegradację związków chelatujących, barwników organicznych jak i również fotolizę soli metali ciężkich [53].

Jednym ze sposobów otrzymania lepidokrokitu jest utlenianie  $Fe(OH)_2$  w powietrzu w postaci zawiesiny przy pH około 7 lub jak też donoszą inne dane literaturowe poprzez utlenianie wodnych roztworów żelaza ( $Fe^{2+}$  i  $Fe^{3+}$ ) przy pH ok. 7 lub lekko kwaśnym [36]. Zestawienie właściwości charakteryzujących lepidokrokit oraz innych hydroksytlenków żelaza przedstawiono w Tabeli 2.



Rysunek 9. Struktura krystaliczna a) lepidokrokitu; b) getyту; c) akagenitu  
Figure 9. Crystal structures of a) lepidocrocite; b) goethite; c) akagenite

Akagenit  $\beta$ -FeOOH podobnie jak lepidokrokit należy do grupy hydroksytlenków żelaza o wzorze ogólnym FeO(OH) i jest izostrukturalny względem holandytu. Ze względu na to, że zwykle posiada pewne ilości chloru (2–6%; Keller, 1970), jego wzór możemy zapisać jako  $\beta$ -FeOOH·Cl<sub>n</sub>.

Jego nazwa pochodzi od kopalni Akaganè znajdującej się w Japonii. Akagenit jest dosyć rzadkim minerałem występującym w naturze. Ze względu na swoją interesującą budowę akagenit znalazł zastosowanie jako jonowymieniacz, w chromatografii, a także materiał w katalizie jako prekursor katalizatorów hydrokrakingowych, stąd jego zainteresowanie wzrosło znacznie w przeciągu kilkunastu lat.

Zbudowany jest z podwójnych warstw oktaedrów FeO<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>, połączonych krawędziami, które tworzą kwadratowe kanały molekularne o średnicy wewnętrznej 30 Å i zewnętrznej 60 Å, ograniczone czterema podwójnymi rzędami oktaedrów. Kanały te są na tyle duże, aby pomieścić aniony typu F<sup>-</sup> czy OH<sup>-</sup>, a także cząsteczki obojętne takie jak H<sub>2</sub>O. Struktura kanałów w akagenicie jest stabilizowana obecnością anionów chlorkowych, które naturalnie występują w jego strukturze, a ewentualne przemycie wodą sprawia, że w niewielkich ilościach, ale nadal pozostają w jego strukturze [54].

Akagenit otrzymywany poprzez hydrolizę wodnych roztworów chlorku żelaza(III), w zakresie pH 3–5, może służyć również jako prekursor do otrzymywania hematytu, getytu, czy magnetytu. Uzyskanie akagenitu przy pH powyżej 5 staje się niemożliwe, ponieważ przy wyższych wartościach pH jony wodorotlenkowe konkurują z jonami chlorkowymi o miejsca w strukturze [36].

Tabela 2. Właściwości charakteryzujące hydroksytlenki żelaza  
Table 2. Characterizing the properties of iron hydroxyoxides

Związek	Lepidokrokit	Getyt	Akagenit
Barwa	pomarańczowa	brązowożółta	żółtobrązowa
Właściwości magnetyczne	antyferromagnetyk	antyferromagnetyk	antyferromagnetyk
Układ krystalograficzny	rombowy	rombowy	jednoskośny
Gęstość [g/m <sup>3</sup> ]	4.09	4.26	3.56
Grupa przestrzenna	Cmc2 <sub>1</sub>	Pnma	I2/m

Getyt  $\alpha$ -FeOOH to żółtobrązowy minerał, zaliczany do grupy hydroksytlenków żelaza. Obok hematytu to jeden z najbardziej stabilnych termodynamicznie tlenków żelaza, przez co również najbardziej rozpowszechniony w przyrodzie. Występuje m.in. w skałach, glebach, jeziorach czy też osadach. Swoją nazwę zawdzięcza nazwisku niemieckiego poety Goethego.

Getyt zachowuje się jak materiał antyferromagnetyczny z temperaturą Neela ok. 400K. Posiada strukturę diasporu ( $\alpha$ -AlOOH) i zbudowany jest z podwójnych warstw oktaedrów FeO<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub> połączonych ze sobą krawędziami i tworzącymi tunele oktaedrów 2x1, przecięte mostkami wodorowymi.

Ogólnie getyt może być produktem utleniania, rozkładu, wietrzenia, hydrolizy pirytu, syderytu, magnetytu czy krzemianów zawierających żelazo.

Dzięki swojej dużej powierzchni właściwej, powyżej 200 m<sup>2</sup>/g, getyt jest w stanie adsorbować duże ilości kationów metali ciężkich, anionów i oksyanionów, a także zanieczyszczeń organicznych (np. wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne), przez co znalazł zastosowanie w filtrach do oczyszczania gazów. Getyt jest uważany również za wzorzec żółcieni (żółcień żelazowa) i stosowany jest w produkcji farb, jako dodatek do cementu, spoiw oraz klejów, dzięki swojej wytrzymałości temperaturowej do 350°C. Powyżej tej temperatury getyt przechodzi stopniowo w hematyt [55, 56].

## PODSUMOWANIE

Dbając o stabilność środowiska w którym żyjemy, jesteśmy zmuszeni usuwać czynniki zaburzające przebieg naturalnych procesów zanim ich oddziaływanie prze-modeluje warunki życia na ziemi. Obecnie starania o eliminację sadzy przebiegają w trzech obszarach: dużych instalacji przemysłowych (huty, elektrownie, zakłady chemiczne etc.), transportu oraz rozproszonych drobnych źródeł (np. gospodarstwa domowe). Dotychczas wprowadzone technologie dotyczą dwóch pierwszych obszarów. Obecnie wyzwaniem jest eliminacja sadzy, która powstaje w lokalnych kotłowniach opalanych olejem. Prace nad tym tematem prowadzone między innymi na Uniwersytecie Jagiellońskim i w Instytucie Nafty i Gazu dają nadzieję, że problem zostanie rozwiązany przez opracowanie dodatków do oleju opałowego zapewniających minimalizację emisji sadzy. Na obecnym etapie badań wiele wskazuje, że omówione powyżej tlenki żelaza mogą być elementem proponowanego rozwiązania. Na zakończenie pragnę podziękować Narodowemu Centrum Badań i Rozwoju za finansowanie projektu „Opracowanie wielofunkcyjnego pakietu dodatków zawierającego innowacyjny modyfikator procesu spalania typu FBC (ang. *Fuel Born Catalyst*) do lekkiego oleju opałowego”, w ramach którego pracowałam przygotowując ten artykuł.

## PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] C. Bocheński, *Wieloskładnikowy model procesu tworzenia się sadzy w silniku z zapłonem samoczynnym*, Archiwum Motoryzacji, Warszawa, 2000.
- [2] J. Ocioszyński, *Elektrotechnika i elektronika pojazdów samochodowych*, WSiP, Lublin, 1996.
- [3] B.A.A.L. Van Setten, M. Makkee, J.A. Moulijn, *Cat. Rev. - Sci. Eng.*, 2001, **43**, 489.
- [4] B. Kumfer, I. Kennedy, *The role of soot in the health effects of inhaled airborne Particles*. [online] Proceedings of an International Workshop held in Villa Orlandi, Karlsruhe University Press, [dostęp: 2014-09-20]. Dostępny w Internecie: [http://www.researchgate.net/publication/239483855\\_Structural\\_effects\\_on\\_the\\_oxidation\\_of\\_soot\\_particles\\_by\\_O\\_2\\_Experimental\\_and\\_theoretical\\_study](http://www.researchgate.net/publication/239483855_Structural_effects_on_the_oxidation_of_soot_particles_by_O_2_Experimental_and_theoretical_study)

- [5] T.H. Painter, M.G. Flanner, G. Kaser, R.A. Van Curen, W. Abdalati, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, **110**, 15216.
- [6] S. Menon, J. Hansen, L. Nazarenko, Y. Luo, Science, 2002, **297**, 2250.
- [7] <http://news.astronet.pl/2526> [dostęp: 2014-08-22]
- [8] <http://www.zapulawy.pl/404-adblue%C2%AE/lang/pl-PL/default.aspx>. [dostęp: 2014-08-22]
- [9] Komisja Europejska. Biała Księga. Plan utworzenia jednolitego europejskiego obszaru transportu - dążenie do osiągnięcia konkurencyjnego i zasobooszczędnego systemu transportu; Innowacje na przyszłość: technologia i zachowanie, 2011, Bruksela.
- [10] D. Fino, Sci. Technol. Adv. Mater., 2007, **8**, 93.
- [11] P. Legutko, S. Stelmachowski, M. Trębala, Z. Sojka, A. Kotarba, Top. Catal., 2013, **56**, 489.
- [12] [http://www.uj.edu.pl/documents/1587933/6580997/2010\\_uj\\_oferta121.pdf](http://www.uj.edu.pl/documents/1587933/6580997/2010_uj_oferta121.pdf) [dostęp: 2014-08-22]
- [13] D. Fino, N. Russo, E. Cauda, G. Saracco, V. Specchia, Catal. Today, 2006, **114**, 31.
- [14] P. Doggali, H. Kusaba, S. Rayalu, Y. Teraoka, N. Labhsetwar, Top. Catal., 2013, **56**, 457.
- [15] J.P.A. Neef, M. Makkee, J.A. Moulijn, Chem. Eng. J., 1996, **64**, 295.
- [16] G. Mul, F. Kapteijn, C. Doornkamp, J.A. Moulijn, J. Catal., 1998, **179**, 258.
- [17] D. Reichert, H. Bockhorn, S. Kureti, Appl. Catal., B, 2008, **80**, 248.
- [18] Z. Zhang, D. Han, S. Wei, Y. Zhang, J. Catal., 2010, **16**, 276.
- [19] M. Wilk, *Badanie wpływu ozonu na proces spalania gazu*, praca doktorska, AGH, Kraków, 2007.
- [20] C. Arnal, M.U. Alzueta, A. Millera, R. Bilbao, Combust. Sci. Technol., 2012, **184**, 1191.
- [21] K. Leistner, A. Nicolle, P. Da Costa, J. Phys. Chem. C, 2012, **116**, 4642.
- [22] C. Setzer, W. Schutz, F. Schuth, Stud. Surf. Sci. Catal., 1993, **75**, 2629.
- [23] Y. Wei, J. Liu, Z. Zhao, H. He, X. Wang, Energ. Environ. Sci., 2011, **4**, 2959.
- [24] A. Bueno-López, Appl. Catal., B, 2014, **146**, 1.
- [25] J.R. Barnett, S. Miller, E. Pearce, Opt. Laser Technol., 2006, **38**, 445.
- [26] D.M. Stefanescu, Mater. Sci. Eng., A, 2005, **413**, 322.
- [27] <http://history.evonik.com/sites/geschichte/en/chemicals/inventions/goldschmidt/thermit/Pages/default.aspx>. [dostęp: 2014-08-22]
- [28] A.K. Gupta, M. Gupta, Biomaterials, 2005, **26**, 3995.
- [29] H. Dąbkowska-Naskręt, *Natural and synthetic iron oxides as adsorbents of trace elements in soils*. [online], Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, [dostęp: 2014-08-22] Dostępny w Internecie: [http://www.ios.edu.pl/pol/pliki/nr41/nr41\\_71.pdf](http://www.ios.edu.pl/pol/pliki/nr41/nr41_71.pdf)
- [30] N.S. Clarke, P.G. Hall, Langmuir, 1991, **7**, 672.
- [31] A. Rodriguez-Fernandez, J.A. Blanco, S.W. Lovesey, V. Scagnoli, U. Staub, H.C. Walker, D.K. Shukla, J. Stempfer, Phys. Rev. B., 2013, **88**, 437.
- [32] M.H. Khedr, K.S. Abdel Halim, M.I. Nasr, A.M. El-Mansy, Mat. Sci., Eng. A, 2006, **430**, 40.
- [33] T.P. Trainor, A.M. Chaka, P.J. Eng, J.G. Catalano, G.E. Brown, Surf. Sci., 2004, **573**, 204.
- [34] G. Samsonov, *The Oxide Handbook*, IFI/Plenum, New York, 1973.
- [35] I.V. Golosovsky, I. Mirebeau, F. Fauth, D.A. Kurdyukov, Yu.A. Kumzerov, Solid State Commun., 2007, **141**, 178.
- [36] R.M. Cornell, U. Schwertmann, *The Iron Oxides*, second ed., VCH, New York, 2003.
- [37] A.M. Jubb, H.C. Allen, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2010, **10**, 2804.
- [38] [http://www.emg.tu-bs.de/forschung/material/maghemite\\_d.html](http://www.emg.tu-bs.de/forschung/material/maghemite_d.html) [dostęp: 2014-08-22]
- [39] P. Gould, Nanotoday, 2006, **1**, 34.
- [40] S. Zhao, H.Y. Wu, L. Song, O. Tegus, S. Asuha, J. Mater. Sci., 2009, **44**, 926.
- [41] <http://www.mt.com.pl/magnetyt>, [dostęp: 2014-08-22]
- [42] E.J.W. Verwey, Nature, 1939, **144**, 327.
- [43] E.J.W. Verwey, P.W. Haayman, C.W. Romeijn, J. Chem. Phys. 1947, **15**, 181.

- 
- [44] F.C. Voogt, T. Fujii, P.J.M. Smulders, L. Niesen, M.A. James, T. Hibma, *Phys. Rev. B*, 1999, **60**, 11193.
- [45] G.H. Ibach, M. Luth, *Fizyka ciała stałego*, WNT, Warszawa, 1996.
- [46] G.X. Tong, W.H. Wu, J.G. Guan, H.S. Qian, J.H. Yuan, W. Li, *J. Alloys Compd.*, 2011, **509**, 4320.
- [47] F. Schrettlea, Ch. Kant, P. Lunkenheimer, F. Mayr, J. Deisenhofer, A. Loidl, *Eur. Phys. J. B*, 2012, **85**, 164.
- [48] A. Bielański, *Podstawy chemii nieorganicznej, cz. 2*, PWN, Warszawa, 2005.
- [49] G.P. Huffmanet, *Energy Fuels*, 1993, **7**, 285.
- [50] A. Lewin, G.R. Moore, N.E. Le Brun, *Dalton Trans.*, 2005, 3597.
- [51] J.L. Jambor, J.E. Dutrizac, *Chem. Rev.*, 1998, **98**, 2549.
- [52] F. Marc Michel, *Science*, 2007, **316**, 1726.
- [53] P. Borer, S.J. Hug, B. Sulzberger, S.M. Kraemer, R. Kretzschmar, *J. Phys. Chem. C.*, 2007, **111**, 10560.
- [54] P. Keller, *J. Alloys Compd.*, 1970, **113**, 29.
- [55] U. Schwertmann, R.M. Cornell, *Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization*, Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 1991.
- [56] R.M. Cornell, U. Schwertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses*, Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2003.

Praca wpłynęła do Redakcji 13 września 2014





## SPIS TREŚCI

Renata KOŁODZIEJSKA, Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA, Marcin WRÓBLEWSKI, Beata AUGUSTYŃSKA: Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Dehydrogenazy w reakcji redukcji – Część I . . . . .	763
Joanna CZULAK, Andrzej TROCHIMCZUK, Anna JAKUBIAK-MARCINKOWSKA: Polimery z odciskiem molekularnym jako biomimetyki metaloenzymów . . . . .	783
Katarzyna KULIK, Janina BARANIAK: Pronukleotydy o strukturze amidofosforanów i ich wewnątrzkomórkowy mechanizm aktywacji . . . . .	811
Katarzyna GODLEWSKA, Izabela MICHALAK, Katarzyna CHOJNACKA: Glony na zdrowie . . . . .	833
Ewa WITEK: „Horyzonty Nauki 2014 – Forum Prac Dyplomowych” . . . . .	853
Monika BAKIERSKA, Agnieszka CHOJNACKA: Akumulatory litowe jako współczesne systemy magazynowania energii . . . . .	855
Marta Agnieszka MOLEND: Syntetyczne odpowiedniki fosfoenolopirogronianu, czyli jak naśladować biosyntezę kwasów ułożonowych. . . . .	873
Artur Jarema WÓJCIK: Wielowarstwowe filmy polimerowe otrzymanywane metodą LBL – warstwa po warstwie (ang. <i>Layer-by-layer</i> ): rozwój i zastosowanie . . . . .	897
Anna KOPACZ: W pogoni za sadzą . . . . .	919
<b>Informacje</b> . . . . .	941

## W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAZĄ SIĘ:

- Agnieszka HRYNIEWICKA: Synteza i zastosowanie nowych katalizatorów metatezy olefin
- Michalina ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA, Maria SWARCEWICZ: Skład chemiczny i aktywność biologiczna lawendy lekarskiej
- Aleksander DARECKI, Henryk GÓRECKI: Selen w perspektywie fortyfikacji roślin o znaczeniu gospodarczym dla Polski
- Agnieszka DROŹDŹ, Rafał BIELAS, Anna CHROBOK: Dwie dekady chemo-enzymatycznej reakcji Baeyera-Villigera
- Renata KOŁODZIEJSKA, Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA, Marcin WRÓBLEWSKI, Beata AUGUSTYŃSKA: Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Reakcje Redukcji. Część II