

WIADOMOŚCI *chemiczne*

A1263 Ĺ

DŁ.3

2009

(63)

11-12



NANOCZĄSTKI METALI PRZEJŚCIOWYCH – SYNTEZA I AKTYWNOŚĆ KATALITYCZNA

TRANSITION METAL NANOPARTICLES – SYNTHESIS AND CATALYTIC ACTIVITY

Andrzej Gniewek, Anna M. Trzeciak

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

Abstract

Wprowadzenie

1. Synteza koloidów metali
 - 1.1. Chemiczne otrzymywanie nanocząstek
 - 1.2. Zarodkowanie i wzrost nanokryształów
 - 1.3. Stabilizacja nanocząstek
2. Zastosowania nanocząstek metali w katalizie
 - 2.1. Nanocząstki palladu
 - 2.2. Nanocząstki niklu
 - 2.3. Nanocząstki kobaltu
 - 2.4. Nanocząstki żelaza

Epilog

Piśmiennictwo cytowane

Pamięci prof. Józefa J. Ziółkowskiego



Prof. dr hab. Anna M. Trzeciak ukończyła studia chemiczne na Uniwersytecie Wrocławskim w 1977 r., w 1981 r. obroniła pracę doktorską, której promotorem był prof. J.J. Ziółkowski. Stopień doktora habilitowanego uzyskała w 1991 r., a tytuł profesora w 2000. Obecnie jest profesorem zwyczajnym na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, kieruje Zakładem Dydaktycznym Chemii Nieorganicznej i Zespołem Badawczym Katalizy Homogenicznej. Jej specjalność naukowa to chemia nieorganiczna, chemia koordynacyjna, kataliza homogeniczna i nanokataliza. Jest autorką lub współautorką 121 publikacji i ponad 150 komunikatów konferencyjnych. Należy do American Chemical Society, Royal Society of Chemistry i PTChem. Od 2005 pełni funkcję prodziekana Wydziału Chemii UWr. ds. Nauki.



Dr inż. Andrzej Gniewek ukończył w 2001 roku studia w zakresie Inżynierii Materiałowej na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej. W roku 2003 rozpoczął studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego pod promotorską opieką prof. Józefa J. Ziółkowskiego. W tym czasie jego główna aktywność naukowa skupiona była na badaniach układów nanocząstkowych metali przejściowych. W czerwcu 2009 roku obronił pracę doktorską zatytułowaną „Nanocząstki palladowe i rodowe aktywne w reakcjach katalitycznych”. Obecnie, pracując na stanowisku

asystenta na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, prowadzi dalej badania nad materiałami nanostrukturalnymi.

ABSTRACT

Transition metal nanoparticles (also called metal colloids or nanoclusters) are ordered multi-atom sets characterized by a very small size, generally less than 20 nm. They are intermediate species between single atoms and crystals of macroscopic dimensions [1–8]. Nanoparticles have been synthesized by a variety of methods. The most common synthetic procedures involve chemical reduction of transition metal salts or complexes. By the choice of reduction conditions (kind of the reducing agent, type of the stabilizing agent and the elementary reaction parameters like temperature and concentration) it is possible to obtain colloids showing different particle sizes and morphologies. These two factors play a decisive role from the point of view of catalytic activity of nanoclusters.

Palladium nanoparticles have been obtained by chemical reduction of PdCl_2 aqueous solution using pyrogallol, hydrazine or chromium(II) acetate as the reducing agent. All these systems have demonstrated a very high catalytic activity in important carbon-carbon bond forming reactions (methoxycarbonylation, Heck and Suzuki processes) carried out under mild conditions [48, 49]. Some of the C–C coupling reactions have also been successfully catalyzed by nickel nanoparticles, however they require more harsh conditions [65, 66].

Cobalt and iron nanoparticles present magnetic properties attractive for application of these materials as removable electronic media of high capacity, as well as biosensors or magnetic probes for biological imaging and therapeutic use [9, 18]. The extreme reactivity of nanoparticles, specifically towards oxygen and water, complicates their synthesis, however it is also beneficial in catalytic applications [16, 17]. Conversion of CO/H_2 mixture to hydrocarbons, known as Fischer-Tropsch synthesis, representing one of the most important routes to fuels production, is catalyzed very effectively by iron and cobalt nanoparticles. Monometallic and bimetallic cobalt nanoparticles are excellent catalysts of Pauson-Khand type couplings leading to cyclopentanones [17].




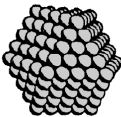
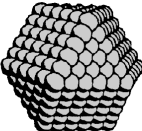
Keywords: metal nanoparticles, metal colloids, catalysis, C-C bond forming reactions, Fischer-Tropsch process

Słowa kluczowe: nanocząstki metali, koloidy metali, kataliza, reakcje tworzenia wiązań C–C, reakcja Fischera-Tropscha

WPROWADZENIE

Nanocząstki metali są to uporządkowane zespoły wieloatomowe, odznaczające się bardzo niewielkimi rozmiarami, stanowiące formę pośrednią pomiędzy pojedynczymi atomami a kryształami o makroskopowych rozmiarach [1–7]. Układy tego typu są również nazywane nanoklasterami metalicznymi bądź koloidami [8].

Fizyczne oraz chemiczne właściwości nanokoloidów różnią się znacząco od właściwości kompleksów monomolekularnych lub tych samych chemicznie czystych metali występujących w postaci większych kryształów lub agregatów. Istotnymi czynnikami determinującymi charakterystykę takich układów jest zarówno wielkość cząstek, jak i morfologia, rozumiana jako kształt i struktura powierzchni. Powszechnie uważa się, że swoją wysoką reaktywność nanocząstkowe klastera metaliczne zawdzięczają faktowi, iż duża część atomów znajduje się na ich powierzchni. Widać to chociażby na przykładzie przypadku modelowego (Rys. 1), gdzie kolejne warstwy atomowe są sukcesywnie upakowane wokół jednego atomu centralnego [7]. Wraz ze wzrostem liczby atomów w cząstce spada ich udział procentowy na powierzchni, co w rezultacie może zmieniać charakter klastera. Jednak w rzeczywistości cząstki metali przejściowych nie zawsze przyjmują idealne kształty typowe dla kryształów, a uzyskiwana morfologia na ogół zależy znacząco od zastosowanej metody syntezy.

Idealna forma nanoklastera metalicznego					
Liczba warstw	1	2	3	4	5
Liczba atomów w nanocząstce	13	55	147	309	561
Procent atomów na powierzchni	92	76	63	52	45

Rysunek 1. Wyidealizowany schemat upakowania w nanoklasterze metalicznym, każdy z atomów posiada maksymalną liczbę sąsiadów [7]

Figure 1. Idealized representation of metal nanocluster packing, each atom has the maximum number of nearest neighbours [7]

Jednym z powodów ogromnego zainteresowania nanocząstkami, takich metali jak Fe, Co i Ni, są ich właściwości magnetyczne, pozwalające wykorzystać je do wytwarzania magnetycznych sensorów i biosensorów oraz pamięci komputerowych. Dostatecznie małe cząstki wykazujące właściwości superparamagnetyczne mogą znaleźć zastosowanie w obrazowaniu molekularnym i procesach bioseparacji [9, 10]. Nanocząstki palladu znalazły już szerokie zastosowanie w wielu reakcjach katalitycznych, zwłaszcza polegających na tworzeniu nowych wiązań C–C i wyko-

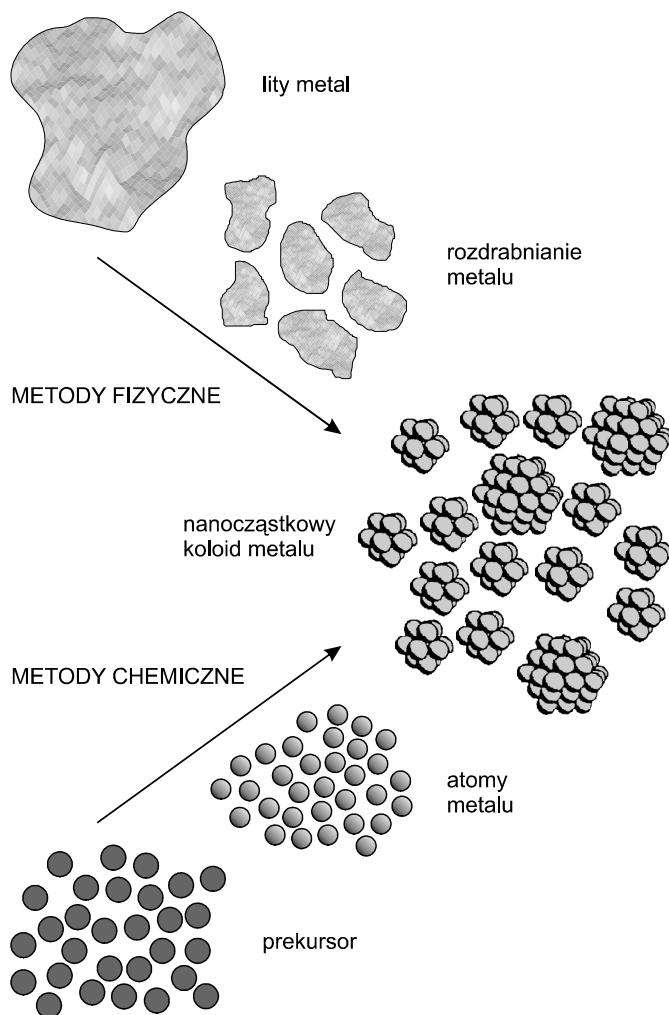
rzystywanych do syntezy leków i związków naturalnych [11, 12]. Główne reakcje katalizowane przez nanocząstki kobaltu i żelaza polegają na tworzeniu i rozrywaniu wiązań C–C [9, 10]. Są to reakcje o fundamentalnym znaczeniu w procesach chemicznych, od produkcji czystych paliw do wytwarzania nanorurek węglowych. Ważną reakcją, w której nanocząstkowe żelazo i kobalt znajdują zastosowanie, jest proces Fischera–Tropscha, w którym gaz syntezowy jest przetwarzany w węglowodory. Można w ten sposób otrzymać paliwo o liczbie oktanowej powyżej 70, a więc wyższej niż w konwencjonalnych rafineriach. Paliwo to zawiera głównie węglowodory alifatyczne i jest pozbawione ewentualnych zanieczyszczeń związkami siarki.

1. SYNTEZA KOLOIDÓW METALI

Wśród metod otrzymywania nanocząstkowych koloidów metali wyróżnić można dwa zasadnicze rodzaje technik: fizyczne oraz chemiczne. W przypadku metod o charakterze fizycznym, dochodzi do bardzo silnego rozdrobnienia większych fragmentów metalicznych (zazwyczaj drogą typowo mechaniczną, na przykład przy zastosowaniu specjalnych młynów), podczas gdy u podstaw szeregu metod określanych mianem chemicznych leży proces zarodkowania, a następnie wzrostu nanokryształów [13], co można pokazać w sposób poglądowy (Rys. 2).

Mimo że podstawowym założeniem obu technik jest uzyskanie wysoce rozdrobnionych układów, to jednak metody fizyczne prowadzą zwykle do powstania nanocząstek o dość szerokiej dystrybucji wielkości. Dodatkowo otrzymywane tym sposobem koloidy, zawierające niejednokrotnie duże cząstki (często o rozmiarach powyżej 20 nm), na ogół nie dają się przygotowywać powtarzalnie [14]. Oczywiście skutkiem jest zmienna aktywność takich układów, w przypadku zastosowania ich jako katalizatorów reakcji. Znacznie bardziej interesujące są cząstki otrzymywane na drodze chemicznej, gdzie w typowej redukcji jonów metali, w zależności od użytego reduktora i warunków, można otrzymać nanokoloidy o oczekiwanej morfologii i wielkości klastrów.

Synteza nanocząstek metali nieszlachetnych jest utrudniona dużą reaktywnością tych metali, przede wszystkim względem wody i tlenu, która powoduje, że zamiast metali często otrzymuje się materiały tlenkowe. Duża reaktywność nanocząstek jest równocześnie ich ogromną zaletą umożliwiającą zastosowanie w katalizie, szczególnie w procesach, które bieżą w atmosferze beztlenowej i bezwodnej lub w atmosferze redukującej [15–18].



Rysunek 2. Schematyczna ilustracja metod otrzymywania nanocząstek metali: fizycznych i chemicznych [13]

Figure 2. Schematic illustration of metal nanoparticle preparation methods: physical and chemical [13]

1.1. CHEMICZNE OTRZYMYWANIE NANOCZĄSTEK

Wśród metod chemicznych, zwykle rozróżnia się trzy podstawowe techniki [4]: redukcję prostych soli metali bądź związków metaloorganicznych, rozkład termiczny, fotochemiczny lub sonochemiczny oraz kondensację par metali. Dodatkowo należy wymienić dosyć nowatorską syntezę elektrochemiczną [19, 20], która pozwala uzyskiwać wyjątkowo dobre rezultaty.

Chemiczna redukcja prostych soli pierwiastków przejściowych jest najstarszą metodą, umożliwiającą otrzymywanie metali w formie nanocząstkowej, na zero-

wym stopniu utlenienia. Pierwsze udane syntezy tego rodzaju związków przeprowadził jeszcze w 1857 roku Faraday [21]. Obecnie, pomimo tak długiej historii, jest to wciąż najbardziej rozpowszechniona technika uzyskiwania układów koloidalnych. Na jej nieprzerwaną popularność wpływa niewątpliwie prostota, ale również fakt, że za pomocą elementarnych parametrów reakcji (między innymi takich, jak temperatura, stężenie reagentów oraz rodzaj reduktora) można kontrolować wielkość, a także strukturę otrzymywanych nanocząstek metali.

Uzyskiwanie koloidów z roztworów soli metali przejściowych jest możliwe przy użyciu bardzo różnorodnych reduktorów. Wśród nich dość popularne są proste alkohole pierwszo- lub drugorzędowe, które pełnią w takim procesie podwójną rolę: rozpuszczalników oraz substancji redukujących metal – po znacznym podniesieniu temperatury (najczęściej po doprowadzeniu do wrzenia). W trakcie tego typu reakcji, które zazwyczaj wymagają również obecności wody, żeby były bardziej efektywne, alkohol ulega utlenieniu do związku karbonylowego, natomiast atomy metalu stopniowo tworzą nanocząstki.

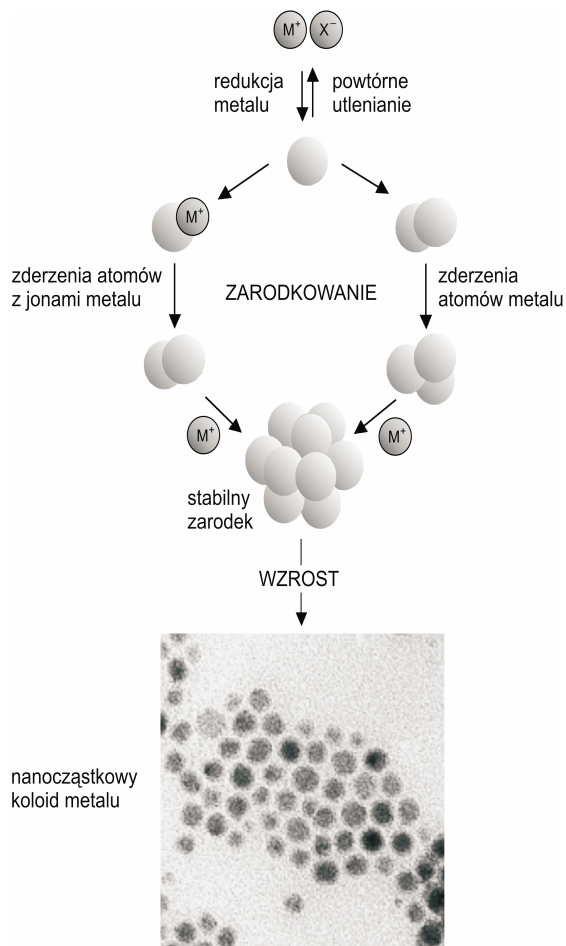
W praktyce, jako reduktory w syntezie nanocząstkowych koloidów metali przejściowych, stosowane są alkohole alifatyczne, najczęściej metanol, etanol oraz propanol. Przy ich wykorzystaniu otrzymywano między innymi koloidy metali, takich jak: Au, Pt, Pd, oraz Rh [22–25]. Dla wielu przypadków znaleziono również relacje pozwalające kontrolować rozkład wielkości cząstek poprzez takie proste parametry syntezy jak: stężenie reagentów i rodzaj reduktora, temperaturę, a także stężenie oraz rodzaj anionu soli metalu.

Właściwości redukcyjne wodoru znane są od bardzo dawna, zatem nie powinno dziwić jego zastosowanie w procesie otrzymywania klasterów metalicznych. W literaturze, począwszy od lat osiemdziesiątych minionego stulecia, opisywano wiele tego typu syntez [26–30], których niewątpliwą zaletą jest wyjątkowo wysoka powtarzalność. Znane są eksperymenty pozwalające uzyskiwać koloidy metali przejściowych, złożone z niemal jednakowych klasterów [31–33], którym można przypisać wyidealizowaną budowę, i cechujące się praktycznie jednorodną dystrybucją wielkości.

Oprócz wymienionych, istnieje jeszcze cała gama różnorodnych substancji chemicznych, mogących znaleźć zastosowanie jako czynniki redukujące w syntezie nanocząstkowych koloidów metali. Wśród nich należy wskazać często stosowane w roztworach wodnych borowodorki sodu i potasu. Można doszukać się wielu przykładów użycia tych reagentów w celu otrzymania klasterów różnych metali [34–37]. Równie popularne jest zastosowanie hydrazyny [38–40]. Mimo że jest ona wyjątkowo silnym reduktorem, działającym szybko, przez co przebieg takiej reakcji trudniej jest kontrolować, to jednak posiada bardzo istotną zaletę: produktem jej utlenienia jest gazowy azot, który w sposób naturalny ulega usunięciu i nie ma potrzeby kłopotliwego oczyszczania układu z produktów ubocznych.

1.2. ZARODKOWANIE I WZROST NANOKRYSTAŁÓW

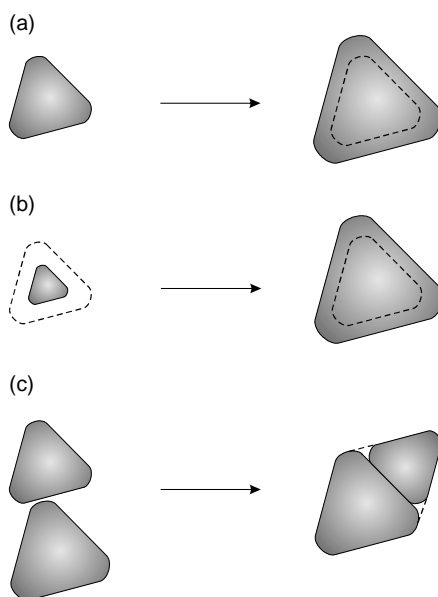
Na podstawie badań termodynamicznych oraz kinetycznych, sformułować można model zarodkowania i wzrostu klasterów metali (Rys. 3). W początkowej fazie przedstawionego procesu, sól metalu ulega częściowej redukcji tworząc w roztworze atomy na zerowym stopniu utlenienia, które następnie mogą zderzać się nie tylko między sobą i z powstałymi już wcześniej nanocząstkami, lecz także z niezredukowanymi jeszcze jonami metalu [41]. Formujące się w ten sposób wieloatomowe obiekty, po przekroczeniu rozmiaru krytycznego, uzyskują stabilność tworząc trwałe zarodki, a następnie odbywa się wyłącznie ich dalszy wzrost, zwykle aż do wykorzystania całej ilości metalu.



Rysunek 3. Przebieg zarodkowania i wzrostu nanocząstek w trakcie chemicznej redukcji soli metalu przejściowego [41]

Figure 3. Nanoparticles nucleation and growth process during transition metal chemical reduction [41]

Po zakończeniu etapu zarodkowania następuje proces wzrostu kryształu. Trzeba jednak podkreślić, iż w większości przypadków syntezy nanocząstek poprzez chemiczną redukcję soli metali nie udaje się odróżnić w trakcie eksperymentu fazy zarodkowania od fazy wzrostu – ze względu na dużą szybkość obu tych procesów. Natomiast etap wzrostu nanokryształu, niewątpliwie zachodzący po przekroczeniu wielkości krytycznej zarodka, odbywać się może zgodnie z jednym spośród podstawowych mechanizmów (Rys. 4). W układach nanocząstkowych na ogół dominującym procesem jest wzrost polegający na dołączaniu się kolejnych atomów metalu do powierzchni istniejącego klastrera lub zarodka.



Rysunek 4. Mechanizmy wzrostu nanoklastrów metali: (a) przyłączanie nowych atomów do istniejącego kryształu, (b) rekrytalizacja Ostwalda, (c) koalescencja

Figure 4. Metal nanocluster growth mechanisms: (a) attaching of new atoms to the existing crystal, (b) Ostwald ripening, (c) coalescence

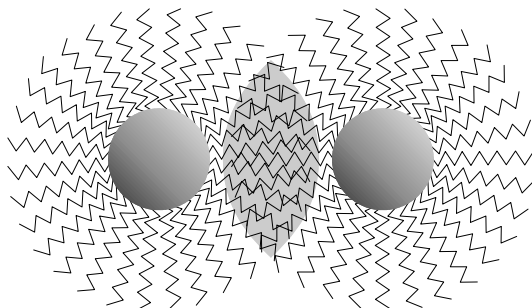
Koalescencja, czyli zrastanie lub sklejanie się kryształów w jeden większy (przy zachowaniu pełnego dopasowania sieci krystalicznych), a następnie dalszy ich wzrost jako całości, jest też dosyć często spotykana w przypadku nanocząstek metali. Prawdopodobnie koalescencja zachodzi najintensywniej natychmiast po procesie zarodkowania, kiedy to energia ruchów Browna jeszcze bardzo drobnych kryształitów nie jest wystarczająca, aby w pełni zrównoważyć siły van der Waalsa oddziaływań cząstek, znajdujących się w dostatecznie małej odległości od siebie. Natomiast relatywnie mało prawdopodobny, chociaż czasem postulowany przez nielicznych autorów [42], wydaje się w tego typu układach wariant wzrostu wskutek rekrytalizacji Ostwalda, gdzie mniejsze cząstki koloidu ulegają rozpuszczeniu, aby doprowadzić do wzrostu większych klastrów.

1.3. STABILIZACJA NANOCZĄSTEK

Podstawową cechą układów koloidalnych metali jest niewielki rozmiar ich cząstek i równocześnie dążenie do osiągnięcia stanu termodynamicznego minimum poprzez agregację, aż do czerni metalicznej. Prowadzi to zazwyczaj do niemalże całkowitej utraty ich charakterystycznych właściwości, na przykład katalitycznych. Z tego powodu układy nanocząstkowe metali, niezależnie od zastosowanego sposobu syntezy, wymagają użycia czynnika stabilizującego, aby w pełni pozostał zachowany stan bardzo wysokiej ich dyspersji i wynikające z niego specyficzne właściwości.

Generalnie w literaturze rozróżnia się dwie podstawowe metody stabilizacji koloidów metali [7]: steryczną, polegającą na tworzeniu bariery przestrzennej między klastrami, oraz elektrostatyczną, gdy pomiędzy cząstkami powstają oddziaływania kulombowskie, w wyniku zaadsorbowania na ich powierzchni substancji jonowych. Należy zauważyć, iż w przypadku zastosowań katalitycznych, stabilizator należy dobrać w kompromisowy sposób – zapewnić możliwie dobrą ochronę nanocząstek metalu przed agregacją, ale nie blokować nadmiernie dostępu substratów reakcji do powierzchni katalizatora.

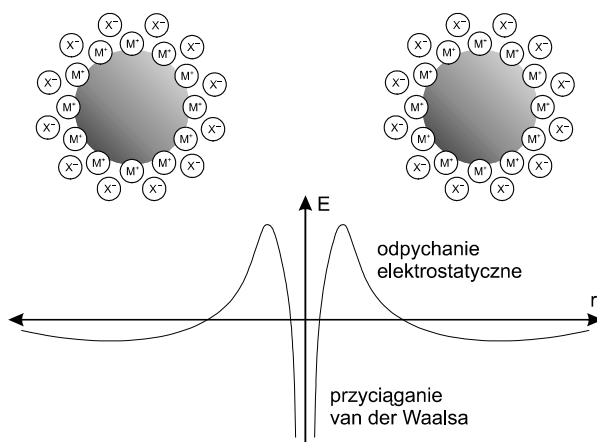
W przypadku adsorpcji na powierzchni nanoklasterów warstwy materiału, zbudowanego z bardzo dużych molekuł – takich, jak na przykład polimery [43, 44] lub surfaktanty [45, 46], następuje uformowanie bariery przestrzennej zapobiegającej wejściu cząstek w zbyt bliski kontakt (Rys. 5).



Rysunek 5. Stabilizacja steryczna nanoklasterów metali – tworzy się bariera o dużym stężeniu lokalnym polimeru pomiędzy cząstkami [3]

Figure 5. Steric stabilization of metal nanoclusters – high local polymer concentration builds up between the particles [3]

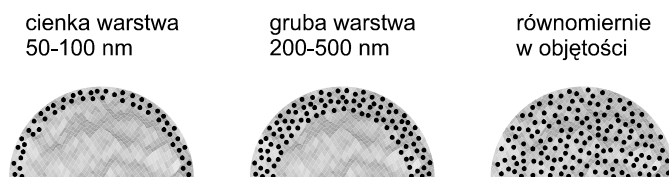
Powierzchnia nanocząstek metalu, charakteryzująca się zwykle niewielkim ładunkiem dodatnim, a więc wykazująca właściwości elektrofilowe, może z łatwością adsorbować jony znajdujące się w roztworze, najczęściej halogenki i karboksylany, tworząc wraz z ich kationami podwójną, naładowaną warstwę (Rys. 6). Tym sposobem pomiędzy cząstkami koloidu tworzy się kulombowska bariera potencjału chroniąca je przed agregacją [3, 4].



Rysunek 6. Stabilizacja elektrostatyczna koloidu – siły van der Waalsa są równoważone przez odpychanie kulombowskie [4]

Figure 6. Electrostatic stabilization of metal colloids – van der Waals forces are balanced by Coulombic repulsion [4]

Również nośniki stałe, takie jak węgiel aktywny bądź nanostrukturalne tlenki glinu, krzemu, itp. można traktować jako zupełnie osobną kategorię materiałów zapewniających stabilizację nanocząstek metali. Nośnik będący rozbudowaną, wieloatomową strukturą charakteryzuje się znacznie większym rozmiarem od klastrów metalicznych. W rezultacie aktywne katalitycznie cząstki mogą być immobilizowane w różnych punktach jego objętości. Najczęściej następuje to (Rys. 7): w cienkiej warstwie powierzchniowej, w grubej warstwie powierzchniowej lub równomiernie w całym nośniku [47].



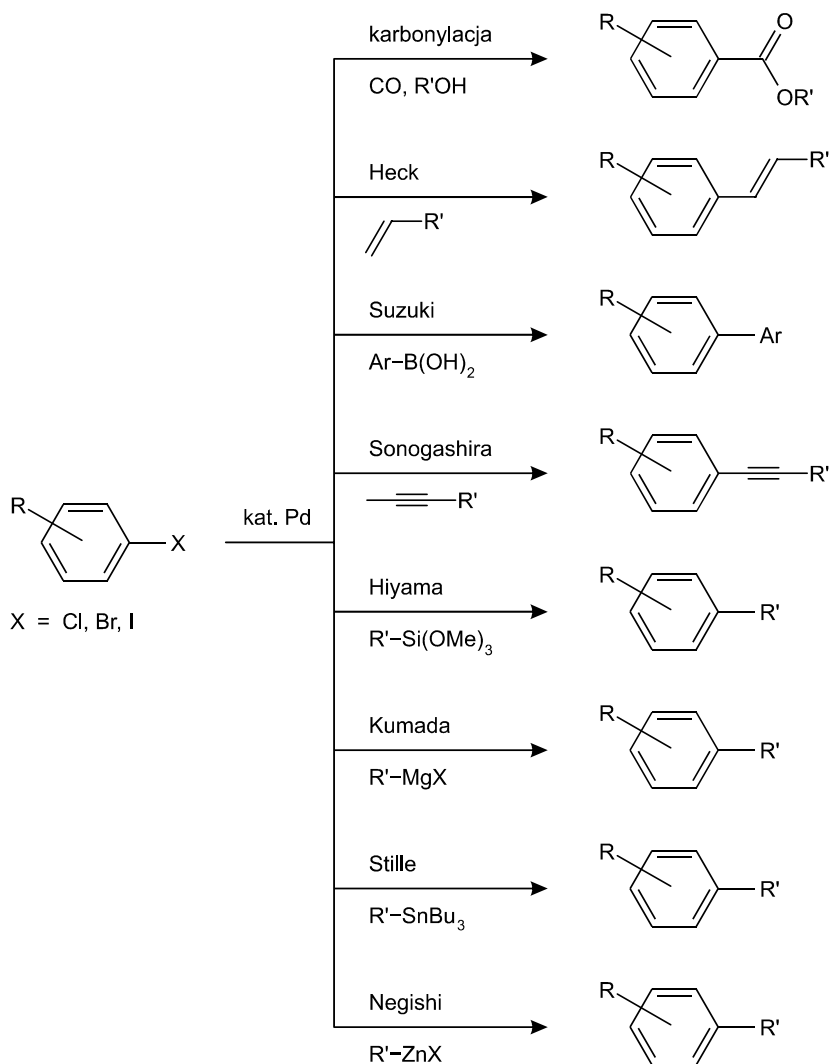
Rysunek 7. Specyficzne dystrybucje cząstek metali przejściowych immobilizowanych na nanostrukturalnych nośnikach stałych [47]

Figure 7. Specific distributions of transition metal particles immobilized on nanostructural solid supports [47]

2. ZASTOSOWANIA NANOCZĄSTEK METALI W KATALIZIE

Do procesów, w których szerokie zastosowanie znalazły nanocząstki palladu, należą reakcje prowadzące do utworzenia nowych wiązań C–C, wykorzystujące jako jeden z substratów halogenek arylowy (Rys. 8). Zajmują one wyjątkowe miejsce i są

często wykorzystywane w syntezie organicznej złożonych związków zarówno w skali laboratoryjnej, jak też przemysłowej.



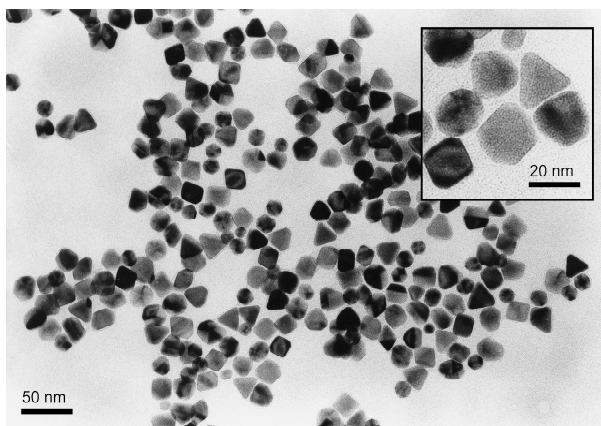
Rysunek 8. Przykłady reakcji sprzęgania węgiel-węgiel wykorzystujące halogenek arylowy jako jeden z substratów

Figure 8. Examples of carbon-carbon coupling reactions employing an aryl halide as one of the substrates

2.1. NANOCZĄSTKI PALLADU

Nanocząstkowe koloidy Pd⁰ otrzymano przez chemiczną redukcję wodnego roztworu PdCl₂ w obecności poliwinylpirolidonu (PVP) jako stabilizatora. Stosując różne reduktory [48, 49]: pirogalol, octan chromu(II) oraz hydrazynę, uzyskano nanokrystality palladu na zerowym stopniu utlenienia, o średnich rozmiarach od około 2 do niemal 20 nm. W syntezach tych silne reduktory sprzyjają powstawaniu koloidów metali o drobniejszych cząstkach, podczas gdy te słabsze generują znacznie większe klastery [50].

Średni rozmiar nanocząstek nie stanowi jednak pełnej informacji strukturalnej. Koloidy otrzymane z użyciem różnych reduktorów charakteryzują się zupełnie odmienną morfologią, uwidaczniającą się w badaniach z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM). Szczególnie interesujący jest układ otrzymany w wyniku redukcji pirogalołem. Większość cząstek (Rys. 9) tego układu posiada dobrze zdefiniowane kształty kryształów: trójkątne, romboidalne oraz pentagonalne [51, 52]. Jedynie nieliczne z kryształitów przybierają trudną do określenia formę zewnętrzną, natomiast dystrybucja wielkości cząstek jest niemal całkowicie symetryczna.

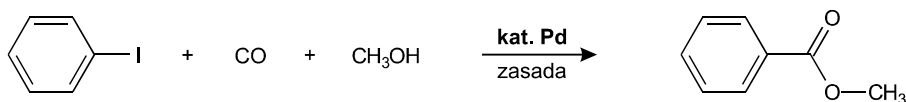


Rysunek 9. Morfologia koloidu Pd⁰/PVP otrzymanego w wyniku redukcji wodnego roztworu PdCl₂ za pomocą pirogalolu

Figure 9. Morphology of Pd⁰/PVP colloid obtained by reduction of PdCl₂ aqueous solution with pyrogallol

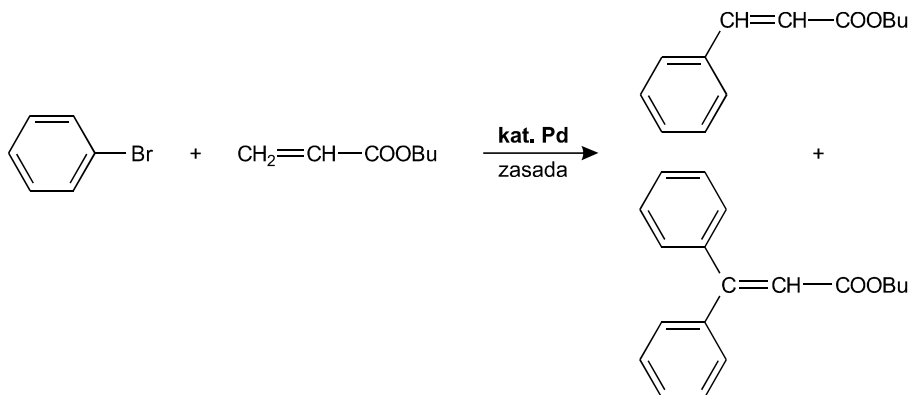
Z kolei nanocząstki koloidu Pd⁰/PVP, otrzymanego przez redukcję octanem chromu(II), cechują się niesymetryczną dystrybucją wielkości. Cząstki posiadają zaokrąglone kształty zewnętrzne, nie można się tutaj dopatrzeć typowych form kryształicznych. Analogicznie, w przypadku koloidu uzyskanego przez redukcję hydrazyną, nanocząstki charakteryzują się nieregularnymi kształtami, przy czym są bardzo małe, o średniej wielkości około 4 nm [49].

Koloidy palladowe wykazują aktywność jako katalizatory procesów prowadzących do utworzenia nowych wiązań węgiel–węgiel, na przykład reakcji metoksykarbonylacji jodobenzenu [49], umożliwiającej otrzymanie benzoesu metylu jako jedyne produktu (Rys. 10). Katalizują one również reakcję Hecka bromobenzenu z akrylanem butylu [48]. Proces ten prowadzić może do powstania produktu pojedynczej lub podwójnej arylicacji akrylanu, w zależności od warunków (Rys. 11).



Rysunek 10. Katalizowana koloidem Pd⁰ metoksykarbonylacja jodobenzenu: synteza estru metylowego kwasu benzoowego

Figure 10. Methoxycarbonylation of iodobenzene catalyzed with Pd⁰ colloid: synthesis of benzoic acid methyl ester



Rysunek 11. Reakcja Hecka bromobenzenu z akrylanem butylu – utworzenie produktu pojedynczej oraz dwukrotnej arylicacji akrylanu

Figure 11. Heck reaction of bromobenzene with butyl acrylate – formation of a monoarylated and diarylated product

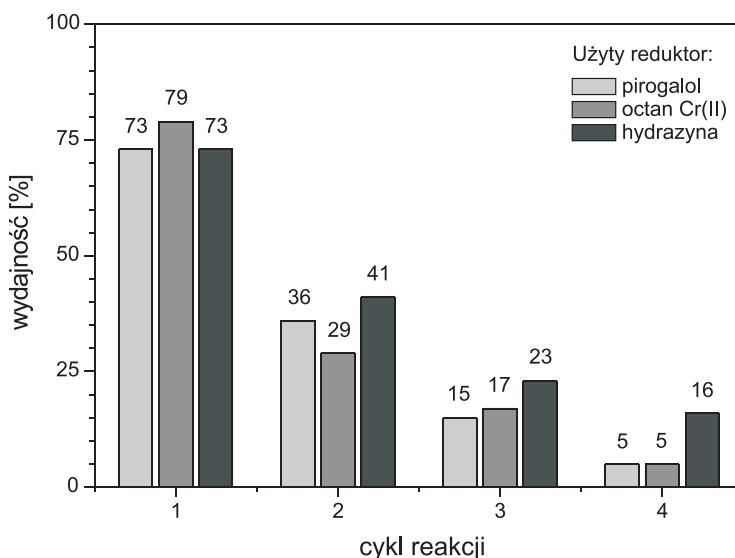
Badane reakcje katalityczne prowadzono w środowisku stopionej soli – bromku tetrabutylamoniowego. Zastosowanie soli tetraalkiloamoniowych umożliwia wyeliminowanie z układu rozpuszczalnika organicznego, ponadto możliwy jest efektywny rozdział katalizatora (rozpuszczonego w stopionej soli) od substratów i produktów organicznych, co sprzyja otrzymaniu czystych produktów wolnych od zanieczyszczeń związkami palladu, a oddzielony katalizator może być ponownie użyty.

Dla wszystkich zastosowanych katalizatorów nanokoloidalnych Pd⁰/PVP uzyskano bardzo wysokie wydajności (Tab. 1): ponad 70% produktu metoksykarbonylacji jodobenzenu oraz wydajność 99% w reakcji Hecka przy zachowaniu dużej selektywności produktu dwukrotnej arylicacji (fenylocynamonian butylu), w stosunku do produktu pojedynczej arylicacji (cynamonian butylu).

Tabela 1. Wydajności metoksykarbonylacji jodobenzenu oraz reakcji Hecka bromobenzenu z akrylanem butylu katalizowanych koloidami Pd⁰/PVP w środowisku stopionego [Bu₄N]Br
 Table 1. Product yields in methoxycarbonylation of iodobenzene and Heck coupling of bromobenzene with butyl acrylate catalyzed with Pd⁰/PVP colloids in molten [Bu₄N]Br

Reduktor w syntezie koloidu	Średnia wielkość nanokryształitów [nm]	Wydajność produktów reakcji katalitycznych [%]	
		metoksykarbonylacja	reakcja Hecka
pirogalol	17,4	73	74 (diarylowy) 25 (monoarylowy)
octan chromu(II)	11,3	79	–
hydrazyna	6,8	73	–

Koloidy palladowe stabilizowane za pomocą polimeru PVP, poddane powtórnemu użyciu w reakcji metoksykarbonylacji jodobenzenu, wykazywały bardzo silny spadek aktywności w kolejnych cyklach badanej reakcji (Rys. 12). Analogiczny efekt drastycznego obniżania aktywności obserwowano także dla tych układów użytych jako katalizatory reakcji Hecka [48]. Może to oznaczać, iż stabilizacja nanocząstek za pomocą polimeru nie jest wystarczająca w warunkach badanych procesów i zachodzi niepożądana agregacja palladu.

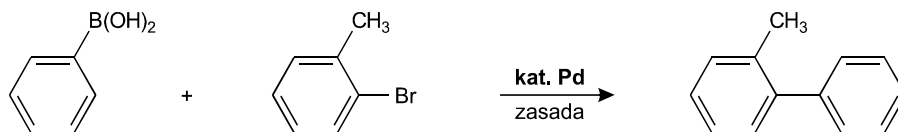


Rysunek 12. Wielokrotne użycie katalizatora w metoksykarbonylacji – wydajność reakcji katalizowanej koloidem Pd⁰/PVP, redukowanym: pirogalelem, octanem chromu(II) oraz hydrazyną

Figure 12. Catalyst recycling in methoxycarbonylation – yield of the reaction catalyzed with Pd⁰/PVP colloid obtained by reduction with: pyrogallol, chromium(II) acetate and hydrazine

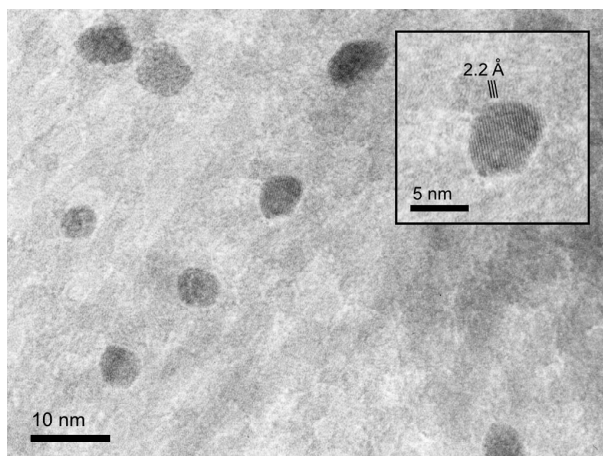
Zupełnie odmiennym od PVP stabilizatorem jest porowaty tlenek glinu. Cechuje się on dużą wytrzymałością mechaniczną oraz termiczną [53, 54]. Właśnie dzięki temu stanowi atrakcyjny materiał dla immobilizacji katalizatorów [55, 56]. Nanocząstki Pd⁰ naniesione na Al₂O₃ charakteryzują się bardzo wysoką aktywnością, zbliżoną lub nawet przewyższającą koloidy Pd⁰/PVP, a równocześnie katalizatory te można wyjątkowo łatwo oddzielić od mieszaniny reakcyjnej. W reakcji Hecka sprzężenia bromobenzenu z akrylanem butylu, prowadzonego w środowisku stopionej soli tetraalkiloamoniowej, układ Pd⁰/Al₂O₃ wykazuje bardzo wysoką aktywność, również w przypadku wielokrotnego użycia katalizatora [57, 58].

Nośniki aktywnych katalitycznie nanocząstek metali mogą mieć również postać mieszanych tlenków nieorganicznych, składających się na przykład w 90% z tlenku glinu oraz w 10% tlenku cyrkonu. Układy takie charakteryzują się jeszcze wyższą wytrzymałością mechaniczną i stabilnością termiczną od czystego Al₂O₃ [59, 60]. Nanocząstkowy Pd⁰, immobilizowany na nośnikach tego typu, znalazł zastosowanie jako efektywny katalizator reakcji Suzuki sprzężenia kwasu fenyloboronowego z 2-bromotoluenem, prowadzącej do utworzenia 2-metylobifenyłu (Rys. 13).



Rysunek 13. Reakcja Suzuki kwasu fenyloboronowego z 2-bromotoluenem
Figure 13. Suzuki coupling of phenylboronic acid with 2-bromotoluene

Katalizatory nanocząstkowe przygotowano przez impregnację nośnika Al₂O₃-ZrO₂ wodnym roztworem PdCl₂, a następnie redukcję Pd²⁺ do Pd⁰ za pomocą metanolu albo wodzianu hydrazyny [61]. Średni rozmiar nanocząstek palladu wynosił 8 nm. Cząstki te charakteryzowały się zbliżonymi wielkościami i były wyjątkowo równomiernie rozproszone na powierzchni tlenku Al₂O₃-ZrO₂, zupełnie bez oznak niepożądanego agregacji (Rys. 14). Ich kształt był sferoidalny, nie dało się zauważyć typowych zarysów form krystalicznych, jak miało to wcześniej miejsce, w przypadku koloidu Pd⁰/PVP przygotowanego z wykorzystaniem pirogalolu.



Rysunek 14. Struktura katalizatora Pd⁰/Al₂O₃-ZrO₂: nanocząstki palladu równomiernie rozproszone na powierzchni nośnika

Figure 14. Pd⁰/Al₂O₃-ZrO₂ catalyst structure: palladium nanoparticles uniformly dispersed on the surface of the solid support

Badania w reakcji Suzuki sprzęgania kwasu fenyloboronowego z 2-bromotolu-
enem nanocząstek Pd⁰, naniesionych na mieszane tlenki Al₂O₃-ZrO₂, wykazały bar-
dzo wysoką aktywność katalityczną tych układów [61]. Proces zachodził z wysoką
wydajnością (powyżej 90%, w najlepszych przypadkach), w niskiej temperaturze
(nawet pokojowej) i krótkim czasie (typowo 1 godz., reakcja przebiegała bez okresu
indukcji osiągając wydajność około 30%, po czasie zaledwie 5 minut). Dla porów-
nania: w przypadku zastosowania katalizatora typowo heterogenicznego, reakcja ta
wymaga silnego ogrzewania [62] lub czasu przekraczającego 24 godziny [63].

2.2. NANOCZĄSTKI NIKLU

Reakcje prowadzące do utworzenia wiązań węgiel–węgiel (Rys. 8) mogą być
katalizowane nie tylko palladem. Bardzo interesującym aspektem jest zastosowanie
w tego typu procesach nanocząstkowego niklu, metalu znacznie tańszego. Jednakże
przejście z układów typowo palladowych do niklowych wymaga generalnie nie tylko
zmiany katalizatora, ale także istotnych modyfikacji warunków prowadzenia reak-
cji. W prezentowanych układach metal zmienia na początku cyklu katalitycznego
stopień utlenienia z zerowego na +2, a w dalszej części tego cyklu ulega ponownej
redukcji [64]. Potencjał standardowy Pd²⁺/Pd⁰ wynosi +0,915 V, zaś Ni²⁺/Ni⁰ zaled-
wie -0,257 V.

Wśród doniesień literaturowych można znaleźć informacje na temat zastoso-
wania nanocząstkowego Ni(0) jako katalizatora reakcji Suzuki sprzęgania 4-bromo-
acetofenonu z kwasem fenyloboronowym [65]. W reakcji tej, prowadzonej w tempe-
raturze 135°C, autorzy uzyskali wydajność 98% produktu (4-fenyloacetofenonu)

dla świeżego katalizatora, natomiast w przypadku jego powtórnego użycia, wydajność spada już do 47%. Reakcje Kumada i Negishi, również prowadzące do powstania związków biarylowych, mogą być także efektywnie katalizowane niklem [66]. Nanocząstkowe katalizatory niklowe znajdują zastosowanie głównie w reakcjach uwodornienia grupy nitrowej (do grupy aminowej) w związkach aromatycznych, takich jak nitrobenzen [67] lub *p*-nitrofenol [68] i im podobnych.

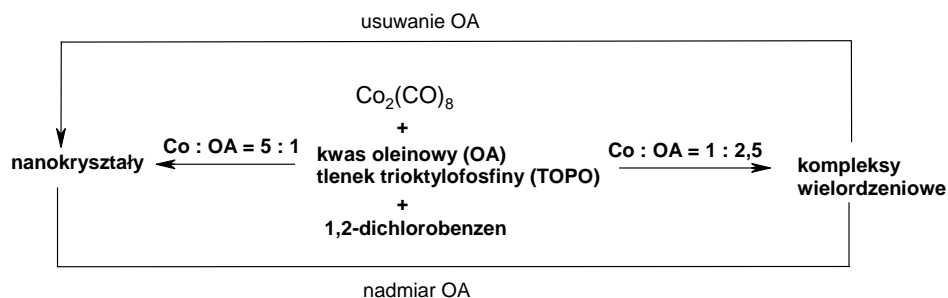
2.3. NANOCZĄSTKI KOBALTU

W reakcji rozkładu metaloorganicznego prekursora $\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})$, w atmosferze H_2 , w obecności PVP otrzymano koloidalne roztwory, zawierające nanocząstki o wielkości 1,5 nm, przy czym występowały one wyłącznie w strukturze fcc ($\beta\text{-Co}$) [69]. W reakcji otrzymanych nanocząstek z CO zarejestrowano pasma przy 2000 i 1890 cm^{-1} , świadczące o obecności terminalnych i mostkowych grup CO na powierzchni koloidu. Koloidy wykazywały właściwości superparamagnetyczne, a pomiary magnetyczne potwierdziły ponadto ich regularną dyspersję, o wąskiej dystrybucji wielkości [69].

Efekt chemisorpcji CO na klastrze kobaltu badano także metodami *ab initio* i przedstawiono zależność energii chemisorpcji CO w funkcji rozmiaru i struktury klastru oraz stopnia pokrycia powierzchni. Stwierdzono, że klastry kobaltu mogą być potencjalnie użyte do detekcji CO, przy czym ilość związanego przez nie CO można określić pomiarami magnetycznymi [70].

Rozkład tego samego prekursora, $\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})$, w anizolu przeprowadzono w atmosferze H_2 , w obecności ligandów z grupy amin, a także kwasu oleinowego. Kiedy użyto kwasu oleinowego i aminy oleinowej uzyskano po 3 godz. nanocząstki o średnicy 3 nm, jednak po 48 godz. jedynymi formami kobaltu były nanopręty o wymiarach 9×40 nm, które powstawały tylko w atmosferze H_2 . Modyfikując proces redukcji, otrzymano także nanodruły o średnicy 4 nm [71].

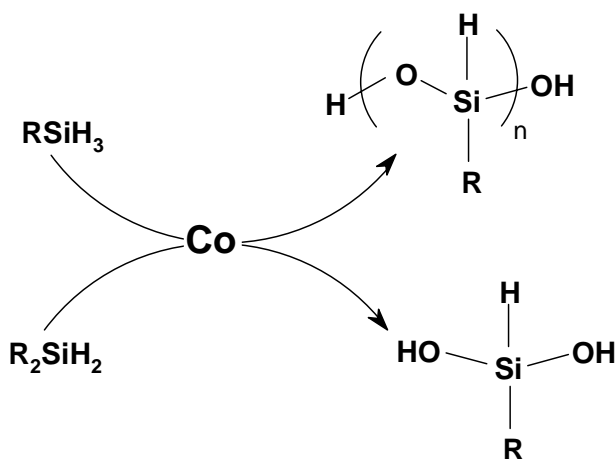
Badania metodą ESI-MS pozwoliły na zidentyfikowanie niektórych kompleksów kobaltu, powstających podczas termicznego rozkładu $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ w obecności kwasu oleinowego i tlenku trioktylofosfiny, co w istotny sposób przyczyniło się do zrozumienia mechanizmu tworzenia nanocząstek kobaltu [72]. Dimeryczne i trimeryczne, fragmenty pochodzące od tych kompleksów, m.in. $[\text{Co}^{\text{II}}_2(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3]^+$, $[\text{Co}^{\text{II}}_2(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3\text{O}]^+$, $[\text{Co}^{\text{I}}_3(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_3+\text{H}]^+$, można uznać za przejściowe formy w budowaniu większych nanokryształów (Rys. 15).



Rysunek 15. Synteza nanokryształów lub kompleksów wielordzeniowych kobaltu, w zależności od stężenia kwasu oleinowego

Figure 15. Synthesis of nanocrystals or cluster compounds using different concentrations of oleic acid

Tak otrzymane nanocząstki katalizują hydrolizę wiązań Si–H w szeregu wodorosilanów, przy czym najwyższą wartość TOF, 220–311 mol silan/mol Co/godz., obserwowano dla dialkylsilanu R_2SiH_2 , który ulegał hydrolizie do dialkylsilanodiolu [73]. Monosilany RSiH_3 reagowały wolniej, dając produkty oligomeryczne (Rys. 16).

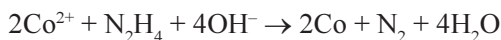


Rysunek 16. Hydroliza silanów katalizowana przez nanocząstki kobaltu

Figure 16. Hydrolysis of silicon hydrides catalyzed by Co nanoparticles

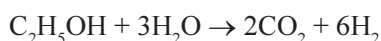
Do stabilizacji subnanometrycznych cząstek Co o rozmiarach 0,8 nm, zawierających ok. 50 atomów, wykorzystano nanoporowate sita molekularne ZSM5 i Beta. Substratem kobaltowym był $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, który podczas kalcynacji ulegał rozkładowi i częściowej redukcji, co objaśniono działaniem CO i H_2 , pochodzących z rozkładu ligandów octanowych [74].

Pełną redukcję kobaltu immobilizowanego na powierzchni sililowanego zeolitu ITQ-2 uzyskano stosując jako czynnik redukujący hydrazynę, przy czym efektywność redukcji zależała od wielkości cząstek [75]:



Dla porównania, otrzymano także nanoproszek Co_3O_4 na sferycznej krzemionce SiO_2 (30% Co/SiO_2), charakteryzujący się niskim stopniem dyspersji. Materiały te wykorzystano jako katalizatory reakcji Fischera-Tropscha, otrzymując wysoką selektywność do produktów C_{5+} . Co ciekawe, aktywność katalityczna cząstek Co o wielkości od 5,6 do 141 nm była porównywalna [75].

Koloidalne nanocząstki Co^0 o rozmiarach 3–8 nm, immobilizowane na SiO_2 , otrzymane przez rozkład termiczny $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ w obecności kwasu oleinowego lub trioktylofosfiny, użyto do hydrogenolizy etanolu i parowego reformingu etanolu [76]. Reforming parowy etanolu może przebiegać bez pośredniego tworzenia CH_4 , według reakcji:



Hydrogenoliza przebiega głównie przy niskich stosunkach H_2O do $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ i może być opisana sekwencją reakcji:



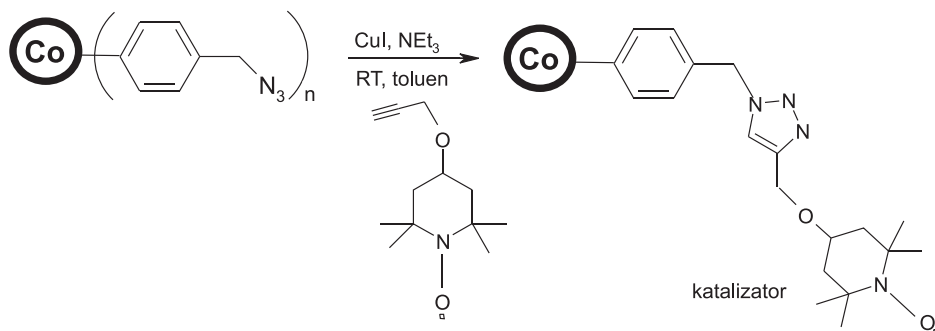
Selektywność reakcji zależała od rozmiaru nanocząstek, przy czym mniejsze faworyzowały hydrogenolizę etanolu i aktywację H_2O . Liczba dostępnych dla etanolu miejsc Co silnie zależała od warunków przygotowania katalizatora, np. od stosunku kwasu oleinowego do $\text{Co}_2(\text{CO})_8$, a także od rodzaju rozpuszczalnika użytego do strącania nanocząstek (metanol, etanol) [76].

Przykładem syntezy bimetalicznych nanocząstek jest dwuetapowa procedura, zgodnie z którą $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ naniesiony na aktywowane włókna węglowe (CNF, o średnicy 30 nm) zredukowano, a następnie pasywowano w atmosferze CO_2 i impregnowano roztworem $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [77]. W rezultacie otrzymano nanocząstki CoMn/CNF aktywne w syntezie Fischera-Tropscha, a szczegółowe badania roli promotora manganowego pokazały, że już bardzo mała ilość Mn (0,15% wag.) powoduje wzrost selektywności reakcji do produktów C_{5+} o 25%. Interesujące, że dalsze zwiększanie zawartości Mn powodowało wzrost selektywności, ale kosztem obniżenia aktywności katalizatora [77]. Inny bimetaliczny katalizator syntezy Fischera-Tropscha, immobilizowany na $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, otrzymano z azotanu kobaltu i H_2PtCl_6 , a obecność promotora platynowego powodowała wzrost szybkości reakcji z równoczesnym spadkiem selektywności do węglowodorów C_{5+} [78].

Nanocząstki Co^0 o wielkości $4,5 \pm 0,6$ nm– $7,7 \pm 1,2$ nm, stabilizowane imidazolowymi cieczami jonowymi, otrzymano przez rozkład $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ w tych cieczach.

Nanocząstki te użyto w reakcji Fischera-Tropscha, otrzymując głównie ciekłe węglowodory parafinowe C_7 – C_{30} i śladowe ilości CH_4 [79].

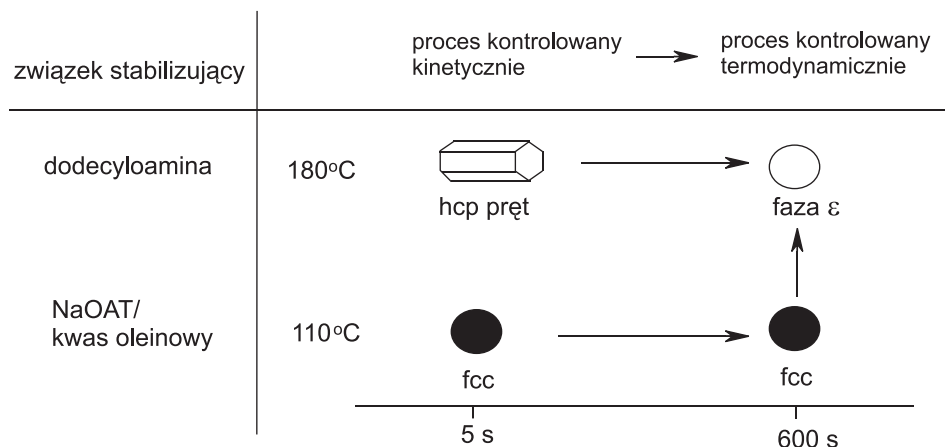
Nanocząstki kobaltu pokryte węglem funkcjonalizowano następnie ligandami organicznymi, w których końcową grupę stanowił rodnik nitroksylowy TEMPO (Rys. 17). W ten sposób uzyskano katalizator CoNP-TEMPO, który zastosowano do utleniania alkoholi benzytowych i alifatycznych (1-oktanol, 1-dodekanol, cykloheksanol). Ten nowy katalizator można łatwo oddzielić od produktów organicznych za pomocą magnezu i można go wielokrotnie używać z zachowaniem wysokiej aktywności [80].



Rysunek 17. Synteza funkcjonalizowanych nanocząstek kobaltu
Figure 17. Synthesis of functionalized cobalt nanoparticles

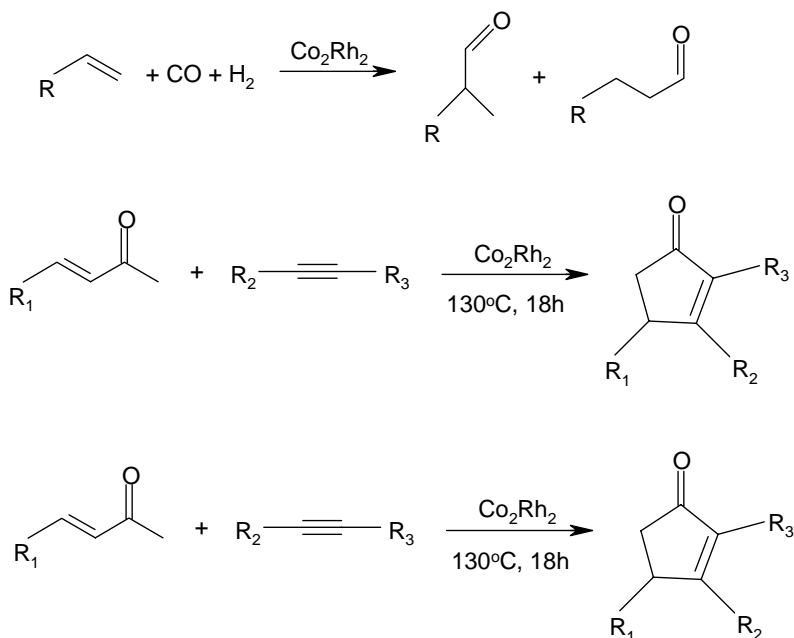
Zastosowanie jako czynnika redukującego $NaBH_4$ w emulsji wodno-olejowej zawierającej cykloheksan doprowadziło do jednorodnych nanocząstek Co-B, przy czym ilość cykloheksanu okazała się decydująca dla wielkości nanocząstek. Strukturalnie przedstawiały one amorficzne stopy o wielkości cząstek 6–20 nm i wykazywały wysoką aktywność w uwodornieniu aldehydu cynamonowego. Głównym produktem uwodornienia był alkohol cynamonowy, który otrzymano z najwyższą wydajnością, stosując katalizator Co-B o składzie $Co_{61,8}B_{38,2}$ [81].

Magnetyczne nanocząstki Co^0 otrzymano z $Co_2(CO)_8$ we wrzącym toluenie, zawierającym NaAOT (bis(2-etyloheksylo)sulfobursztynian) jako materiał stabilizujący [82]. Kiedy zmniejszono ilość NaAOT, obserwowano tworzenie nanokrystalitów o wielkości 6,4–8,0 nm, a po wprowadzeniu dodatkowo kwasu oleinowego, otrzymano nanocząstki o wielkości 10,3–13,1 nm. Zmieniając warunki reakcji otrzymano także nanoprety tworzące jednowymiarowe supersieci z fazami krystalicznymi fcc/hcp i ϵ , w zależności od warunków wzrostu nanocząstek (Rys. 18).



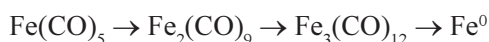
Rysunek 18. Zmiany kształtu nanocząstek kobaltu w obecności różnych związków stabilizujących
Figure 18. Changes of Co nanoparticles shape for the two different capping molecules

Bardzo obiecujące wyniki uzyskano, stosując jako katalizatory heterobimetaliczne nanocząstki Co_2Rh_2 osadzone na węglu aktywnym, zsyntezowane z karbonylku $\text{Co}_2\text{Rh}_2(\text{CO})_{12}$, który ulegał rozkładowi w 180°C w roztworze *o*-dichlorobenzenu, kwasu oleinowego i tlenku trioktylofosfiny [83]. Nanocząstki okazały się aktywne w hydroformylacji alifatycznych i aromatycznych olefin, przy czym istotny jest zauważony efekt synergiczny, ponieważ zarówno same nanocząstki Co^0 , jak i nanocząstki Rh^0 były mniej aktywne. Te same nanocząstki bimetaliczne katalizują także reakcje typu Pauson-Khanda, w których z alkinów i α,β -nienasyconych aldehydów (akroleina, aldehyd krotonowy, aldehyd cynamonowy) powstają produkty cykloaddycji [84]. Bardzo dobre wyniki uzyskano w reakcji tandemowej cyklohydrocarbonylacji i insercji CO, która okazała się efektywnym sposobem syntezy 2(3H)- lub 2(5H)-furanonów [85]. Na Rysunku 19 przedstawiono przykładowe reakcje katalizowane z dobrą wydajnością przez nanocząstki Co_2Rh_2 .

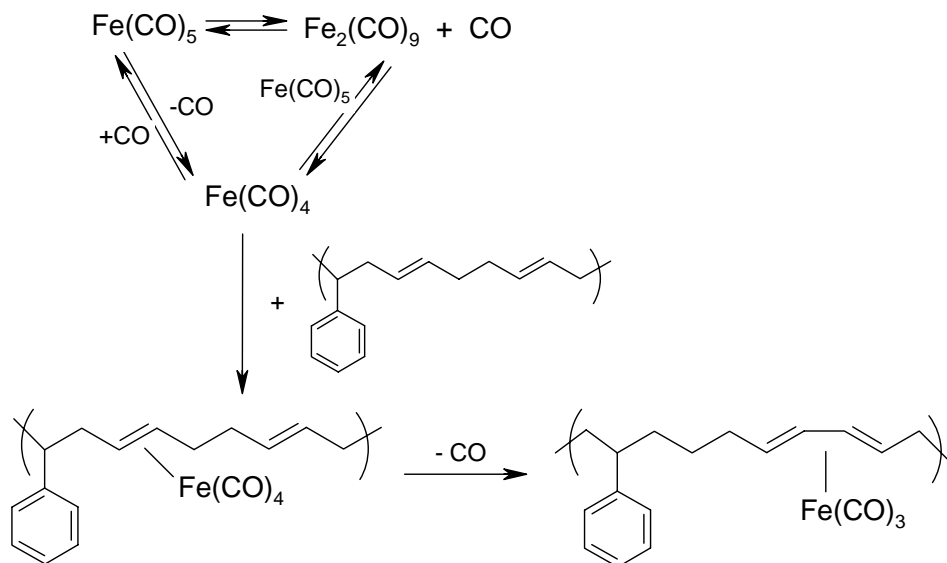
Rysunek 19. Przykłady reakcji katalizowanych przez bimetaliczne nanocząstki Co_2Rh_2 Figure 19. Selected reactions catalyzed by bimetallic Co_2Rh_2 nanoparticles

2.4. NANOCZĄSTKI ŻELAZA

Typowym substratem, wykorzystywanym najczęściej do syntezy nanocząstek Fe^0 , jest $\text{Fe}(\text{CO})_5$, który poddaje się termicznemu rozkładowi w obecności czynników stabilizujących, na przykład polimerów [18]. Zauważono, że niektóre kopolimery styrenu, z 4-winylopirydyną, winyloketoksymem oraz z *N*-winylopirolidonem, przyspieszają proces rozkładu karbonylku, prawdopodobnie przez tworzenie połączeń typu $[\text{Fe}(\text{Nu})_x][\text{Fe}_n(\text{CO})_m]$ (Nu = nukleofil, $x = 2-6$; $n = 2$ $m = 8$; $n = 3$ $m = 11$; $n = 4$ $m = 13$) [86]. W przypadku niekatalitycznego rozkładu, np. w węglowodorach (dekalina), reakcja rozkładu $\text{Fe}(\text{CO})_5$ przebiega znacznie wolniej:



Natomiast w obecności polimerów zawierających resztę butadienową zaproponowano tworzenie fragmentów butadienylowo-trikarbonylowych, związanych z łańcuchem polimerowym, jako form pośrednich na drodze do stabilnych zawiesin koloidalnych [86] (Rys. 20).



Rysunek 20. Powstawanie fragmentu Fe(CO)_4 i jego reakcja z grupą alkenylową polimeru
 Figure 20. Formation of Fe(CO)_4 fragment and its reaction with alkenyl residue of polymer

Rozkład Fe(CO)_5 w warunkach sonochemicznych w oktanolu, w obecności PVP, w 0°C , doprowadził do otrzymania dobrze zdyspergowanych nanocząstek Fe^0 o średnicy 3–8 nm w postaci amorficznej [87]. Zauważono, że w warunkach pomiaru TEM następowała zmiana postaci nanocząstek z amorficznej w krystaliczną. Do stabilizacji nanocząstek Fe^0 użyto także kwasu oleinowego (oktadeka-9-en), którego efektywne działanie stabilizujące jest związane z obecnością w cząsteczce wiązania podwójnego. Syntezę prowadzono w warunkach sonochemicznych (30°C , 1 godz.), a uzyskane nanocząstki były trochę większe niż te stabilizowane PVP, ale ich rozmiary były bardziej jednorodne.

Podobnie jednorodne nanocząstki Fe^0 , o rozmiarach od 4 do 20 nm, otrzymano w wyniku ogrzewania w 300°C kompleksu żelaza, produktu reakcji Fe(CO)_5 z kwasem oleinowym. Stwierdzono, że tak jak dla kobaltu, rozmiarami otrzymywanych nanocząstek można sterować w zakresie od 4 do 11 nm, używając różnych ilości kwasu w stosunku do Fe(CO)_5 [88].

Nieco zmodyfikowaną metodę, określaną także jako homogeniczna nukleacja i polegającą na ogrzewaniu Fe(CO)_5 w mieszaninie kwasu oleinowego i eteru oktylowego, zastosowano do syntezy nanocząstek Fe^0 o wielkości 9 nm [89]. Podobnej wielkości nanocząstki (7–9 nm) uzyskano, stosując heterogeniczne zarodkowanie z wykorzystaniem zarodków Pt. Wytwarzano je przez redukcję Pt(acac)_2 1,2-heksanediolem w roztworze eteru dioktylowego, zawierającego surfaktant, którym była mieszanina kwasu oleinowego i aminy oleinowej. Aby otrzymać mniejsze nano-

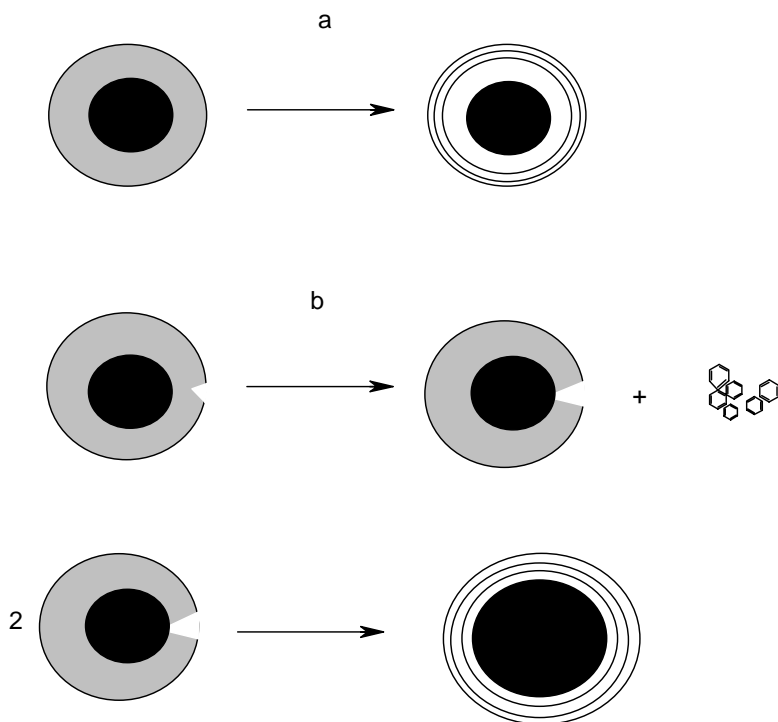
cząstki, używano mniej $\text{Fe}(\text{CO})_5$, natomiast większe cząstki tworzyły się, gdy użyto więcej $\text{Fe}(\text{CO})_5$ i przedłużono ogrzewanie [89].

Innymi stabilizującymi surfaktantami, które znalazły zastosowanie w syntezie nanocząstek w warunkach termicznych lub sonochemicznych, są tlenek trioktylofosfiny (TOPO) [90, 91], 2,4-pentanedion [18] oraz amfifilowy kwas merkaptoundekanowy, $\text{HS}(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ [92].

Metoda chemicznego osadzenia z fazy gazowej została użyta do otrzymania $\text{FeMo}/\text{Al}_2\text{O}_3$ i $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$, katalizatorów wykorzystanych następnie do rozkładu metanu i wytworzenia nanorurek węglowych. Prekursorem był $\text{Fe}(\text{CO})_5$, a cząstki Fe^0 o wielkości 20–60 nm okazały się katalitycznie nieaktywne. Znacznie lepsze wyniki uzyskano z nanocząstkami bimetalicznymi FeMo , o średnicy 3–20 nm, otrzymanymi z $\text{Fe}(\text{CO})_5$ i $\text{Mo}(\text{CO})_6$, przy czym najlepszą selektywność do nanorurek obserwowano przy niskich stosunkach $\text{Fe}:\text{Mo}$ [93].

Prekursorami w syntezie nanocząstek Fe^0 mogą być także proste sole, które redukuje się np. NaBH_4 . Ten sposób wykorzystano redukując FeSO_4 za pomocą NaBH_4 , a otrzymane nanocząstki zastosowano następnie do katalitycznego rozkładu boranu amonu, NH_3BH_3 [94]. Duża zawartość wodoru w tym materiale pozwala go traktować jako magazyn wodoru. W drugim eksperymencie generowano nanocząstki Fe^0 *in situ*, przez redukcję FeSO_4 za pomocą NaBH_4 , w obecności NH_3BH_3 . Tak otrzymany katalizator był ok. 20 razy bardziej aktywny niż pierwszy, co najlepiej obrazuje skrócenie czasu reakcji rozkładu. Badania strukturalne pozwoliły określić różnice w budowie obu katalizatorów i wskazać na podwójną rolę NH_3BH_3 , który służy zarówno jako reagent, jak i czynnik dyspergujący [94].

Nanocząstki żelaza kapsułkowane w węglu otrzymano w dużej skali przez kokarbonizację aromatycznych ciężkich olejów i ferrocenu w 495°C , a następnie ekstrakcję produktu pirydyną [95]. Po wysuszeniu ekstraktu pirydynowego nanocząstki ogrzewano w 1000°C i stwierdzono, że cząstki stały się większe, a struktura otoczki węglowej zmienia się z nieuporządkowanej na strukturę grafitu. Jest to interesujące, ponieważ grafityzacja węgla zachodzi zwykle w temperaturze powyżej 2000°C , więc obserwowany proces można wiązać z dużą aktywnością cząstek żelaza. Stwierdzono, że istotnymi etapami reakcji są: rozpuszczanie amorficznego węgla w żelazie oraz tworzenie węglików żelaza, a następnie ich rozkład. Prawdopodobnie oddziaływanie chemiczne $\text{Fe}-\text{C}$ podczas karbonizacji powoduje zmiany strukturalne powstającego węgla [95]. Na Rysunku 21 przedstawiono także proces koalescencji, której sprzyja obecność nawet niewielkich defektów (dziur lub pęknięć) lub uwalnianie związków poliaromatycznych w czasie ogrzewania. Ogrzewanie wymusza także reorganizację warstwy węglowej i łączenie mniejszych cząstek w większe.



Rysunek 21. Zmiany strukturalne kapsułkowanych nanocząstek żelaza; a) grafityzacja warstwy węglowej, b) koalescencja zdefektowanych nanocząstek po emisji związków poliaromatycznych

Figure 21. Structural changes of carbon-encapsulated iron nanoparticles; a) graphitization of carbon-layer, b) coalescence of defected nanoparticles after releasing of polyaromatic species

Fulerenowy kompleks Fe, poddany termolizie w atmosferze N_2 , uległ przekształceniu w nanocząstki żelaza zdyspergowane w materiale węglowym. W zależności od temperatury, otrzymywano nanocząstki o różnych rozmiarach. Na przykład: termoliza w $700^\circ C$ doprowadziła do wysoko zdyspergowanych nanocząstek o średnim rozmiarze 7,4 nm, natomiast w $900^\circ C$ tworzyły się nanokapsuły i nanorurki węglowe, dzięki katalitycznej aktywności nanocząstek Fe [96].

Immobilizowane nanocząstki Fe^0 otrzymano w warunkach mikrofalowych z $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ w etanolu, w obecności nośnika (MCM-41, węgiel, skrobia, celuloza), w czasie ok. 15 min., stosując moc 200 W [97]. Zawartość Fe wynosiła 0,3–0,35%, z czego ponad 98% znajdowało się w postaci Fe^0 , jak ustalono metodą EDS. W zależności od nośnika, wielkości nanocząstek były różne, a największe klastry, o rozmiarach 100–150 nm, stwierdzono na nośniku węglowym. Warto zauważyć, że potencjał redukcji Fe^{2+}/Fe^0 (równy $-0,4089$ V) jest znacznie niższy niż np. Ru, Pd czy Ag, a mimo to obserwuje się powstawanie Fe^0 w etanolu. Wskazuje to na istotną rolę w procesie redukcji promieniowania mikrofalowego, które jest wspomagane obecnością polarnego rozpuszczalnika i nośnika bogatego w grupy

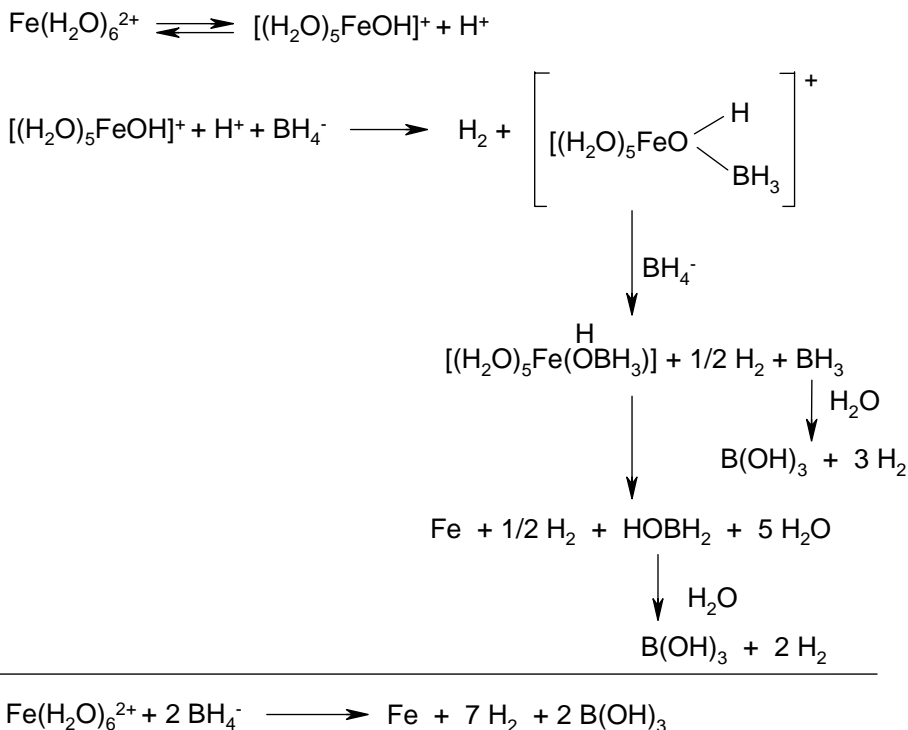
hydroksylowe, które wiążą jony Fe^{2+} . Imobilizowane nanocząstki Fe^0 użyto jako katalizatory utleniania alkoholu benzyloвого za pomocą H_2O_2 do benzaldehydu. Najlepsze właściwości katalityczne stwierdzono dla Fe naniesionego na skrobi, natomiast Fe na celulozie i na MCM-41 były trochę mniej aktywne. W recyklingu najlepszy okazał się katalizator Fe/MCM-41 [97].

Rozpuszczalne w wodzie bimetaliczne nanocząstki FeAu o wielkości 4–6 nm otrzymano, używając dwóch różnych prekursorów żelaza, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ i $\text{Fe}(\text{CO})_5$ oraz $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [98]. Otrzymane materiały miały strukturę *core-shell*, gdzie rdzeń stanowił Fe lub Fe_2O_3 , a otoczkę Au. Redukcję prowadzono w obecności bromku (di-*n*-dodecylo)dimetyloamoniowego oraz kwasu 3-merkapto-1-propanosulfonowego, stosując NaBH_4 jako reduktor. Prekursory były wprowadzane do gorącego roztworu zawierającego składniki organiczne, a po dodaniu reduktora tworzyły się nanocząstki. Podczas pomiarów HRTEM zauważono interesujące zjawisko migracji nanocząstek, jednak nie następowała ich rekrytalizacja. Nanocząstki otrzymane z obu prekursorów różnią się trwałością, przy czym te pochodzące od Fe^{2+} są mniej trwałe i po rozpuszczeniu w wodzie ich kolor zmieniał się w ciągu ok. 30 min. z zielonego na rdzawy, a następnie strącał się osad. Nanocząstki otrzymane z Fe^0 były bardziej trwałe [98].

Zbadano elektrodepozycję reaktywnych nanocząstek Fe^0 na elektrodzie diamentowej, dotowanej borem [99]. Stwierdzono, że uwodniony tlenek żelaza jest wiązany efektywnie i redukowany na elektrodzie diamentowej dotowanej borem, w obecności fluorków. W 1 M wodnym roztworze NH_4F proces elektroosadzania na elektrodzie jest odwracalny. Zbadano wpływ potencjału, stężenia jonów FeF_6^{3-} , czasu osadzania i transportu masy na przebieg procesu, a do jego przyspieszenia zastosowano energię ultradźwięków. Typowe nanocząstki, uzyskane w ten sposób, miały rozmiary 20–30 nm [99].

Jednorodnie zdyspergowane nanocząstki bimetaliczne FePt otrzymano w warunkach przeniesienia fazowego z użyciem dibenzo-24-korona-8-eteru, w warunkach solwotermalnych. Substratami był $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, które zredukowano glikolem propylenowym z dodatkiem kwasu oleinowego jako stabilizatora. Nanocząstki miały średnice 15–18 nm [100].

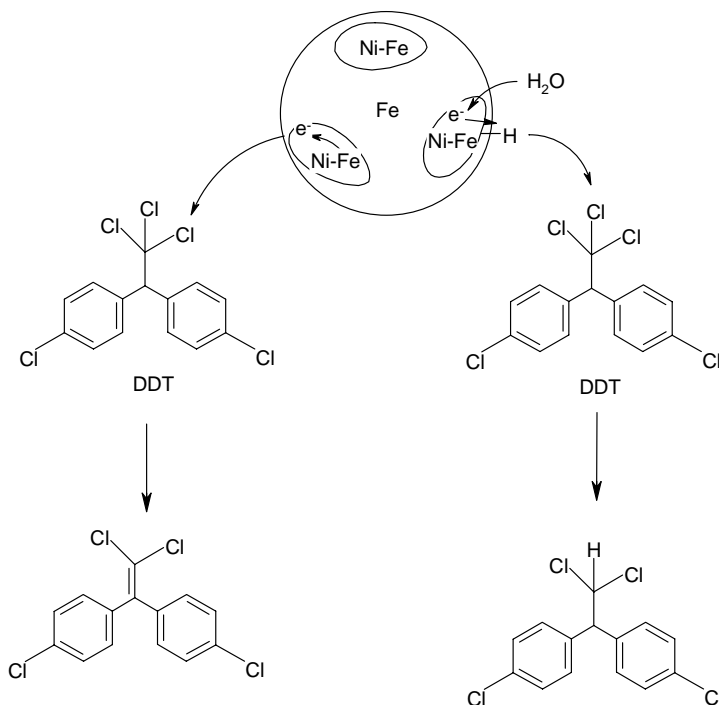
Redukcja soli żelaza, $\text{FeBr}_2(\text{aq})$, $\text{FeBr}_2(\text{diglym})$ i $\text{FeBr}_3(\text{diglym})$ za pomocą NaBH_4 doprowadziła do otrzymania nanocząstek Fe^0 oraz FeB i Fe_2B . Najbardziej powtarzalne wyniki otrzymano, gdy roztwór $\text{Fe}^{3+/2+}(\text{aq})$ dodawano do mieszanego szybko wodnego roztworu NaBH_4 w atmosferze argonu, ponieważ ta metoda pozwoliła ograniczyć reakcje uboczne z udziałem NaBH_4 [101]. Na Rysunku 22 przedstawiono schemat reakcji redukcji FeBr_2 za pomocą NaBH_4 w roztworze wodnym.



Rysunek 22. Reakcje FeBr_2 z NaBH_4 w roztworze wodnym
 Figure 22. Reactions of FeBr_2 with NaBH_4 in aqueous solution

Nanokompozyt $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4$, otrzymany przez kontrolowaną termicznie redukcję wodorem w 300°C nanocząstek Fe_2O_3 , otrzymanych z hematytu, wykorzystano w reakcji rozkładu H_2O_2 . Średnie rozmiary nanocząstek wynosiły 10–33 nm, przy czym w obecności mniejszych nanocząstek reakcja biegnie szybciej [102].

Nanocząstki bimetaliczne Ni/Fe użyto do degradacji DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorofenylo)etan) stosowanego w latach 40. jako pestycyd, a także jako insektycyd w walce z chorobami przenoszonymi przez komary, jak malaria i żółta febra. Ze względu na akumulację w ekosystemie i toksyczność, DDT został wycofany z użycia, jednak pewna jego ilość znajduje się do tej pory w środowisku. Działanie bimetalicznych nanocząstek w reakcjach dechlorowania DDT przedstawia Rysunek 23 [103].



Rysunek 23. Degradacja grupy trichlorometylowej DDT w obecności nanocząstek Ni-Fe

Figure 23. Degradation of trichloromethyl group of DDT in the presence of Ni-Fe nanoparticles

EPILOG

W listopadzie minął rok, jak pożegnaliśmy na zawsze naszego Nauczyciela, Profesora Józefa J. Ziółkowskiego. Stało się to nagle, w momencie kiedy mieliśmy tak wiele planów naukowych i projektów na przyszłość. Ten artykuł poświęcony jest jednemu z takich tematów, związanych w naszej pamięci z Panem Profesorem.

Kilka lat temu, na początku 2003 r., Profesor otrzymał od prof. J.-M. Basset z Lyonu zaproszenie do udziału w konsorcjum przygotowującym europejski projekt „Nanocat”, którego tematyka dotyczyła nanokatalizy. Prof. J.-M. Basset, wybitny specjalista w zakresie katalizy molekularnej, organizował międzynarodową grupę do realizacji tego projektu, a nasz zespół był jedynym zaproszonym z Polski. Powstał bardzo dobry wniosek, który niestety nie uzyskał finansowania Komisji Europejskiej, ale tematyka nanocząstek pozostała w zespole. Zupełnie nowy temat, w którym nie mieliśmy wtedy żadnego doświadczenia, zafascynował i Profesora, i nas. Niektóre ciekawsze wyniki dotyczące nanocząstek palladu przedstawiamy w tym artykule, a nanocząstki metali nieszlachetnych są przedmiotem dalej prowadzonych prac.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] W. Romanowski, *Metale w stanie wysokiej dyspersji*, PWN, Warszawa, 1979.
- [2] G. A. Somorjai, *Introduction to Surface Chemistry and Catalysis*, Wiley, New York, 1994.
- [3] G. Schmid, *Clusters and Colloids – From Theory to Applications*, VCH, Weinheim, 1994.
- [4] G. Schmid, *Nanoparticles – From Theory to Applications*, VCH, Weinheim, 2004.
- [5] W. Romanowski, *Mikrocząstki i cluster metaliczne w katalizie*, PWN, Warszawa, 1983.
- [6] L.N. Lewis, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 2693.
- [7] J.D. Aiken III, R.G. Finke, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 1999, **145**, 1.
- [8] M.T. Reetz, J.G. de Vries, *Chem. Commun.*, 2004, 1559.
- [9] N.A. Frey, S. Peng, K. Cheng, S. Sun, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 2532.
- [10] Y. Jun, J. Choi, J. Cheon, *Chem. Comm.*, 2007, 1203.
- [11] D. Astruc, *Inorg. Chem.*, 2007, **46**, 1884.
- [12] A.M. Trzeciak, J.J. Ziółkowski, *Coord. Chem. Rev.*, 2005, **249**, 2308.
- [13] N. Toshima, T. Yonezawa, *New J. Chem.*, 1998, **22**, 1179.
- [14] E. Gaffet, M. Tachikart, O. El Kedim, R. Rahouadj, *Mater. Charact.*, 1996, **36**, 185.
- [15] N.R. Shiju, V.V. Gulians, *Appl. Catal. A: General*, 2009, **356**, 1.
- [16] D. Astruc, F. Lu, R. Aranzaes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 7852.
- [17] M. Moreno-Manas, R. Pleixats, *Acc. Chem. Res.*, 2003, **36**, 638.
- [18] D.L. Huber, *Small*, 2005, **1**, 482.
- [19] M.T. Reetz, W. Helbig, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 7401.
- [20] M.T. Reetz, S.A. Quaiser, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, **34**, 2240.
- [21] M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. London*, 1857, **147**, 145.
- [22] Y. Shiraishi, D. Ikenaga, N. Toshima, *Aust. J. Chem.*, 2003, **56**, 1025.
- [23] C.W. Chen, T. Takezako, K. Yamamoto, T. Serizawa, M. Akashi, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 2000, **169**, 107.
- [24] Y.T. Vu, J.E. Mark, *Colloid Polym. Sci.*, 2004, **282**, 613.
- [25] A. Borsla, A.M. Wilhelm, H. Delmas, *Catal. Today*, 2001, **66**, 389.
- [26] J. Kiwi, M. Grätzel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 7214.
- [27] C.K. Tan, V. Newberry, T.R. Webb, C.A. McAuliffe, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1987, 1299.
- [28] P.D. Landre, D. Richard, M. Draye, P. Gallezot, M. Lemaire, *J. Catal.*, 1994, **147**, 214.
- [29] K. Nasar, F. Fache, M. Lemaire, J.-C. Béziat, M. Besson, P. Gallezot, *J. Mol. Catal.*, 1994, **87**, 107.
- [30] W. Yu, H. Liu, *Chem. Mater.*, 1998, **10**, 1205.
- [31] M.A. Watzky, R.G. Finke, *Chem. Mater.*, 1997, **9**, 3083.
- [32] J.D. Aiken III, R.G. Finke, *Chem. Mater.*, 1999, **11**, 1035.
- [33] J.D. Aiken III, R.G. Finke, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 8803.
- [34] D.I. Svergun, E.V. Shtykova, A.T. Dembo, L.M. Bronstein, O. A. Platonova, A.N. Yakunin, P.M. Valetsky, A.R. Khokhlov, *J. Chem. Phys.*, 1998, **109**, 11109.
- [35] A.B.R. Mayer, S.H. Hausner, J.E. Mark, *Polym. J.*, 2000, **32**, 15.
- [36] S. Kidambi, M.L. Bruening, *Chem. Mater.*, 2005, **17**, 301.
- [37] Y.J. Huang, D. Li, P. He, C.Y. Sun, M.J. Wang, J.H. Li, *J. Electroanal. Chem.*, 2005, **579**, 277.
- [38] D.H. Chen, S.H. Wu, *Chem. Mater.*, 2000, **12**, 1354.
- [39] C.C. Wang, D.H. Chen, T.C. Huang, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 2001, **189**, 145.
- [40] M. Adlim, M. Abu Bakar, K.Y. Liew, J. Ismail, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2004, **212**, 141.
- [41] H. Bönemann, R.M. Richards, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2001, 2455.
- [42] R. Narayanan, M. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B*, 2005, **109**, 12663.
- [43] D.H. Napper, *Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersions*, Academic Press, London, 1983.
- [44] R.B. Grubbs, *Polym. Rev.*, 2007, **47**, 197.

- [45] H. Bönnemann, G. Braun, W. Brijoux, R. Brinkmann, A. Schulze-Tilling, K. Seevogel, K. Siepen, *J. Organomet. Chem.*, 1996, **520**, 143.
- [46] M.T. Reetz, G. Lohmer, *Chem. Commun.*, 1996, 1921.
- [47] F.-X. Felpin, T. Ayad, S. Mitra, *Eur. J. Org. Chem.*, 2006, 2679.
- [48] A. Gniewek, A.M. Trzeciak, J.J. Ziółkowski, L. Kępiński, J. Wrzyszczyk, W. Tylus, *J. Catal.*, 2005, **229**, 332.
- [49] A. Gniewek, J.J. Ziółkowski, A.M. Trzeciak, L. Kępiński, *J. Catal.*, 2006, **239**, 272.
- [50] M.T. Reetz, M. Maase, *Adv. Mater.*, 1999, **11**, 773.
- [51] H.P. Choo, K.Y. Liew, W.A.K. Mohamood, H. Liu, *J. Mater. Chem.*, 2001, **11**, 2906.
- [52] H.P. Choo, K.Y. Liew, H. Liu, *J. Mater. Chem.*, 2002, **12**, 934.
- [53] J. Wrzyszczyk, W. Miśta, D. Hreniak, W. Stręk, M. Zawadzki, H. Grabowska, *J. Alloys Compd.*, 2002, **341**, 358.
- [54] H. Grabowska, L. Syper, M. Zawadzki, *Appl. Catal. A: Gen.*, 2004, **277**, 91.
- [55] J.-M. Basset, F. Lefebvre, C. Santini, *Coord. Chem. Rev.*, 1998, **178**, 1703.
- [56] M. Campanati, G. Fornasari, A. Vaccari, *Catal. Today*, 2003, **77**, 299.
- [57] I. Pryjomska-Ray, A. Gniewek, A. M. Trzeciak, J. J. Ziółkowski, W. Tylus, *Top. Catal.*, 2006, **40**, 173.
- [58] I. Pryjomska-Ray, *Palladowe układy katalityczne dla reakcji Hecka*, Praca doktorska, Uniwersytet Wrocławski – Wydział Chemii, 2007.
- [59] S. Castillo, M. Morán-Pineda, R. Gómez, *Catal. Commun.*, 2001, **2**, 295.
- [60] J. Wrzyszczyk, M. Zawadzki, A.M. Trzeciak, W. Tylus, J.J. Ziółkowski, *Catal. Lett.*, 2004, **93**, 85.
- [61] A. Gniewek, J.J. Ziółkowski, A.M. Trzeciak, M. Zawadzki, H. Grabowska, J. Wrzyszczyk, *J. Catal.*, 2008, **254**, 121.
- [62] F. Bellina, A. Carpita, R. Rossi, *Synthesis*, 2004, 2419.
- [63] A. Desforge, R. Backov, H. Deluze, O. Mondain-Monval, *Adv. Funct. Mater.*, 2005, **15**, 1689.
- [64] A. Gniewek, *Nanocząstki palladowe i rodowe aktywne w reakcjach katalitycznych*, Praca doktorska, Uniwersytet Wrocławski – Wydział Chemii, 2009.
- [65] J. Park, E. Kang, S.U. Son, H.M. Park, M.K. Lee, J. Kim, K.W. Kim, H.J. Noh, J.H. Park, C.J. Bae, J.G. Park, T. Hyeon, *Adv. Mater.*, 2005, **17**, 429.
- [66] C.E. Tucker, J.G. de Vries, *Top. Catal.*, 2002, **19**, 111.
- [67] P. Lu, T. Teranishi, K. Asakura, M. Miyake, N. Toshima, *J. Phys. Chem. B*, 1999, **103**, 9673.
- [68] M.L. Singla, A. Negi, V. Nahajan, K.C. Singh, D.V.S. Jain, *Appl. Catal. A: Gen.*, 2007, **323**, 51.
- [69] J. Osuna, D. de Caro, C. Amiens, B. Chaudret, E. Snoeck, M. Respaud, J.-M. Broto, A. Fert, *J. Phys. Chem.*, 1996, **100**, 14571.
- [70] F.A. Reboredo, G. Galli, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 7979.
- [71] F. Dumestre, B. Chaudret, C. Amiens, M.-C. Fromen, M.-J. Casanove, P. Renaud, P. Zurcher, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2002, **41**, 4286.
- [72] A.C.S. Samia, K. Hyzer, J.A. Schlueter, C.-J. Qin, J.S. Jiang, S.D. Bader, X.-M. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 4126.
- [73] J.L. Rodgers, J.W. Rathke, R.J. Klinger, C.L. Marshall, *Catal. Lett.*, 2007, **114**, 145.
- [74] E. Barea, X. Batlle, F. Bourges, A. Corma, V. Fornes, A. Labarta, V. F. Puntes, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 18026.
- [75] G. Prieto, A. Martinez, P. Concepcion, R. Moreno-Tost, *J. Catal.*, 2009, **266**, 129.
- [76] J.U. Ribeiro, J.W.C. Liberatori, H. Winnishofer, J.M.C. Bueno, D. Zanchet, *Appl. Catal. B: Environmental*, 2009, **91**, 670.
- [77] G.L. Bezemer, U. Falke, A.J. van Dillen, K.P. de Jong, *Chem. Commun.*, 2005, 731.
- [78] W. Chu, P.A. Chernavskii, L. Gengembre, G.A. Pankina, P. Fonngarland, A.Y. Khodakov, *J. Catal.*, 2007, **252**, 215.

- [79] D.O. Silva, J.D. Scholten, M.A. Gelesky, S.R. Teixeira, A.C.B. Dos Santos, E.F. Souza-Aguiar, J. Dupont, *ChemSusChem.*, 2008, **1**, 291.
- [80] A. Schätz, R.N. Grass, W.J. Stark, O. Reiser, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 8262.
- [81] H. Li, J. Liu, S. Xie, M. Qiao, W. Dai, X. Li, *J. Catal.*, 2008, **259**, 104.
- [82] J.-I. Park, N.-J. Kang, Y.-W. Jun, S.J. Oh, H.-C. Ri, J. Cheon, *Chem. Phys. Chem.*, 2002, **6**, 543.
- [83] J.Y. Kim, J.H. Park, O.-S. Jung, Y.K. Chung, K.H. Park, *Catal. Lett.*, 2009, **128**, 483
- [84] K.H. Park, S.Y. Kim, Y.K. Chung, *Org. Biomol. Chem.*, 2005, **3**, 395.
- [85] K.H. Park, I. Gu, Jung, Y.K. Chung, *Org. Lett.*, 2004, **6**, 1183.
- [86] T.W. Smith, D. Wychick, *J. Phys. Chem.*, 1980, **84**, 1621.
- [87] K.S. Suslick, M. Fang, T. Hyeon, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 11960.
- [88] T. Hyeon, S.S. Lee, J. Park, Y. Chung, H.B. Na, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 12798.
- [89] D. Farrell, S.A. Majetich, J.P. Wilcoxon, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 11022.
- [90] S.-J. Park, S. Kim, S. Lee, Z.G. Khim, K. Char, T. Hyeon, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 8581.
- [91] T. Hyeon, *Chem. Comm.*, 2003, 927.
- [92] G. Kataby, A. Ulman, M. Cojocaru, A. Gedanken, *J. Mater. Chem.*, 1999, **9**, 1501.
- [93] E. Lamouroux, P. Serp, Y. Kihn, P. Kalck, *Catal. Comm.*, 2006, **7**, 604.
- [94] J.-M. Yan, X.-B. Zhang, S. Han, H. Shioyama, Q. Xu, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2008, **47**, 2287.
- [95] J. Huo, H. Song, X. Chen, S. Zhao, C. Xu, *Mat. Chem. Phys.*, 2007, **101**, 221.
- [96] T. Nakae, Y. Matsuo, M. Takagi, Y. Sato, K. Suenaga, E. Nakamura, *Chem. Asian J.*, 2009, **4**, 457.
- [97] C. Gonzalez-Arellano, J.M. Campelo, D.J. Macquarrie, J.M. Marinas, A.A. Romero, R. Luque, *ChemSusChem.*, 2008, **1**, 746.
- [98] N. Dahal, V. Chikan, J. Jasinski, V.J. Leppert, *Chem. Mater.*, 2008, **20**, 6389.
- [99] V. Saez, J. Gonzalez-Garcia, M. A. Kulandainathan, F. Marken, *Electrochem. Comm.*, 2007, **9**, 1127.
- [100] M. Wen, H. Qi, W. Zhao, J. Chen, L. Li, Q. Wu, *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2008, **312**, 73.
- [101] G.N. Glavee, K.J. Klabunde, C.M. Sorensen, G.C. Hadjipanayis, *Inorg. Chem.*, 1995, **34**, 28.
- [102] A.L. Andrade, D.M. Souza, M.C. Pereira, J.D. Fabris, R.Z. Domingues, *J. Nanoscience and Nanotechnology*, 2009, **9**, 3695.
- [103] H. Tian, J. Li, Z. Mu, L. Li, Z. Hao, *Sep. Purif. Technol.*, 2009, **66**, 84.

Praca wpłynęła do Redakcji 24 listopada 2009

**ANALITYCZNE ZASTOSOWANIE
ZJAWISKA CHEMILUMINESCENCJI.
JONY LANTANOWCÓW(III) I ICH KOMPLEKSY
JAKO FLUOROFORY W MIESZANINACH
REAKCYJNYCH**

ANALYTICAL APPLICATION
OF CHEMILUMINESCENCE.
LANTHANIDE(III) IONS AND THEIR COMPLEXES
AS FLUOROPHORES IN REACTION MIXTURES

Małgorzata Kaczmarek, Stefan Lis

*Zakład Ziem Rzadkich, Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza,
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań*

Abstract

Wstęp

1. Chemiluminescencja i mechanizmy powstania substancji wzbudzonych
2. Aparatura do pomiarów chemiluminescencyjnych
3. Układy chemiluminescencyjne najczęściej wykorzystywane w analityce
 - 3.1. Układy reakcyjne z luminolem
 - 3.2. Układy reakcyjne z KMnO_4
 - 3.3. Układy reakcyjne z tris(2,2'-bipirydylo)rutenem (III)
 - 3.4. Układy reakcyjne generujące reaktywne formy tlenu (ROS) i azotu (RNS)
4. Układy reakcyjne zawierające jony lantanowców i ich kompleksy

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr Małgorzata Kaczmarek ukończyła studia chemiczne na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w 1991 r. Pracę doktorską pt.: „Właściwości luminescencyjne jonów Eu(II)/(III) w kompleksach z wybranymi kwasami aminopolikarboksylowymi i związkami makrocyklicznymi” obroniła w 1998 r. Obecnie zatrudniona jest w Zakładzie Ziem Rzadkich Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Jej zainteresowania naukowe obejmują zagadnienia związane z fizykochemicznymi właściwościami jonów lantanowców i ich kompleksów, ze szczególnym uwzględnieniem zjawiska chemiluminescencji i jego zastosowania w analityce. Badania dotyczące obecności jonów lantanowców(III) (głównie Tb(III) i Eu(III)) lub ich kompleksów w układach reakcyjnych umożliwiając, zarówno określenie mechanizmu procesów w nich przebiegających, jak i zastosowanie wybranych mieszanin reakcyjnych w analityce chemicznej, np.: środków farmaceutycznych, zawierających jako substancje czynne tetracykliny, fluorochinolony. Dr Małgorzata Kaczmarek jest współautorem 24 prac naukowych.



Prof. dr hab. Stefan Lis jest profesorem zwyczajnym i kierownikiem Zakładu Ziem Rzadkich na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Stopień magistra uzyskał w 1976 r., doktora – 1986, dr habilit. – 1995, tytuł profesora – w 2003 na Wydziale Chemii UAM. Jest wiceprezesem Polskiego Towarzystwa Chemicznego.

Jego zainteresowania naukowe obejmują szeroko rozumianą fizykochemię nieorganiczną, chemię analityczną i koordynacyjną oraz spektroskopię pierwiastków ziem rzadkich. W szczególności dotyczą właściwości emisyjnych (fotoluminescencji, chemiluminescencji i elektrochemiluminescencji) kompleksów (z różnorodnymi grupami ligandów organicznych i heteropolianionów skondensowanych) z jonami lantanowców, Ln(III), w roztworze, fazie stałej, układach kserożelowych i nanomateriałach domieszkowanych jonami Ln(III). Badania te są wykorzystywane do określania koordynacji lantanowców, ustalania mechanizmów procesów fotofizycznych i w aplikacjach analitycznych oraz materiałowych, takich jak nanoluminofory.

Współpracuje naukowo z zagranicznymi grupami badawczymi w USA, Japonii, Niemczech, Belgii, Izraelu, Francji i Republice Czeskiej.

Jest autorem lub współautorem 145 prac naukowych, ogłoszonych prawie wyłącznie w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, 4 patentów oraz około 300 komunikatów naukowych, prezentowanych na konferencjach krajowych i zagranicznych. Wygłosił ponad 50 wykładów na konferencjach międzynarodowych lub na zaproszenie w naukowych ośrodkach zagranicznych.

ABSTRACT

The aim of this review is to evaluate the use of chemiluminescence (CL) as the method for determination of a wide group of organic and inorganic compounds. Chemiluminescence can be defined as the light emission resulting from the transition of an electronically excited state produced in a reaction [1, 2]. CL, in spite of complicated processes occurring in reaction systems, has been used since many years in chemical analysis [13, 22, 30]. Although many chemiluminescence reagents investigated, only a limited number, such as luminol, tris(2,2-bipyridyl)ruthenium(III), potassium permanganate and the Fenton reaction, generating chemical sources of reactive oxygen and nitrogen species, were successfully used for analytical applications. The Fenton system Fe(II)/(III)–H₂O₂ is the source reactive oxygen species and hydrogen radicals [52, 53]. Analytical techniques based on CL have been used in, *e.g.*: pharmacological studies, clinical and environmental diagnostics [14–17, 22–30, 39–47, 62–65]. Ultra-weak intensity of generated emission (1–10⁴ hv · s⁻¹ · cm⁻²) requires very sensitive detectors and special apparatus, as our detection system for CL measurements based on single photon counting [11].

Studies of CL systems characterised by low intensity of the CL emission require the use of sensitizers. Due to their specific luminescence properties, the lanthanide ions, mainly europium(III) and terbium(III) and their complexes, can be successfully used as chemiluminescence fluorophores [11, 57, 71, 75, 76]. Examples of chemiluminescent methods used for determination of organic molecules (aminoacids, antibiotics, chemotherapeutics), based on the lanthanide(III) ions emission, as a result of the energy transfer process from the excited products of the organic molecule oxidation to the Ln(III), are presented [77, 78].

Keywords: chemiluminescence, lanthanide ions, analytical application

Słowa kluczowe: chemiluminescencja, jony lantanowców, zastosowanie analityczne

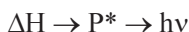
WSTĘP

Fenomen emisji światła towarzyszący reakcjom chemicznym znany był już dawno. W 1877 r. Radziszewski obserwował emisję zielonawego światła, w wyniku reakcji lofiny z tlenem w środowisku zasadowym. Metoda chemiluminescencyjna, wykorzystywana w badaniach układów organicznych i nieorganicznych, w istocie swej obejmuje zjawiska wynikające jedynie z przebiegu reakcji chemicznej, bez udziału energii z zewnątrz. Umożliwia to przeprowadzenie badań podstawowych, nie tylko w zakresie charakterystyki utworzonego nowego związku chemicznego, lecz również monitorowania całego procesu reakcji, z uwzględnieniem jej energetyki i kinetyki. Odnotowany, zwłaszcza w ostatnich 30 latach, wzrost zainteresowania zjawiskiem chemiluminescencji w dużej mierze wynika z możliwości praktycznego zastosowania układów reakcyjnych do opracowywania nowych metod analitycznych, charakteryzujących się wysoką czułością i selektywnością.

1. CHEMILUMINESCENCJA I MECHANIZMY POWSTANIA SUBSTANCJI WZBUDZONYCH

Chemiluminescencja (CL) to emisja promieniowania elektromagnetycznego towarzysząca reakcjom chemicznym, powstająca kosztem energii procesów elementarnych. Może powstawać w wyniku reakcji zachodzących zarówno w fazie gazowej, ciekłej, jak i na granicy faz.

Ogólnie, chemiluminescencja powstaje, gdy znaczna część energii reakcji chemicznej (entalpii ΔH) przekształca się w energię wzbudzenia elektronowego produktu reakcji (P^*), który emituje kwant światła $h\nu$:



Istotą procesu jest stadium wzbudzenia ($\Delta H \rightarrow P^*$), przy czym musi być spełniony warunek:

$$E_{h\nu} < \Delta H + \Delta H^\ddagger$$

gdzie $E_{h\nu}$ jest energią emitowanego kwantu, ΔH^\ddagger jest entalpią aktywacji. Stadium $P^* \rightarrow h\nu$ stanowi luminescencję. Na stadium to nie ma już wpływu kinetyka i mechanizm reakcji. Natomiast wpływ wywierają procesy fizyczne, takie jak konwersja wewnętrzna, migracja energii wzbudzenia itp., a więc te same, które odgrywają istotną rolę w każdym rodzaju luminescencji. Widma chemiluminescencji i fluorescencji emitera (P^*) są identyczne i mogą być obserwowane w obszarze nadfioletu oraz w zakresie widzialnym i podczerwonym widma [1, 2].

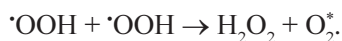
Wyjaśnienie sposobu powstawania cząsteczek wzbudzonych, ze względu na złożony przebieg reakcji chemicznych, jest stosunkowo trudne. Istnieją trzy teorie powstawania cząsteczek wzbudzonych w wyniku reakcji w roztworach. Są to teorie:

1. rodnikowa,
2. przeniesienia elektronu,
3. równoczesnego rozerwania kilku wiązań w jednej cząsteczce.

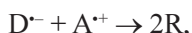
Teoria rodnikowa chemiluminescencji opiera się na odwracalności procesu fotolizy i chemiluminescencji [3–8]:



Jako przykład podawane są reakcje utleniania w układach: $H_2O_2 + Ce(IV)$, $H_2O_2 + Ti(III)$, w których w wyniku rekombinacji rodników tlenowych RO_x^{\cdot} ($R = H$, $x \geq 1$) tworzą się wzbudzone oscylacyjnie i elektronowo cząsteczki tlenu [9], np.:



Teoria przenoszenia elektronu Chandrossa i Sonntaga [10] zakłada, że cząsteczka wzbudzona elektronowo tworzy się w wyniku przeniesienia elektronu od rodnika, np.: węglowodoru aromatycznego na odpowiedni akceptor, np. utleniacz. Proces przenoszenia elektronu, przebiegający prawdopodobnie z udziałem efektu tunelowego, uwalnia energię w małej objętości pojedynczej cząsteczki w czasie bardzo krótkim, w porównaniu z czasem potrzebnym do „rozmycia klatki” rozpuszczalnika i uwolnienia energii cieplnej, do ośrodka o dużej objętości. Ogólnie proces ten można wyrazić następującym równaniem:



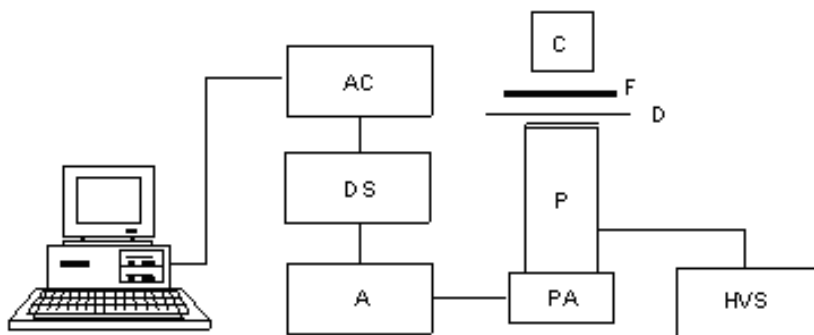
gdzie: $D^{\cdot-}$ – donor elektronu, anion rodnika, A^{+} – akceptor elektronów, kation rodnika, R – rodnik. Reakcje chemiluminescencji z przeniesieniem elektronu stanowią jeden z nielicznych przykładów wzbudzenia chemicznego, które mogą zachodzić bez udziału tlenu.

Trzecia teoria, tj. teoria równoczesnego rozerwania kilku wiązań w jednej cząsteczce, z utworzeniem kilku stabilnych produktów, dotyczy przede wszystkim rozpadu nadtlenu.

Zjawisko chemiluminescencji, pomimo złożoności procesów przebiegających w układach reakcyjnych, jest od szeregu lat wykorzystywane w analityce chemicznej. Oprócz klasycznej luminescencji i elektroluminescencji, właśnie techniki analityczne oparte o chemiluminescencję stosowane są między innymi w badaniach farmakologicznych, diagnostyce klinicznej i środowiskowej.

2. APARATURA DO POMIARÓW CHEMILUMINESCENCYJNYCH

Skrajnie niskie natężenie otrzymywanej emisji, rzędu $1-10^4 \text{ hv} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$, jej szeroki zakres spektralny (200–1000 nm) oraz duża dynamika zmian natężenia światła, wymaga użycia bardzo czułych detektorów oraz specjalnych technik pomiarowych. Obecnie, do tego celu powszechnie są stosowane fotopowielacze elektro-
nowe.



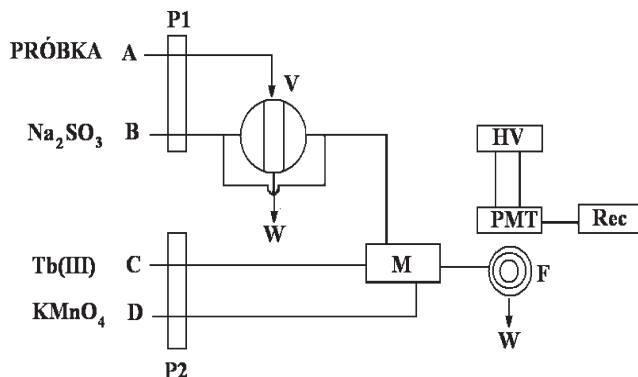
Rysunek 1. Schemat aparatury do pomiarów chemiluminescencyjnych metodą stacjonarną; AC – częstotłomierz cyfrowy C570, D – przesłona, DS – dyskryminator impulsów, F – filtry, A – wzmacniacz, P – fotopowielacz, C – naczynko pomiarowe, PA – przedwzmacniacz, HVS – zasilacz wysokiego napięcia

Figure 1. Apparatus for measurement of chemiluminescence; AC – automatic counter C570, F – filters; HVS – high voltage supplier, DS – discriminator, D – diaphragm, A – amplifier, P – photomultiplier M12 FQC51, C – measurement cell, PA – preamplifier

Rys. 1 przedstawia schemat układu pomiarowego pracującego systemem zliczania pojedynczych fotonów, skonstruowanego w Zakładzie Ziem Rzadkich Wydziału Chemii UAM [11]. Podstawowe części stosowanego układu pomiarowego to: fotopowielacz umieszczony w światłoszczelnej obudowie, zasilacz wysokiego napięcia, dyskryminator i wzmacniacz impulsów oraz częstotłomierz połączony z komputerem. Przedstawiona aparatura służy do pomiarów zarówno zmian natężenia chemiluminescencji w czasie, jak i widma emisji (rozkładu spektralnego) w oparciu o metodę filtrów granicznych.

Jednym z ważniejszych wymagań współczesnej analizy laboratoryjnej jest krótki czas wykonania oznaczeń oraz jak najdalej posunięta mechanizacja układu pomiarowego. Umożliwiają to metody analizy przepływowej, między innymi FIA – wstrzykowa analiza przepływowa (ang. *Flow Injection Analysis*), z wykorzystaniem wielu dostępnych handlowo aparatów pomiarowych. Konstrukcja układu przepływowego zależy zarówno od aspektów chemicznych pomiaru, jak i układu detekcyjnego. Ogólnie w systemie FIA roztwór nośnika i odczynniki chemiczne są pompowane w sposób ciągły przez wężyki, węzownice mieszające i przez kuwetę przepływową detektora. Mała część próbki jest wstrzykiwana do nośnika. Nośnik łączy się z jednym lub kilkoma odczynnami tak, aby nastąpiła reakcja chemiczna, której rezul-

tatem jest np.: emisja chemiluminescencji mierzona przez detektor. Na Rys. 2 przedstawiono przykładowy układ FIA do oznaczania fluorochinolonów [12].



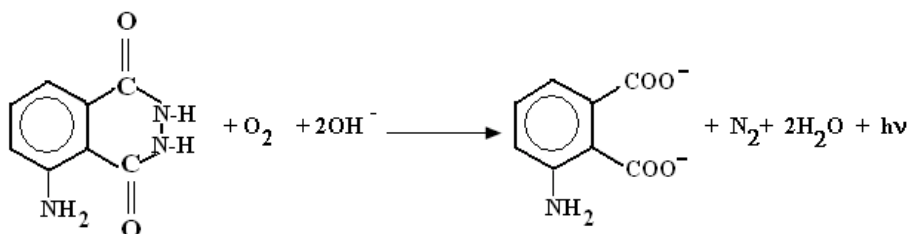
Rysunek 2. Schemat aparatury do oznaczeń chemiluminescencyjnych metodą FIA; P1, P2 – pompy perystaltyczne, M – komora mieszająca, V – komora wstrzykowa, PMT – fotopowielacz, F – przepływowe naczynko pomiarowe, W – ściek, HV – zasilacz wysokiego napięcia, Rec – rejestrator

Figure 2. Schematic diagram of the Chemiluminescence/Flow-Injection Analysis system for fluoroquinolones determination; P1, P2 – peristaltic pump, M – mixer, V – injection valve, PMT – photomultiplier tube, F – flow cell, W – waste, HV – high voltage, Rec – recorder

3. UKŁADY CHEMILUMINESCENCYJNE NAJCZĘŚCIEJ WYKORZYSTYWANE W ANALITYCE

3.1. UKŁADY REAKCYJNE Z LUMINOLEM

W wodnych układach reakcyjnych wykazujących chemiluminescencję stosowany jest luminol (hydrazyd kwasu 3-aminofталowego). Pierwszy raz chemiluminescencję tego związku opisano w 1928 r. Związek ten reaguje z wszystkimi czynnikami utleniającymi, w obecności katalizatorów, w środowisku zasadowym tworząc 3-aminonaftalen w stanie wzbudzone, wykazujący silną emisję z maksimum dla $\lambda \sim 425$ nm.



Układy reakcyjne z luminolem są stosowane do oznaczania zarówno czynników utleniających np. H_2O_2 [13], jak i substancji reagujących z utleniaczem np.: kwasu askorbinowego [14] lub katalizujących reakcję utleniania luminolu jonów: Fe(II), Mn(II) [15–17] (Tab. 1).

Tabela 1. Zastosowanie metody chemiluminescencyjnej w analityce
Table 1. Application of the chemiluminescence method in analysis

Oznaczana substancja	Metoda CL	Granica wykrywalności		Piśmiennictwo cytowane
Nadtlenek wodoru	Luminol–Co(II)– H_2O_2 w 0,1 mol L^{-1} węglanie sodu	$1,6 \times 10^{-8}$ mol l^{-1}		[13]
Kwas askorbinowy	Luminol–Fe(CN) $_6^{3-}$ – H_2O_2	$5,5 \times 10^{-3}$ μg ml^{-1}		[14]
Fe(II) i Fe(III)	Luminol– H_2O_2 katalizowane przez Fe	$2,1 \times 10^{-11}$ mol l^{-1}		[15]
Mn(II)	Luminol– H_2O_2	$2,1 \times 10^{-11}$ mol l^{-1}		[17]
Kwas salicylowy	KMnO $_4$ – H_2SO_4	0,3 μg ml^{-1} (2×10^{-6} mol l^{-1})		[28]
Sulfoamidy	KMnO $_4$ – H_2SO_4 – Aldehyd glutarowy	Sulfafurazol	9×10^{-6} mol l^{-1}	[33]
		Sulfaacetamid	1×10^{-5} mol l^{-1}	
		Sulfoguanidyna	9×10^{-6} mol l^{-1}	
Fenole	KMnO $_4$ –HCl– Formaldehyd	3×10^{-8} mol l^{-1}		[24]
Penicyliny	KMnO $_4$ – H_2SO_4 – Glioksal	Amoksylicyna	0,03 μg ml^{-1}	[32]
		Ampicylina	0,03 μg ml^{-1}	
Szczawiany	Ru(bipy) $_3^{3+}$ otrzymany na drodze elektrochemicznej	1 nmol ml^{-1}		[39]
Aminy alifatyczne	Ru(bipy) $_3^{3+}$ otrzymany na drodze elektrochemicznej	Trietyloamina	$5,4 \times 10^{-9}$ mol l^{-1}	[41]
		Tripropyloamina	$6,1 \times 10^{-10}$ mol l^{-1}	
		Tributyloamina	$4,65 \times 10^{-10}$ mol l^{-1}	
Indometacyn	Ru(bipy) $_3^{3+}$ otrzymany na drodze chemicznej Ce(IV)	5×10^{-8} mol l^{-1}		[37]
Aminokwasy	Ru(bipy) $_3^{3+}$ otrzymany na drodze elektrochemicznej	Prolina	$1,2 \times 10^{-6}$ mol l^{-1}	[43]
		Fenyloalanina	$2,5 \times 10^{-5}$ mol l^{-1}	
Tetracykliny	Ru(bipy) $_3^{3+}$ otrzymany na drodze chemicznej	Tetracyklina	$4,5 \times 10^{-8}$ mol l^{-1}	[47]
		Chlorotetracyklina	$2,1 \times 10^{-8}$ mol l^{-1}	
Tryptofan	H_2O_2 –NaNO $_2$ – H_2SO_4	$1,8 \times 10^{-7}$ mol l^{-1}		[62]
Fluorochinolony	H_2O_2 –NaNO $_2$ – H_2SO_4	Ciprofloksacyna	$4,5 \times 10^{-8}$ mol l^{-1}	[61]
		Norfloksacyna	$5,9 \times 10^{-8}$ mol l^{-1}	
		Ofloksacyna	$1,1 \times 10^{-7}$ mol l^{-1}	

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Oznaczana substancja	Metoda CL	Granica wykrywalności	Piśmiennictwo cytowane
Chlorochinina	H ₂ O ₂ -NaNO ₂ -H ₂ SO ₄	8,6 × 10 ⁻⁸ mol l ⁻¹	[63]
Nitrofurazon	H ₂ O ₂ -NaOH-NBS (N-bromosuccinimide = NBS)	2 × 10 ⁻⁸ g ml ⁻¹	[64]
Tetracyklina	H ₂ O ₂ -CH ₃ CN-NaOH	6 × 10 ⁻⁸ mol l ⁻¹	[65]
Tryptofan	H ₂ O ₂ -NaNO ₂ - H ₂ SO ₄ -Tb(III) KMnO ₄ -Na ₂ SO ₃ - -Tb(III)-FQ	Enoksacyna 2,4 × 10 ⁻¹⁰ mol l ⁻¹ Ofloksacyna 5,6 × 10 ⁻¹⁰ mol l ⁻¹	[74] [12]
Fluorochinolony	Ce(IV)-Na ₂ SO ₃ - -Tb(III)-FQ	Ciprofloksacyna 3,1 × 10 ⁻¹⁰ mol l ⁻¹	[75]
	Ce(IV)-H ₂ SO ₃ - -Tb(III)-FQ	Rufloksacyna 5 × 10 ⁻⁹ mol l ⁻¹	[76]
Tetracykliny	TC-H ₂ O ₂ - -Fe(II)/(III)-Eu(III) pH ~3,5	Chlorotetracyklina 1 × 10 ⁻⁷ mol l ⁻¹ Oksytetracyklina 5 × 10 ⁻⁸ mol l ⁻¹ Doksytetracyklina 3 × 10 ⁻⁸ mol l ⁻¹	[76, 78]

3.2. UKŁADY REAKCYJNE Z KMnO₄

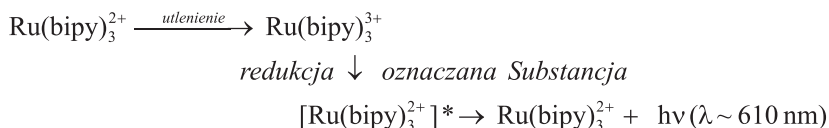
Manganian(VII) potasu należy do jednych z najczęściej stosowanych utleniaczy w mieszaninach reakcyjnych wykazujących chemiluminescencję. Reakcje oznaczania polegają głównie na reakcji utleniania oznaczanej substancji i przebiegają w środowisku kwasu siarkowego lub rzadziej zasadowym.



Ponieważ wydajność luminescencji związków karbonylowych jest bardzo mała, aby zwiększyć czułość pomiarów do układów reakcyjnych wprowadza się fluorofory, np. formaldehyd, kwas mrówkowy, rodaminę B, chininę [18–21]. Kwaśny roztwór KMnO₄ jest wykorzystywany do oznaczania szeregu związków chemicznych np.: fenoli. W tych układach zauważono zależność pomiędzy natężeniem chemiluminescencji a strukturą oznaczanego fenolu [22–27]. Ponadto, KMnO₄ stosowany jest także do oznaczania indoli [28], alkaloidów [29], biogenicznych amin, takich jak serotonina lub melatonina [30, 31], substancji czynnych w środkach farmaceutycznych i płynach fizjologicznych, np.: penicilin [32], sulfoamidów [33] oraz wielu innych (Tab. 1).

3.3. UKŁADY REAKCYJNE Z TRIS(2,2'-BIPIRYDYLO)RUTENEM(III)

Chemiluminescencję kompleksu $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ obserwowano pierwszy raz ponad 40 lat temu, a od blisko 30 lat zdecydowana większość prac dotyczy analitycznego zastosowania tego kompleksu. Ogólnie, schemat procesów przebiegających w układach analitycznych można przedstawić następująco:



Jak widać, na schemacie chemiluminescencję kompleksu $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ uzyskuje się po wytworzeniu bardzo reaktywnego utleniacza $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$, który ulega redukcji w wyniku reakcji z oznaczaną substancją. Utleniacz $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ otrzymywany jest metodą elektrochemicznego utlenienia [34, 35] lub rzadziej fotochemicznego lub chemicznego utlenienia, z użyciem Ce(IV) [36, 37] lub chloru [38]. We wszystkich układach analitycznych zawierających kompleks $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$, intensywność chemiluminescencji silnie zależy od wydajności i mechanizmu redukcji $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ do wzbudzonego $[\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}]^*$. Układy z $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{3+}$ stosowane są do oznaczania szeregu związków chemicznych. Stosowane są między innymi do oznaczania szczawianów [39], kwasu askorbinowego [40], alifatycznych i cyklicznych amin [41, 42], aminokwasów [43], leków, np. erytromycyny, tetracyklin, antybiotyków β -laktamowych i preparatów przeciwnowotworowych [44–47] (Tab. 1).

3.4. UKŁADY REAKCYJNE GENERUJĄCE REAKTYWNE FORMY TLENU (ROS) I AZOTU (RNS)

W ostatnich latach znacznie wzrosło zainteresowanie układami reakcyjnymi generującymi reaktywne formy tlenu (ROS). Oprócz badań dotyczących oddziaływania ROS na organizmy żywe, coraz więcej prac dotyczy możliwości analitycznego zastosowania mieszanin reakcyjnych, będących źródłem ROS.

Reaktywne formy tlenu to nie tylko wolne rodniki tlenowe, ale też wzbudzony tlen singletowy i nadtlenek wodoru [48, 49]. Do najważniejszych reaktywnych form tlenu zalicza się [48–50]:

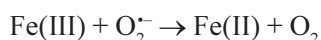
- O_2^- – anion ponadtlenkowy – rodnik raczej mało reaktywny, jest produktem jednoelektronowej redukcji tlenu
- H_2O_2 – nadtlenek wodoru – mimo że sam nie posiada niesparowanego elektronu, jest ważnym produktem pośrednim w reakcjach oksydacyjno-redukcyjnych. Wewnątrzkomórkowo H_2O_2 metabolizowany jest przez jeden z dwóch enzymów antyoksydacyjnych – peroksydazę glutationu (GSH-Px)

lub katalazę do H_2O . W obecności jonów metali, tj. Fe(II) lub Cu(I) , H_2O_2 może być redukowany – wg reakcji Fentona:



do rodnika hydroksylowego ($\cdot\text{OH}$). Może również powstawać w reakcjach O_2^- i H_2O_2 z jonami żelazowymi Fe(III) (reakcja Habera-Weissa)

- $\cdot\text{OH}$ – rodnik hydroksylowy – jest najbardziej toksyczną i reaktywną formą tlenu, reaguje praktycznie ze wszystkimi cząsteczkami występującymi w organizmie. Powstaje w wyniku rozpadu wiązania O–O w cząsteczce H_2O_2 pod wpływem wysokiej temperatury, promieniowania jonizującego lub w reakcjach H_2O_2 z metalami, np. żelazem lub miedzią (reakcja Fentona). Może również powstawać w reakcji Habera-Weissa, która obejmuje reakcję redukcji jonów Fe(III) przez O_2^- i reakcję Fentona:



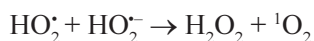
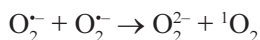
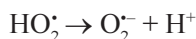
Jej sumaryczny zapis jest następujący:



- $^1\text{O}_2$ – tlen singletowy – oddziałuje z innymi cząsteczkami na dwa sposoby: przechodząc w stan trypletowy, przekazuje energię wzbudzenia lub wchodzi z cząsteczkami w reakcje chemiczne.

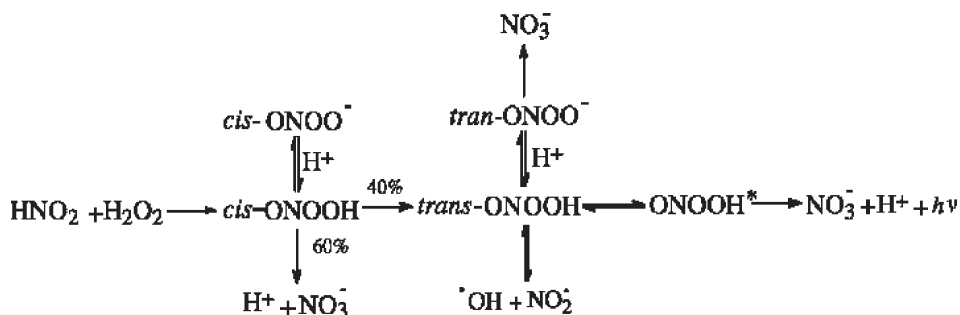
Drugą grupą związków o niesparowanych elektronach i/lub charakteryzujących się dużą reaktywnością chemiczną są reaktywne formy azotu – RNS. Do reaktywnych form azotu należy tlenek azotu (NO) oraz powstające z niego, w wyniku przemian metabolicznych, kation nitrozonowy (NO^+), anion nitroksylowy (NO^-) i nad-tlenoazotyn (ONOO^-) [50, 51].

W szeroko rozumianej analityce chemicznej zastosowanie mają chemiczne źródła reaktywnych form tlenu i azotu. Należy do nich reakcja Fentona. Układ Fentona $\text{Fe(II)/(III)}-\text{H}_2\text{O}_2$ jest źródłem nie tylko rodników hydroksylowych, ale i pozostałych ROS, na skutek zachodzących reakcji rekombinacji rodników [52, 53]



Emiterem w tym układzie są dimole tlenu singletowego ($^1\text{O}_2$), wykazujące niskie natężenie emisji. Widmo emisji ($^1\text{O}_2$) w zakresie widzialnym zawiera charakterystyczne pasma z maksimum dla $\lambda \sim 480, 520, 580, 633$ i 703 nm [54–56]. Źródłem tlenu singletowego są także układy: $\text{NH}_2\text{OH}-\text{NaOH}-\text{Cu(II)}$ [57], $\text{Cu(II)/(I)}-\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{NaOH}$ [58, 59].

W ostatnich 15 latach coraz szersze zastosowanie mają mieszaniny reakcyjne generujące jako czynnik utleniający kwas nadtlenoazotawy. Wydajnym źródłem kwasu nadtlenoazotawego jest reakcja azotanów(III) z nadtlenkiem wodoru w środowisku kwaśnym. Chemiluminescencja w tym układzie jest wynikiem izomeryzacji wzbudzonego (ONOOH^*) do azotanów(V) [60, 61]:



Mieszaniny reakcyjne stanowiące źródło reaktywnych form tlenu i azotu stosowane są w oznaczaniu aminokwasów, np.: tryptofanu [62], oraz substancji czynnych w środkach farmaceutycznych: fluorochinolonów, chlorochininy, nitrofurazonu, tetracyklin [61, 63–65] (Tab. 1).

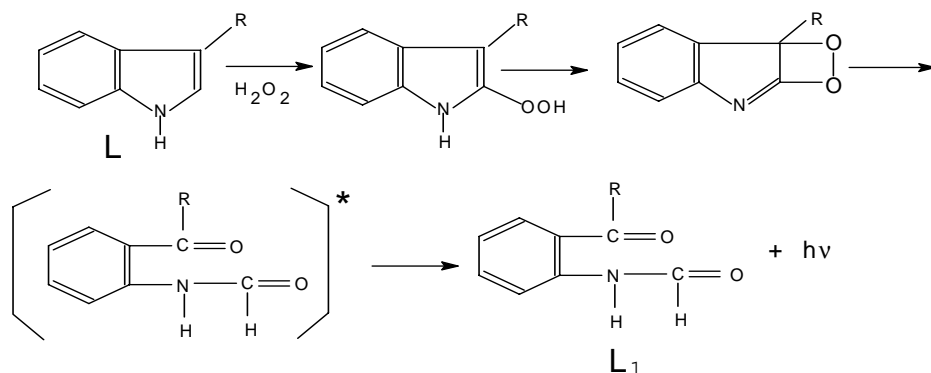
4. UKŁADY CHEMILUMINESCENCYJNE ZAWIERAJĄCE JONY LANTANOWCÓW I ICH KOMPLEKSY

W układach analitycznych jako luminofory wykorzystywane są jony lantanowców i ich kompleksy. Decydują o tym specyficzne właściwości spektroskopowe i koordynacyjne jonów Ln(III), takie jak wysokie wydajności kwantowe luminescencji roztworów wodnych niektórych chelatów lantanowców, stosunkowo długie czasy życia ich stanów wzbudzonych oraz charakterystyczne wąskie pasma emisji [66, 67]. Wzbudzenie jonów lantanowców następuje w wyniku procesu przeniesienia energii ze wzbudzonego, w wyniku reakcji chemicznej, produktu P^* do skompleksowanych lub rzadziej – nieskompleksowanych jonów Ln(III) [68–70].

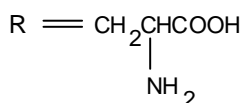
W układach reakcyjnych, w których następuje rozkład dioksetanów, jako fluorofory stosowane są β -diketonowe kompleksy jonów lantanowców, głównie Eu(III) np. $\text{Eu}(\text{TTA})_3$ (TTA – tienoilotrifluoroaceton). Chelat europu(III) z TTA jest także wydajnym fluoroforem w roztworach zasadowych, w których następuje rozkład nad-

tlenku wodoru lub utlenianie hydroksyloaminy, katalizowane jonami Cu(II) [57, 71].

Jony Ln(III) są wprowadzane do układów chemiluminescencyjnych wykorzystywanych w oznaczaniu aminokwasów, np.: tryptofanu (Tryp). Mechanizm utleniania tryptofanu z użyciem nadtlenu wodoru lub kwasu nadtlenoazotowego ONOOH, omawiany w szeregu pracach, przedstawia się następująco [72, 73]:

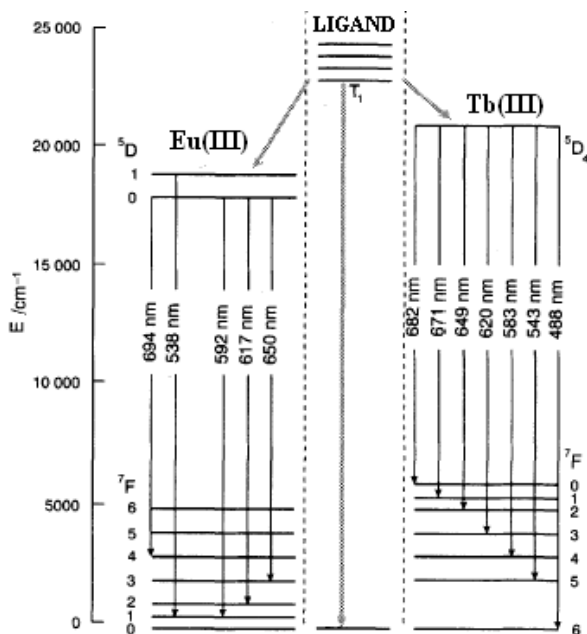


gdzie:



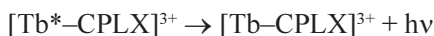
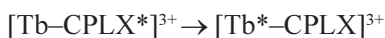
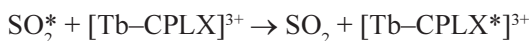
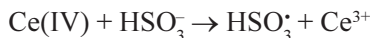
W układach tych obecność jonów Ln(III) powoduje wzrost natężenia chemiluminescencji. W przypadku jonów Eu(III), przenoszenie energii od produktu utleniania aminokwasu zachodzi tylko w kompleksie Eu-Tryp, podczas gdy dla jonów Tb(III) i Dy(III) proces ten zachodzi również do nieskompleksowanych jonów Tb(III) lub Dy(III) [11, 74]. Na tej podstawie opracowano metody oznaczania tryptofanu w mieszaninie aminokwasów, z użyciem układu generującego ONOOH, w środowisku 0,2 mol⁻¹ H₂SO₄, w którym kompleks Tb-Tryp nie powstaje [74] (Tab. 1).

Jony europu(III) i terbu(III) stanowią luminofor w chemiluminescencyjnych mieszaninach reakcyjnych, służących do oznaczania antybiotyków z grupy fluorochinolonów i tetracyklin. W tych układach duże znaczenie ma proces przenoszenia energii w kompleksie fluorochinolon-Ln(III). O wydajności tego procesu decyduje w znacznej mierze dopasowanie poziomów energetycznych liganda (stanów trypletowych) i jonów lantanowca (Rys. 3).



Rysunek 3. Schemat procesów przenoszenia energii do jonów Eu(III) i Tb(III)
 Figure 3. Scheme of energy transfer processes to Eu(III) and Tb(III) ions

Do oznaczania fluorochinolonów stosuje się następujące układy reakcyjne: $\text{KMnO}_4\text{-Na}_2\text{SO}_3\text{-Tb(III)-FQ}$ (enoksacyna lub ofloksacyna) [11] i $\text{Ce(IV)-Na}_2\text{SO}_3\text{-Tb(III)-FQ}$ (ciprofloksacyna) [75] lub $\text{Ce(IV)-H}_2\text{SO}_3\text{-Eu(III)-FQ}$ (rufloksacyna) [76] (Tab. 1). Wzbudzenie jonów Tb(III) i Eu(III) jest wynikiem międzycząsteczkowego przeniesienia energii od SO_2^* do FQ, a następnie wewnątrzcząsteczkowego przeniesienia energii od FQ^* do skompleksowanego jonu lantanowca. Poniżej przedstawiono przykładowy mechanizm w układzie $\text{Ce(IV)-Na}_2\text{SO}_3\text{-Tb(III)-FQ}$ (ciprofloksacyna CPLX) [75]:



W wyżej opisanych układach chemiluminescencyjnych, oznaczanie FQ wykonywano w roztworach wodnych, o pH warunkującym utworzenie kompleksu oznaczanego fluorochinolonu z jodem Ln(III). Natomiast w przypadku tetracyklin, opracowano układ reakcyjny TC-H₂O₂-Fe(II)/(III)-Eu(III), w którym oznaczanie tetracyklin nie wymaga utworzenia kompleksu Eu(III)-TC. Układ ten jest jednym z nielicznych, w których zachodzi proces przeniesienia energii od produktu utlenienia TC, zawierającego wzbudzone grupy (>C=O)* do nieskompleksowanych jonów europu(III) [77, 78].

PODSUMOWANIE

Z przeglądu prac wyraźnie wynika, że czynnikiem wpływającym na wzrost zainteresowania zjawiskiem chemiluminescencji jest rosnące zapotrzebowanie na bardzo czułe i selektywne metody analizy w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym, diagnostyce medycznej i środowiskowej. Analityczne techniki, wykorzystujące reakcje chemiluminescencji jako metody oznaczania, wykazują wiele zalet: poza wysoką czułością, należą do nich także nieskomplikowana aparatura pomiarowa, szybka dynamika pomiarów, szeroki zakres liniowości i łatwe połączenie z innymi technikami np.: HPLC. Wzrost czułości chemiluminescencyjnej metody analitycznej wiąże się między innymi z odpowiednim doбором fluorofora, którym oprócz związków organicznych, mogą być jony lantanowców(III) i ich kompleksy.

PODZIĘKOWANIE

W przygotowaniu pracy wykorzystano pomoc finansową MNiSW – grant N N204 028236.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] D. Sławińska, J. Sławiński, *Wiad. Chem.*, 1968, **22**, 165.
- [2] R.F. Wasiliew, *Uspiechi Chirii*, 1970, **39**, 1130.
- [3] J. Weiss, *Trans. Faraday Soc.*, 1939, **35**, 219.
- [4] R.F. Wasiliew, A.A. Wiczutinski, *Nature*, 1962, **194**, 1276.
- [5] R.F. Wasiliew, I.R. Rusina, *Dok. Akad. Nauk SSSR*, 1964, **156**, 1402.
- [6] R.F. Wasiliew, *Opt. i Spekt.*, 1965, **18**, 415.
- [7] R.F. Wasiliew, *Opt. i Spekt.*, 1965, **18**, 236.
- [8] J. Stauff, H. Schmidkunz, *Z. Phys. Chem.*, 1963, **33**, 61.
- [9] J. Stauff, H. Schmidkunz, G. Hartman, *Nature*, 1963, **198**, 281.
- [10] E.A. Chandross, F.I. Sonntag, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 3179.
- [11] M. Kaczmarek, S. Lis, *Int. J. Photoenergy*, 2007, **5**, 239.
- [12] L. Yi, H. Zhao, S. Chen, L. Jin, D. Zheng, Z. Wu, *Talanta*, 2003, **61**, 403.
- [13] D. Price, R.F.C. Mantoura, P.J. Worsfold, *Anal. Chim. Acta*, 1998, **371**, 205.

- [14] Z. Zhang, W. Qin, *Talanta*, 1996, **43**, 119.
- [15] J.T.M. Jong, J. den Das, U. Bathmann, M.H.C. Stoll, G. Kattner, R.F. Nolting, H.J.W. Baar, *Anal. Chim. Acta*, 1998, **377**, 113.
- [16] J.T.M. Jong, M. Boye, V.F. Schoemann, R.F. Nolting, H.J.W. Baar, *J. Environ. Monit.*, 2000, **2**, 496.
- [17] K. Okamura, T. Gamo, H. Obata, E. Nakayama, H. Karatani, Y. Nozaki, *Anal. Chim. Acta*, 1998, **377**, 125.
- [18] H. Paseková, M. Polášek, *Talanta*, 2000, **52** 67.
- [19] C. Thongpoon, B. Liawruangrath, S. Liawruangrath, R.A. Wheatley, A. Townshend, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006, **42**, 277.
- [20] S. Liao, X. Wu, Z. Xie, *Anal. Chim. Acta*, 2005, **537** 189.
- [21] H. Liu, Y. Hao, J. Ren, P. He, Y. Fang, *Luminescence*, 2007, **22**, 302.
- [22] T. Nakagama, M. Yamada, S. Suzuki, *Anal. Chim. Acta*, 1989, **217**, 371.
- [23] H. Ikkai, T. Nakagama, M. Yamada, T. Hobo, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1989, **62**, 1660.
- [24] W. Cao, X. Mu, J. Yang, W. Shi, Y. Zhend, *Spectrochim. Acta Part A*, 2007, **66**, 58.
- [25] J. Michałowski, P. Hałaburda, A. Kojło, *Anal. Lett.*, 2000, **33**, 1373.
- [26] B. Gomez-Taylor Corominas, G.M. Anton Fos, J.V. GarciaMateo, L. Lahuerta Zamora, J. Martíñez Calatayud, *Talanta*, 2003, **60**, 623.
- [27] J.W. Costin, N.W. Barnett, S.W. Lewis, D.J. McGillivray, *Anal. Chim. Acta*, 2003, **49**, 947.
- [28] E.J. Lorent-Martinez, P. Ortega-Barrales, A. Molina-Diaz, *Anal. Chim. Acta*, 2006, **580**, 149.
- [29] Z. Gong, Y. Zhang, H. Zhang, J. Cheng, *J. Chromatogr., A*, 1999, **855**, 329.
- [30] E.B. Sveshnikova, A.A. Stroganov, *Opt. Spektrosk.*, 1986, **60**, 521.
- [31] Y. Lee, C. Whang, *J. Chromatogr. A*, 1997, **771**, 379.
- [32] Y. Sun, Y. Tang, H. Yao, Y. Li, *Anal. Sci.*, 2005, **21**, 457.
- [33] H. Paseková, M. Polášek, J.F. Cigarro, J. Dolejšova, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **438**, 165.
- [34] S.N. Brune, D.R. Bobbitt, *Talanta*, 1991, **38**, 419.
- [35] S.N. Brune, D.R. Bobbitt, *Anal. Chem.*, 1992, **64**, 166.
- [36] I. Rubinstein, A.J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 512.
- [37] K. Mervartová, M. Polášek, M. Calatayud, *Anal. Chim. Acta*, 2007, **600**, 114.
- [38] G.A. Barbieri, G.B. Bonino, *Rend. Accad. Naz. Lin. Clas., Sci. Fis. Mat. Nat.*, 1948, **8**, 561.
- [39] D.R. Skotty, T.A. Nieman, *J. Chromatography B*, 1995, **665**, 27.
- [40] X. Chen, M. Sato, *Anal. Sci.*, 1995, **11**, 749.
- [41] S. Yamazaki, t. Shinozaki, T. Tanimura, *J. High Result. Chromatogr.*, 1998, **21**, 315.
- [42] K. Uchikura, M. Kirisawa, *Chromatography*, 1991, **12**, 56.
- [43] X.J. Huang, S.L. Wang, Z.L. Fang, *Anal. Chim. Acta*, 2002, **456**, 167.
- [44] N.D. Danielson, L. He, J.B. Noffsinger, L. Trelli, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1989, **7**, 1281.
- [45] P. Liang, R.I. Sanchez, M.T. Martin, *Anal. Chem.*, 1996, **68**, 2426.
- [46] Z. He, X. Liu, Q. Luo, X. Yu, Y. Zeng, *Anal. Sci.*, 1995, **11**, 415.
- [47] H.Y. Han, Z. He, Y. Zeng, *Anal. Sci.*, 1999, **15**, 467.
- [48] K. Król, T. Konopka, *Dent. Med. Probl.*, 2003, **40**, 121.
- [49] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol., *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 2007, **39**, 44.
- [50] B. Halliwell, *Plant Physiology*, 2006, **141**, 312.
- [51] F.J. Martin-Romero, Y. Gutiérrez-Martín, F. Henao, C. Gutiérrez-Merino, *J. Fluoresc.*, 2004, **14**, 17.
- [52] E. Pitt, A. Scharmann, T. Supriyadi, *Z. Naturforsch*, 1992, **47**, 463.
- [53] A. Singh, *Photochem. Photobiol.*, 1978, **28**, 429.
- [54] A.U. Khan, M. Kasha, *Nature*, 1964, **204**, 241.
- [55] A.U. Khan, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 7195.

- [56] M. Yamada, A. Sudo, S. Suzuki, *Chem. Lett.*, 1985, 801.
- [57] S. Lis, M. Kaczmarek, *Int. J. Photoenergy*, 2005, **07**, 143.
- [58] E.A. Almeida, S. Miyamoto, G.R. Martinez, M.H.G. Medeiros, P. Di Mascio, *Anal. Chim. Acta*, 2003, **482**, 99.
- [59] H.D. Brauer, B. Eilers, A. Lange, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2002, **2**, 1288.
- [60] S. Goldstein, G. Czapski, *Inorg. Chem.*, 1995, **34**, 4041.
- [61] Y.D. Liang, J.F. Song, X.F. Yang, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **510**, 21.
- [62] Y.D. Liang, J.F. Song, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2005, **38**, 100.
- [63] Y.-D. Liang, J.F. Song, X.F. Yang, W. Guo, *Talanta*, 2004, **62**, 757.
- [64] J. Du, L. Hao, Y. Li, J. Lu, *Anal. Chim. Acta*, 2007, **582**, 98.
- [65] Ch. Luan, J. Lua, M. Kai, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **503**, 235.
- [66] W.T. Carnall, [w:] *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, K.A. Gschneider, L.R. Eyring, Eds, Vol. 3. Chapt. 24, North Holland, Amsterdam 1979.
- [67] S. Lis, *J. Alloys Comp.*, 2002, **341**, 45.
- [68] M. Elbanowski, B. Makowska, K. Staninski, M. Kaczmarek, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 2000, **130**, 75.
- [69] V.P. Kazakov, A.I. Voloshin, S.S. Ostakov, L.A. Khusainova, E.V. Zharinova, *Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, 1997, 730.
- [70] V.P. Kazakov, A.I. Voloshin, S.S. Ostakov, L.A. Khusainova, *Izv. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, 1996, 2479.
- [71] M. Kaczmarek, K. Staninski, M. Elbanowski, *J. Photochem. Photobiol. A*, 2003, **154**, 273.
- [72] G.N. Chen, R.E. Lin, Z.F. Zhao, J.P. Duan, L. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, 1997, **341**, 251.
- [73] Y.D. Liang, J.F. Song, *J. Pharmaceut. Biomed. Analysis*, 2005, **38**, 100.
- [74] M. Kaczmarek, S. Lis, *J. Alloys Comp.*, 2008, **451**, 186.
- [75] N. Lian, H. Zhao, C. Sun, S. Chen, Y. Lu, L. Jin, *Microchem. J.*, 2003, **74**, 223.
- [76] X. Wang, H. Zhao, L. Nie, L. Jin, Z. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **445**, 169.
- [77] M. Kaczmarek, A. Idzikowska, S. Lis, *J. Fluoresc.*, 2008, **18**, 1193.
- [78] M. Kaczmarek, S. Lis, *Anal. Chim. Acta*, 2009, **639**, 96.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 listopada 2009

**REAKTYWNE ŻYWICE POLIMEROWE
DO SZYBKIEGO OCZYSZCZANIA PRODUKTÓW
REAKCJI**

REACTIVE POLYMER RESINS FOR RAPID
PURIFICATION OF REACTION PRODUCTS

Agnieszka Bukowska, Wiktor Bukowski*

*Wydział Chemiczny, Politechnika Rzeszowska
ul. W. Pola, 35-959 Rzeszów
e-mail: wbuk@prz.rzeszow.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Podział żywic wychwytyjących
2. Otrzymywanie i ogólna charakterystyka żywic wychwytyjących
3. Koncepcje oczyszczania z udziałem reaktywnych polimerów

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr inż. Agnieszka Bukowska jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej. Ukończyła studia doktoranckie i uzyskała stopień doktora w Moskiewskim Uniwersytecie Technologicznym im. D.I. Mendelejewa (obecnie Rosyjski Uniwersytet Chemiczno-Technologiczny). Obecnie jest adiunktem na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej.

Jej główne zainteresowania to kinetyka i kataliza reakcji organicznych, reaktywne żele polimerowe – synteza i zastosowanie w procesach oczyszczania.



Dr hab. inż. Wiktor Bukowski jest absolwentem Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej. Ukończył studia doktoranckie i uzyskał stopień doktora w Moskiewskim Uniwersytecie Technologicznym im. D.I. Mendelejewa (obecnie Rosyjski Uniwersytet Chemiczno-Technologiczny). Stopień doktora habilitowanego uzyskał na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. Obecnie jest profesorem nadzwyczajnym na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej.

Jego główne zainteresowania to kinetyka i kataliza przemian z udziałem związków epoksydowych, synteza i modyfikacja chemiczna reaktywnych żywic polimerowych, zastosowanie sfunkcjonalizowanych polimerów w katalizie oraz w procesach oczyszczania.

ABSTRACT

One of the major drawbacks of solution phase organic synthesis is laborious processes of purification and isolation of individual products. Problems intensify in the case of preparation of compound libraries for pharmaceutical and agrochemical research. Application of oligomeric or polymeric specific reagents in purification processes can simplify significantly the isolation of organic products. Techniques of purification with reactive polymers have been worked out in the mid-1990s independently by groups of Kaldor, Flynn and Hodge as solid phase scavenging, complementary molecular reactivity and molecular recognition (CMR/R) or polymer-supported quench (PSQ), respectively [55–58]. They are based on differences in the reactivity of impurities in comparison to desired products with reference to functional groups of polymers. The methodologies have been intensively developed for the last decade as an effective alternative to time-consuming and somehow difficult classical methods of purification such as extraction in water-organic solvent systems, chromatography, crystallization or distillation [23, 25]. As a result of that, many new scavenging resins were synthesized and commercialized [51–54]. Their application seems to be particularly useful for purification of products from combinatorial synthesis. The synthesis of libraries of amides, carbamides, sulfoamides or amines can be taken as examples. The methods are also useful in many cases when classical methods of purification do not give desired effects. Removing of metal ions impurities from pharmaceutical products can be a good example [109]. The effectiveness of purification by reactive polymers was proven both in the case of single reactions and multi-step transformations.

In this review the basic principles of using functionalized polymers in purification of organic reaction products were described. The division of scavenging resins depending on the chemical nature of functional group immobilized on polymers and their applications was performed. Methods of synthesis of different types of oligomeric and polymeric scavengers and their morphology were discussed. Numerous examples of practical applications of scavenging resins in modern organic synthesis were presented.

Keywords: functionalized polymers, polymer-supported reagents, scavenging resins

Słowa kluczowe: funkcjonalizowane polimery, reagenty polimerowe, żywice czyszczące

WPROWADZENIE

Pierwsze wzmianki dotyczące reaktywnych materiałów polimerowych pojawiły się w literaturze już w połowie lat 30. XX w., kiedy to Adams i Holmes opisali syntezę żywicy jonowymiennej opartej na fenolu i formaldehydzie [1]. Jednakże wzrost zainteresowania tego typu materiałami nastąpił dopiero ok. 15 lat później, po pojawieniu się doniesień na temat syntezy nowego typu żywic jonowymiennych na osnowie kopolimerów styrenowo-diwinylbenzenowych, otrzymanych w postaci dogodnych do manipulacji sferycznych ziaren [2]. Prace te niemal natychmiast zaowocowały licznymi patentami, a w ślad z nimi szybko wdrożono procesy przemysłowe z żywicami jonowymiennymi w roli katalizatora, a także zastosowano jonity jako sorbenty w procesach zmiękczenia i demineralizacji wody.

Badania z udziałem sfunkcjonalizowanych materiałów polimerowych, prowadzone na przełomie lat 50. i 60. XX w. przez Letsinger'a [3–6] i Merrifield'a [7], zainicjowały rozwój metod *syntezy organicznej na fazie stałej* (ang. *solid phase organic synthesis*, SPOS), co w konsekwencji spowodowało rozwój nowej dziedziny chemii – *chemii kombinatorycznej* (ang. *combinatorial chemistry*) [8–12]. Zagadnienia z zakresu wykorzystania sfunkcjonalizowanych polimerów w chemii kombinatorycznej opisano szeroko w serii artykułów przeglądowych autorstwa R. Łąznego i in., opublikowanych na łamach *Wiadomości Chemicznych* [13–16].

Równoległe z rozwojem metod SPOS w latach 70–80. XX w. intensyfikacji uległy badania nad wykorzystaniem sfunkcjonalizowanych polimerów do immobilizacji homogenicznych układów katalitycznych. Pokazały one możliwość zastosowania tego typu katalizatorów w większości aplikacji, w których rolę katalizatora pełnią ich odpowiedniki homogeniczne [17–22]. Począwszy od połowy lat 90. ubiegłego stulecia badania ukierunkowane są w dużej mierze na immobilizację chiralnych kompleksów metali oraz ich zastosowanie w katalizie asymetrycznej [23–31]. Kompleksy metali przejściowych immobilizowane na polimerach jako katalizatory niektórych reakcji utlenienia przedstawiono na łamach *Wiadomości Chemicznych* w artykule N. Kolarz i I.A. Owsik [32].

W latach 90. XX w. za sprawą rozwoju chemii kombinatorycznej pojawiły się dwa kolejne zastosowania reaktywnych materiałów polimerowych, związane z ich użyciem jako nośników dla specyficznych reagentów (ang. *polymer reagents*) na potrzeby syntezy w fazie ciekłej [23, 33–44] oraz w charakterze tzw. *żywic czyszczących*, selektywnie wychwytyjących zanieczyszczenia z roztworów poreakcyjnych (ang. *scavenging resins*) [23, 33, 37, 44–50].

Immobilizacja specyficznych małowcząstkowych reagentów na stałym nośniku ułatwia zarówno ich stosowanie (np. eliminuje toksyczność, nieprzyjemny zapach lub zwiększa ich trwałość), jak też ułatwia oczyszczenie otrzymanych produktów. Uzyskuje się w ten sposób również możliwość jednoczesnego użycia dwóch lub większej ilości różnych reagentów, których równoczesne zastosowanie w układzie homogenicznym jest niedopuszczalne. Aktualnie komercyjnie dostępne są, m.in. polimerowe odpowiedniki specjalnych utleniaczy, reduktorów oraz fosfin [51–54].

Koncepcja użycia sfunkcjonalizowanych polimerów do szybkiego oczyszczania produktów z niepożądanych zanieczyszczeń, zwana *solid phase scavenging*, została po raz pierwszy szerzej opisana przez Kaldora i in. [55, 56]. Żywice wykorzystywane do oczyszczania produktów określane są najczęściej terminem *scavenging resins* (lub *scavengers*). Niemal równocześnie z publikacją Kaldora pojawiły się także dwie inne prace, w których, niezależnie od siebie, Flynn i in. [57] i Hodges i in. [58] przedstawili koncepcje wykorzystania żywic polimerowych w procesach oczyszczania, określając nowe strategie oczyszczania odpowiednio jako *complementary molecular reactivity and molecular recognition (CMR/R)* i *polymer-supported quench (PSQ)*.

Proste i efektywne metodologie oczyszczania z udziałem reaktywnych polimerów szybko wykorzystali chemicy organicy, zajmujący się syntezą kombinatoryczną, jako alternatywę dla czasochłonnych i uciążliwych klasycznych metod oczyszczania, takich jak ekstrakcja w układzie wodno-organicznym, chromatografia, krystalizacja, czy destylacja. Ponadto, obok wielu polimerowych reagentów wychwytyjących, opracowano również szereg reaktywnych sorbentów bazujących na materiałach nieorganicznych. Przykładem mogą być *Quadrasil* i *Quadrapture* firmy *Reaxa*, *StratoSphere* firmy *Polimer Lab.*, oraz sorbenty wychwytyjące firmy *Silicycle* [25, 52]. W niniejszej pracy nieorganiczne sorbenty nie będą omawiane.

1. PODZIAŁ ŻYVIC WYCHWYTUJĄCYCH

Z punktu widzenia natury chemicznej, żywice wychwytyjące można podzielić na dwie ogólne grupy: żywice kowalencyjne i jonowe. W pierwszej grupie, wiążącej zanieczyszczenia poprzez tworzenie wiązania kowalencyjnego, możemy rozróżnić żywice o charakterze elektrofilowym oraz nukleofilowym. Druga grupa żywic, usuwająca zanieczyszczenia w efekcie oddziaływań natury jonowej, obejmuje żywice kwasowe i zasadowe. W Tabeli 1 zestawiono szereg najbardziej popularnych żywic wraz z ich potencjalnym zastosowaniem. Większość z oferowanych komercyjnie żywic dostępna jest zarówno w formie mikro-, jak i makroporowatej. W tym drugim przypadku – także w postaci gotowych *cartridge* 'y do tzw. *SPE*, przeznaczonych do zastosowania w warunkach przepływowych [51–54].

Tabela 1. Zestawienie żywic wychwytyjących
Table 1. Examples of polymer-supported scavengers

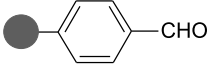
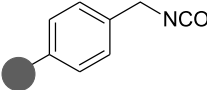
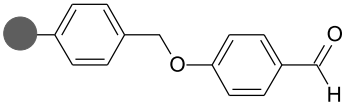
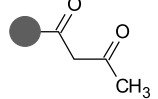
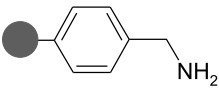
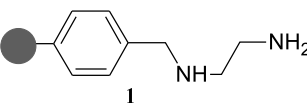
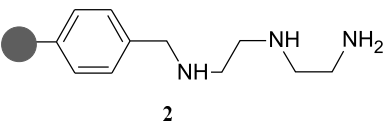
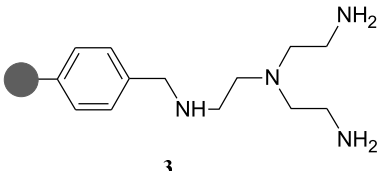
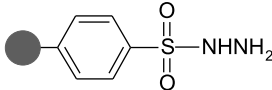
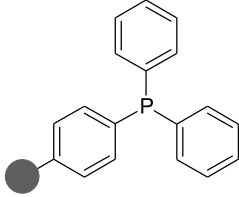
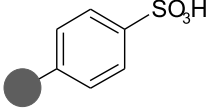
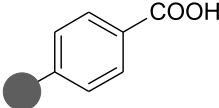
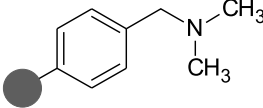
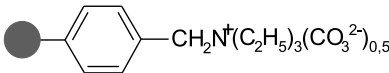
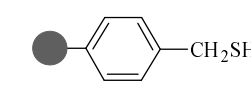
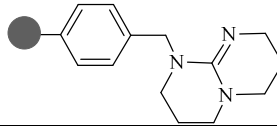
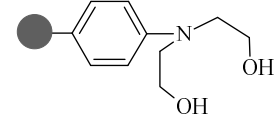
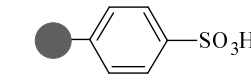
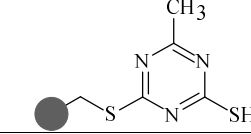
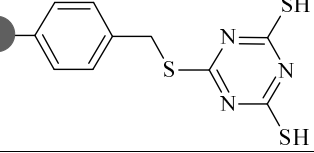
Żywice	Struktura	Zastosowanie	
kowalencyjne	elektrofilowe		do wychwytywania amin I-rzędowych, hydrazyn, hydroksyloamin, reagentów metaloorganicznych, takich jak związki Grignarda, związki organometaliczne litu i inne nukleofile
			do wychwytywania amin, anilin, hydrazyn
			do wychwytywania amin I-rzędowych w obecności amin II-rzędowych
			do wychwytywania amin I-rzędowych w obecności amin II-rzędowych
	nukleofilowe		do wychwytywania chlorków i bezwodników kwasowych, chlorków sulfonylu, izocyjanianów, aldehydów, kwasów, itp.
			do wychwytywania chlorków i bezwodników kwasowych, chlorków sulfonylu, izocyjanianów, aldehydów, kwasów, itp.
			do wychwytywania chlorków i bezwodników kwasowych, chlorków sulfonylu, izocyjanianów, aldehydów, kwasów, itp.
			do wychwytywania chlorków i bezwodników kwasowych, chlorków sulfonylu, izocyjanianów, aldehydów, kwasów, itp.

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Żywice		Struktura	Zastosowanie
kwalencyjne	nukleoflowe		stosowana przede wszystkim do wychwytywania aldehydów i ketonów
			chlorowanie kwasów i alkoholi, reakcje Wittiga i Mitsunobu, wychwytywanie halogenków alkilowych
jonowe	kwasowe		do wychwytywania amin i innych związków zasadowych
			do wychwytywania amin i innych związków zasadowych
	zasadowe		do wychwytywania protonów, kwasów
			do wychwytywania kwasów, fenoli

Żywice z funkcjami jonowymiennymi lub grupami donorowymi mogą również okazać się przydatne do oczyszczania produktów reakcji z jonów metali stosowanych jako składniki katalizatorów homogenicznych lub reagentów metaloorganicznych. W Tabeli 2 zestawiono typowe żywice przeznaczone do usuwania jonów metali. Podobnie jak w wypadku żywic do wiązania zanieczyszczeń organicznych, dostępne są one zarówno w formie mikro-, jak i makroporowatej.

Tabela 2. Przykłady żywic wychwytyjących jony metali
Table 2. Examples of metal ions scavengers

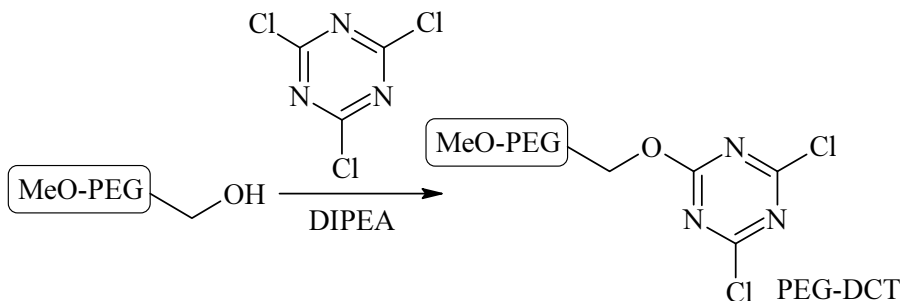
Żywica	Wychwytywane metale	Zastosowanie
	Pd, Pt, Ru, Sn	np., usuwanie Pd z produktów reakcji: Suzuki, Hecka, Sonogashira, Kumada, uwodornienia
	Pd, Pt, Sn	np., reakcje z udziałem związków Sn lub Pd
	Pt, Sn	redukcja Sn(II), reakcje rodnikowe, reakcje uwodornienia na Pt
	Co, Zn, Cu, Fe, Al	reakcje z udziałem większości metali przejściowych
	Pd	wychwytywanie Pd z wodnych i niewodnych roztworów
	Pd	reakcje z udziałem Pd

2. OTRZYMYWANIE I OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA ŻYVIC WYCHWYTUJĄCYCH

Reagenty wychwytyjące mogą mieć albo strukturę nieusieciowanych rozpuszczalnych oligomerów lub polimerów albo usieciowanych nierozpuszczalnych żywic mikro- lub makroporowatych [23, 25].

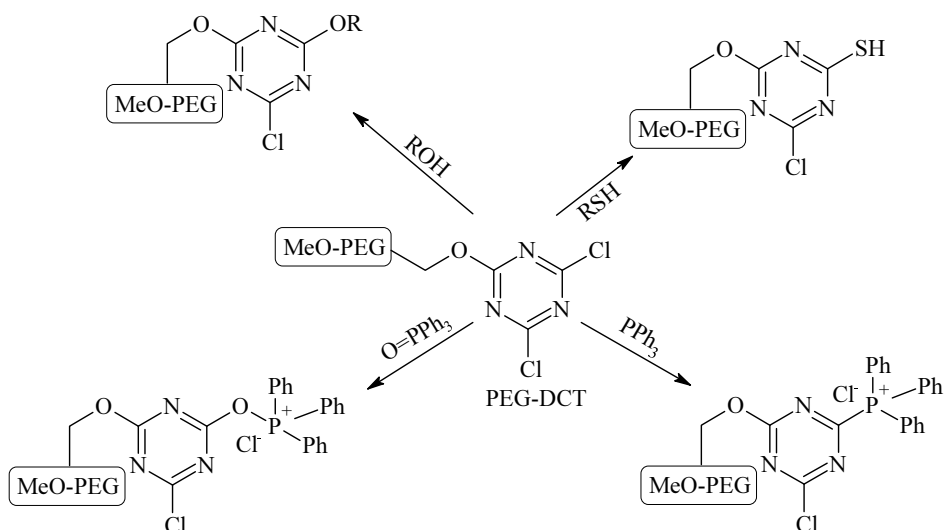
Nieusieciowane oligomery i polimery, dzięki możliwości ich rozpuszczenia w roztworze reakcyjnym, stwarzają warunki reakcji zbliżone do homogenicznych, umożliwiając osiągnięcie dużych szybkości reakcji. Tego typu polimery powinny jednakże charakteryzować się wąskim zakresem mas cząsteczkowych, co zmniejsza różnice w reaktywności poszczególnych cząsteczek, oraz wystarczająco dużym ciężarem cząsteczkowym. Ten ostatni parametr powinien być tak dobrany, aby zapewnić reagentom wychwytyjącym stan stały w temperaturze pokojowej, a zarazem odpowiednią rozpuszczalność w tzw. „termodynamicznie dobrych” rozpuszczalni-

kach oraz ekonomicznie uzasadniony poziom funkcjonalizacji. Po reakcji produkt uboczny powinien być stosunkowo łatwo usuwalny z mieszaniny reakcyjnej, najlepiej przez wytrącenie „termodynamicznie złym” rozpuszczalnikiem. Czynnikiem wytrącającym może być również zmiana pH lub temperatury.



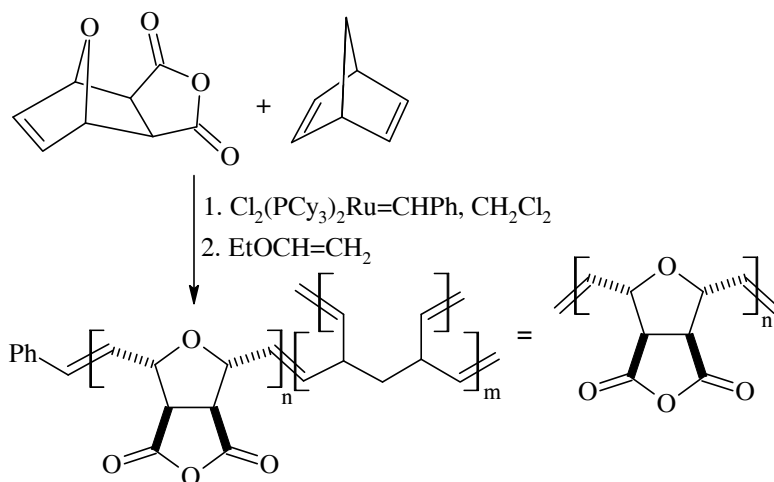
Schemat 1. Synteza żywic z funkcjami dichlorotriazynowymi
Scheme 1. Synthesis of resins with dichlorotriazine functionality

Przykładem rozpuszczalnych reagentów polimerowych, wykorzystywanych przy oczyszczaniu produktów reakcji, mogą być żywice z funkcjami dichlorotriazynowymi, otrzymane przez Tadei i in. w wyniku modyfikacji chemicznej monoeteru glikolu polietylenowego (Schemat 1) [59]. Takie polimery użyto do sekwestracji tryfenylofosfiny i tlenku tryfenylofosfiny po reakcji chlorowania układem $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ oraz do efektywnego związania nadmiaru alkoholi w syntezie estrów i siliło- zabezpieczonych alkoholi i acetalu, a także nadmiaru tioli w syntezie *trans*-glikozylowanych węglowodanów. Możliwość taką gwarantowała wysoka reaktywność chloru związanego z pierścieniem triazynowym (Schemat 2).



Schemat 2. Przykłady wykorzystania żywic z funkcjami dichlorotriazynowymi
Scheme 2. Application of polymer-bound dichlorotriazine

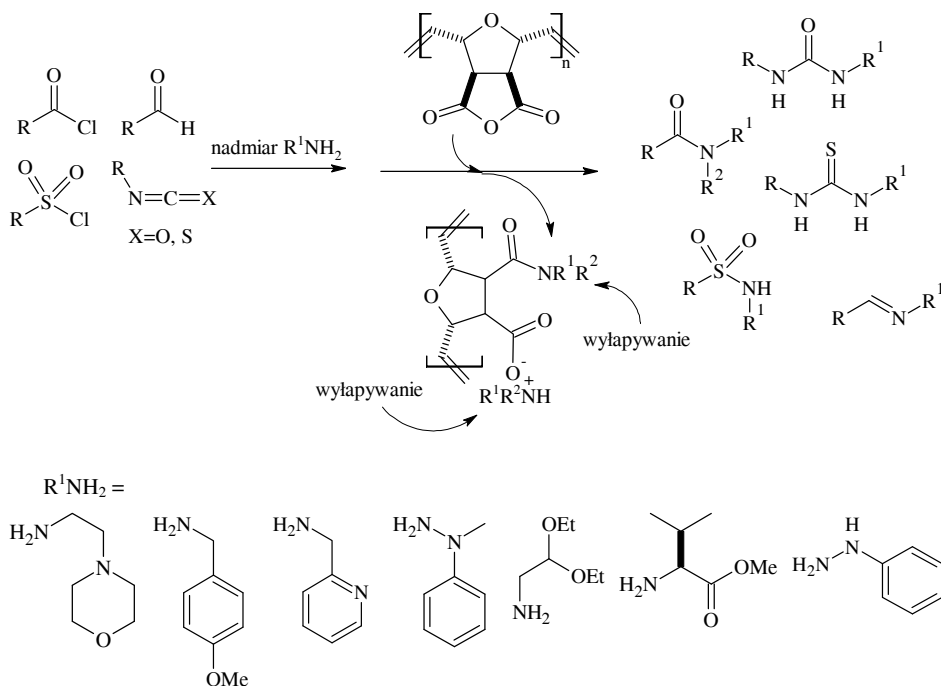
Szczególnie interesującą grupę rozpuszczalnych reagentów polimerowych, wykorzystywanych przy oczyszczaniu produktów reakcji, stanowią żele otrzymane techniką polimerycznej metatezy z otwarciem pierścienia (ang. *ring opening metathesis polymerization, ROMP*), tzw. *ROMPGEL scavengers*. Przykładem mogą być żele z immobilizowanymi funkcjami bezwodnikowymi (Schemat 3), charakteryzujące się dużym stopniem funkcjonalizacji, otrzymane przez Arnauld i in. [60] w obecności katalizatora Grubbsa pierwszej generacji.



Schemat 3. Synteza ROMPGEL-i z funkcjami bezwodnikowymi
Scheme 3. Synthesis of ROMPGELs with acid anhydride functionality

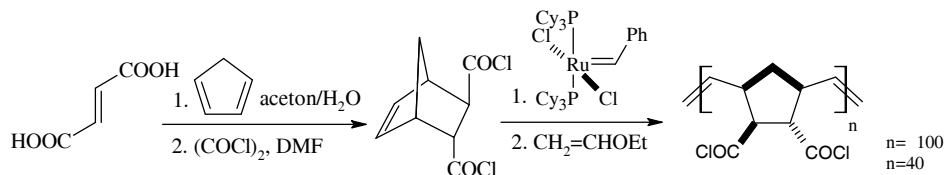
Takie elektrofilowe żele z powodzeniem użyto do wychwytywania nadmiaru amin i pochodnych hydrazyny z produktów syntezy moczników, tiomoczników, amidów, sulfoamidów, karbaminianów, imin i hydrazonów (Schemat 4) [60].

Inny przykład elektrofilowych ROMPGEL' i opisano w pracy Hansona i in. [61]. Wychodząc z kwasu fumarowego i cyklopentadienu w reakcji Dielsa-Aldera otrzymano kwas dikarboksylowy, który po przeprowadzeniu w odpowiedni chlorek kwasowy oligomeryzowano w obecności katalizatorów Grubbsa pierwszej lub drugiej generacji, uzyskując produkt zdolny do usuwania nadmiaru amin (I i II-rzędowych), alkoholi (I i II-rzędowych, allylowego i benzyłowego) i tioli po benzyłowaniu (Schemat 5). Otrzymano produkty z czystością ponad 95%. Zsyntezowane ROMPGEL'e, w porównaniu do klasycznych żywic polistyrenowych z takimi samymi funkcjami, charakteryzowały się dużo większym stopniem funkcjonalizacji (~9,1 mmol/g, podczas gdy styrenowe tylko ~1,3 mmol/g) oraz większym powinowactwem do alkoholi.



Schemat 4. Przykłady zastosowania ROMPGEL-i z funkcjami bezwodnikowymi.

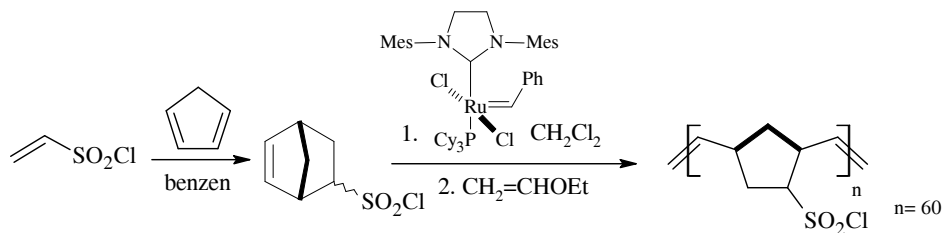
Scheme 4. Examples of application of acid anhydride functionalized ROMPGELS



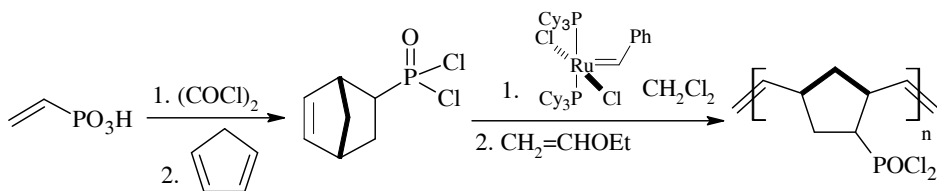
Schemat 5. Synteza ROMPGEL-i z funkcjami chlorków kwasowych

Scheme 5. Synthesis of ROMPGELS with acid chloride functionality

W bardzo podobny sposób Hanson i in. otrzymali także rozpuszczalne w CH_2Cl_2 , DMF i THF ROMGEL'e z funkcjami chlorków sulfonylu (Schemat 6) [62] oraz chlorków fosfonylu (Schemat 7) [62, 63], które wykorzystano do efektywnego wychwytywania amin w reakcji benzylowania i/lub tosylowania. Oligomeryczne chlorki fosfonylu mogły być użyte do wychwytywania amin w obecności alkoholi.

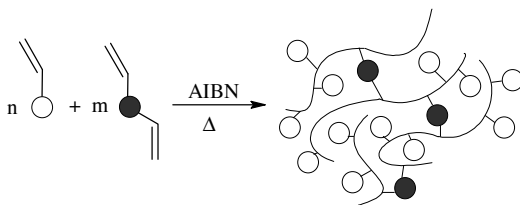


Schemat 6. Synteza ROMPGEL-i z funkcjami chlorków sulfonylu
 Scheme 6. Synthesis of ROMPGELs with sulphonyl chloride functionality

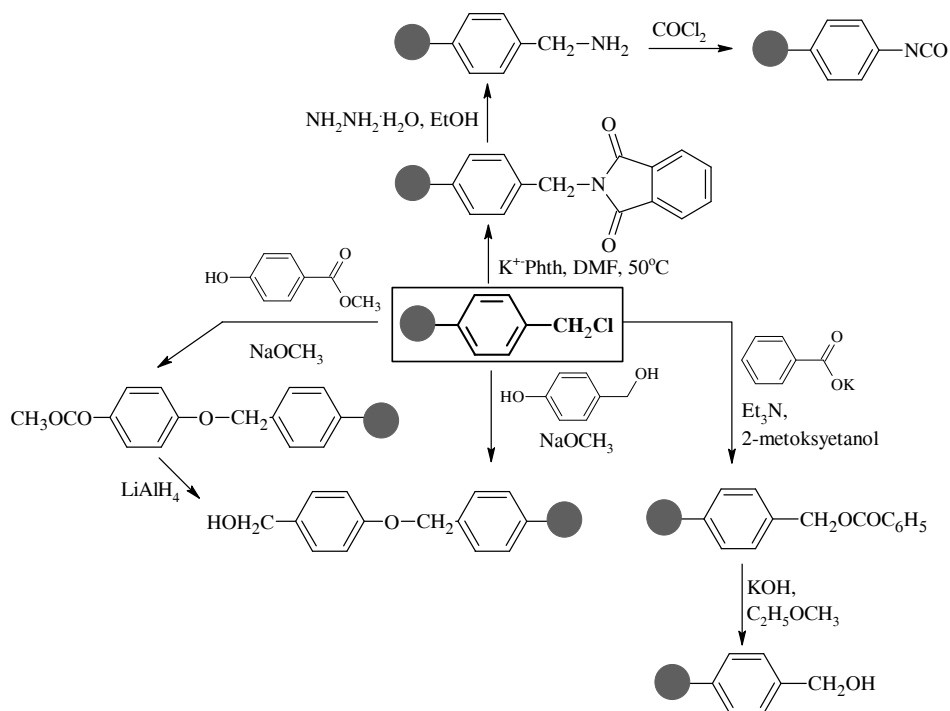


Schemat 7. Synteza ROMPGEL-i z funkcjami chlorków fosforylu
 Scheme 7. Synthesis of ROMPGELs with phosphoryl chloride functionality

Nierozpuszczalne żywice wychwytyjące (zarówno mikro-, jak i makroporowate) wytwarzane są najczęściej metodą polimerizacji suspensyjnej. Przy ich syntezie, podobnie jak w wypadku otrzymywania żywic na potrzeby *SPOS*, możliwe są dwa podejścia: polimerizacja mieszaniny odpowiednio sfunkcjonalizowanego monomeru (najczęściej pochodnej styrenu) z monomerem sieciującym (i ewentualnie dodatkowym monomerem rozpraszającym grupy funkcyjne w powstającej matrycy polimerowej – najczęściej styrenem) (Schemat 8) lub modyfikacja chemiczna pierwotnie wytworzonych polimerów suspensyjnych w celu wprowadzenia odpowiednich grup funkcyjnych. Wiele komercyjnych żywic wychwytyjących otrzymano, np. z chlormetylowych polimerów styrenowych (Schemat 9) [64–67].



Schemat 8. Synteza polimerów styrenowych
 Scheme 8. Synthesis of styrenic polymers



Schemat 9. Kierunki modyfikacji chlorometylowych polimerów styrenowych

Scheme 9. Paths of modification of chloromethyl polystyrene

Użycie do oczyszczania produktów żywic mikroporowatych mających strukturę typu żelu, otrzymanych przy małej zawartości monomeru diwinylowego ($\leq 5\%$ -mol.), narzuca konieczność stosowania rozpuszczalników termodynamicznie kompatybilnych z matrycą polimerową, zapewniających jej spęcznienie. W stanie suchym ziarna takich żywic charakteryzują się niewielką powierzchnią właściwą, co znacznie utrudnia dyfuzję gazów i niekompatybilnych („termodynamicznie złych”) rozpuszczalników do ich wnętrza. W trakcie pęcznienia rzadko związana sieć polimerów mikroporowatych ulega rozpychaniu, pod wpływem działania cząsteczek „dobrego” rozpuszczalnika, co objawia się znaczącym wzrostem objętości zajmowanej przez polimer. Pęcznienie decyduje więc o dostępności grup funkcyjnych zawartych w polimerze. W wyniku pęcznienia polimeru maleją opory dyfuzyjne decydujące o szybkości migracji reagentów do miejsc aktywnych oraz rośnie reaktywność grup funkcyjnych w matrycy, dzięki czemu skróceniu ulega czas reakcji prowadzonej na polimerze. Parametr ten odgrywa kluczową rolę w wypadku użycia żeli polimerowych bezpośrednio w syntezie organicznej. Ma również istotne znaczenie przy efektywnym usuwaniu zanieczyszczeń ze środowiska reakcji, decydując o szybkości i efektywności wychwytywania niepożądanych substancji z mieszanin poreakcyjnych.

Zdolność do pęcznienia żywicy typu żelu może ulegać niekiedy drastycznym zmianom wskutek zachodzących modyfikacji chemicznych. Ma to miejsce w szczególności w wypadku dużych stopni funkcjonalizacji żywicy. Zmiany te mogą powodować nagłe tłumienie reakcji i stąd małą wydajność, lub mogą powodować „pułapkowanie” reagentów lub produktów pośrednich przez kurczącą się w trakcie reakcji żywicę. Właściwy dobór środowiska reakcji jest więc w przypadku przemian z udziałem żeli polimerowych bardzo ważny.

Zwykle zawartość monomeru sieciującego w wyjściowej mieszaninie monomerów użytej w syntezie polimerów mikroporowatych ustala się na poziomie 1–2%-mol. Stwierdzono, że żywice o mniejszym stopniu usieciowania są mechanicznie mało odporne i łatwo ulegają zniszczeniu w czasie eksploatacji.

Silnie pęczniące żele polimerowe można otrzymać również przy większym niż 2% stopniu usieciowania, o ile polimeryzacja prowadzona jest z udziałem dodatkowego rozpuszczalnika rozcieńczającego mieszaninę monomerów. Otrzymane wówczas żywice wykazują podobne pęcznienie do żywic mniej usieciowanych, będąc równocześnie bardziej odpornymi mechanicznie. Ten wariant syntezy umożliwia równocześnie dalsze polepszenie pęcznienia żywicy o tym samym stopniu usieciowania, w odniesieniu do żywicy otrzymanej bez dodatkowego rozpuszczalnika [23].

Ze względu na stosunkowo małą odporność mechaniczną żeli polimerowych w stanie spęcznienia, używanie mieszań magnetycznych w celu poprawienia dyfuzji w ziarnie mikroporowatego nośnika jest niekorzystne. Pracując z żelami polimerowymi stosuje się zwykle wytrząsarki.

Dalsze zwiększanie stopnia usieciowania (z reguły powyżej 10%), przy równoczesnym stosowaniu w procesie polimeryzacji dodatkowego rozpuszczalnika dla monomerów (tzw. porogenu), prowadzi do otrzymania żywic mikroporowatych. Porogen pełni w procesie polimeryzacji suspensyjnej funkcję „szablonu” dla tworzącego się ziarna o trwałej strukturze porowatej. W trakcie polimeryzacji w jego obecności, w pewnym momencie wzrostu sieci polimerowej, w obrębie kropli reagujących monomerów dochodzi do separacji faz wskutek wytrącania się cząstek mikrożelu, które ulegają agregacji tworząc dyskretną strukturę fazy polimerowej oddzielonej od ciekłej fazy porogenu. Po zakończeniu procesu polimeryzacji, porogen zostaje usunięty, a otrzymane ziarna charakteryzuje silnie rozwinięta powierzchnia wewnętrzna.

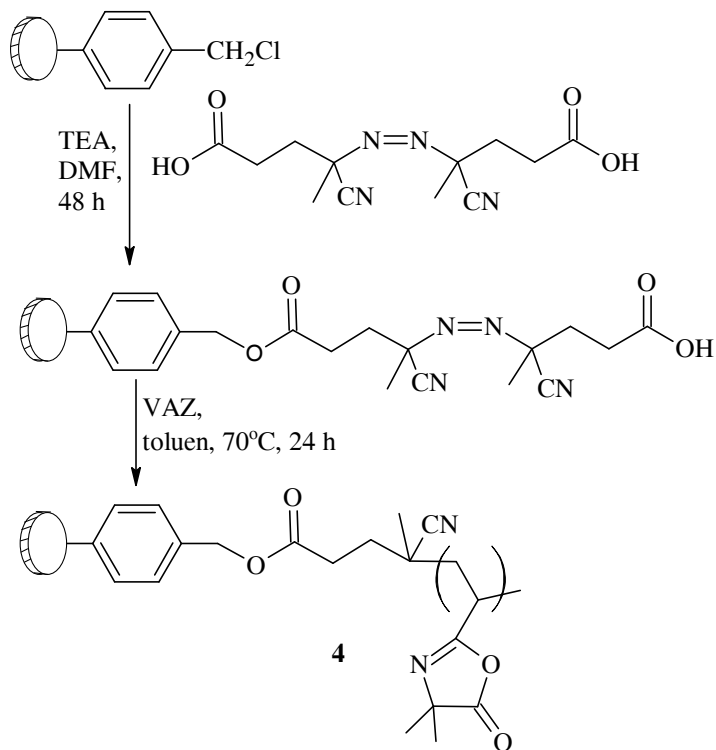
W budowie makroporowatych perełek można wyróżnić dwa obszary: puste przestrzenie połączonych i wzajemnie przenikających się kanałów (porów), powstałych w wyniku obecności porogenu w czasie procesu polimeryzacji, oraz silnie usieciowane obszary tworzące szkielet ziaren i odpowiadające za ich sztywność.

Makroporowate żywice, ze względu na silne usieciowanie, wykazują niewielkie pęcznienie w typowych rozpuszczalnikach, stąd też dobór środowiska reakcji w ich przypadku ma znaczenie drugorzędne. Prowadzenie reakcji na polimerze w „termodynamicznie złym” rozpuszczalniku, np. w wodzie czy alkoholu, w przy-

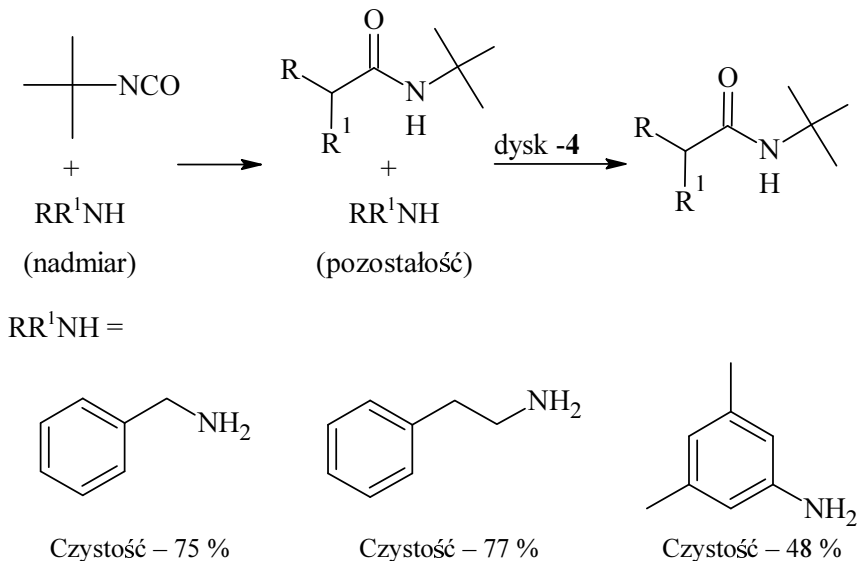
padku makroporowatych żywic styrenowych, może być równie efektywne, jak prowadzenie tej reakcji w „termodynamicznie dobrym” rozpuszczalniku. Woda może bowiem z łatwością penetrować porowatą strukturę hydrofobowej matrycy polimerowej, jeśli tylko powierzchnia porów zostanie zwilżona kompatybilnym rozpuszczalnikiem. Takie polimery, ze względu na silne usieciowanie, wykazują jednak zwykle trochę mniejszą reaktywność niż silnie pęczniejące słabo usieciowane żele polimerowe, dzięki sztywnej strukturze sieci polimerowej, w połączeniu z dużą powierzchnią właściwą, są szczególnie użyteczne w warunkach przepływowych. Z tego też względu, większość dostępnych komercyjnie styrenowych żywic wychwytyjących, obok odmiany mikroporowatej, produkowana jest również w formie makroporowatej [51–54].

Żywice w postaci kulistych ziaren mają niewątpliwie wiele zalet i są powszechnie wykorzystywane w różnego rodzaju zastosowaniach sorpcyjnych. Jednakże gromadzenie się ładunków elektrycznych na ich powierzchni sprawia, że bezpośrednia manipulacja ziarnami w sposób zautomatyzowany jest utrudniona. Częściowym rozwiązaniem tych problemów są tzw. „*tea-bag*” lub „*kan*” technologie [23].

W przypadku żywic makroporowatych problemem jest również niejednokrotnie rozrzut średnic ziaren uzyskiwanych z polimeryzacji suspensyjnej oraz wolna dyfuzja w porach z reaktywnymi grupami funkcyjnymi. Alternatywą dla takich polimerów mogą być makroporowate monolityczne dyski otrzymane przez Frecheta i in. [68, 69]. Podstawą ich preparatyki była kopolimeryzacja chlorometylostyrenu z diwinylobenzenem, w obecności porogenu (w mieszaninie toluenu i 1-dodekanolu), przeprowadzona w formie z polietylenu umieszczonej w szklanej probówce. Otrzymany w ten sposób monolit, po pocięciu na dyski kilkumilimetrowej wysokości, był modyfikowany kwasem 4,4'-azobis(4-cyjanowalerianowym) w obecności trietyloaminy, a uzyskane w ten sposób nowe funkcje wykorzystane do szczepienia różnych polimerów. Jako monomery wykorzystano z powodzeniem 4-winylo-2,2-dimetyloazalaktone (VAZ), metakrylan 2-aminoetylu, metakrylan glicydylu i chlorometylostyren. Schemat 10 ilustruje immobilizację VAZ. Otrzymane w ten sposób dyski zastosowano do tzw. reaktywnej filtracji amin I-rzędowych z różnych rozpuszczalników (Schemat 11).

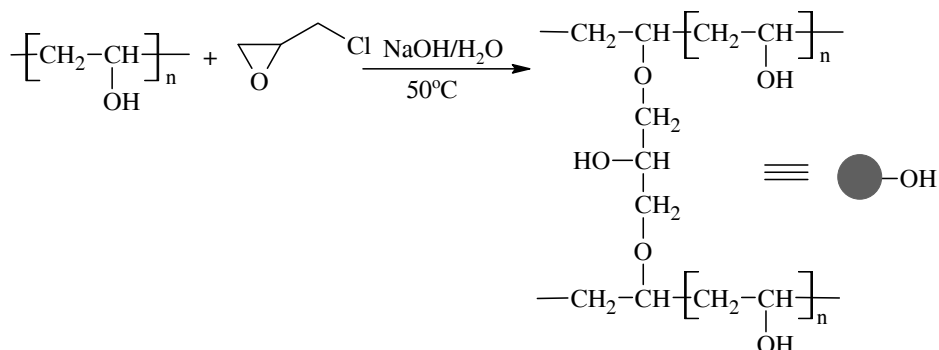


Schemat 10. Synteza monolitycznych dysków z funkcjami azolaktonu
 Scheme 10. Synthesis of monolithic disks with azalactone functionality



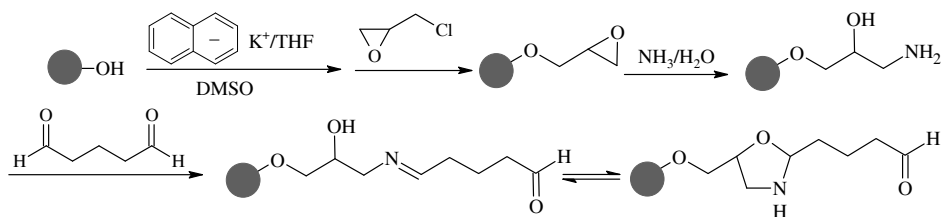
Schemat 11. Przykład wykorzystania monolitycznych dysków z funkcjami azolaktonu
 Scheme 11. Examples of application of azalactone functionalized monolithic disks

Zhu i in. [70], jako matrycę dla żywic z grupami aldehydowymi, wykorzystali poli(alkohol winylowy) otrzymany w wyniku odwróconej polimeryzacji suspensyjnej i z zastosowaniem epichlorohydryny jako czynnika sieciującego (Schematy 12, 13). Żywice charakteryzowało bardzo dobre pęcznienie w DMF, metanolu, dioksanie, THF, chlorku metylenu i wodzie. Okazały się one dobrymi reagentami wychwytyjącymi dla I-rzędowych amin, co wykazano z powodzeniem w syntezie biblioteki amidów, moczników i amin II-rzędowych.



Schemat 12. Synteza usieciowanego poli(alkoholu winylowego)

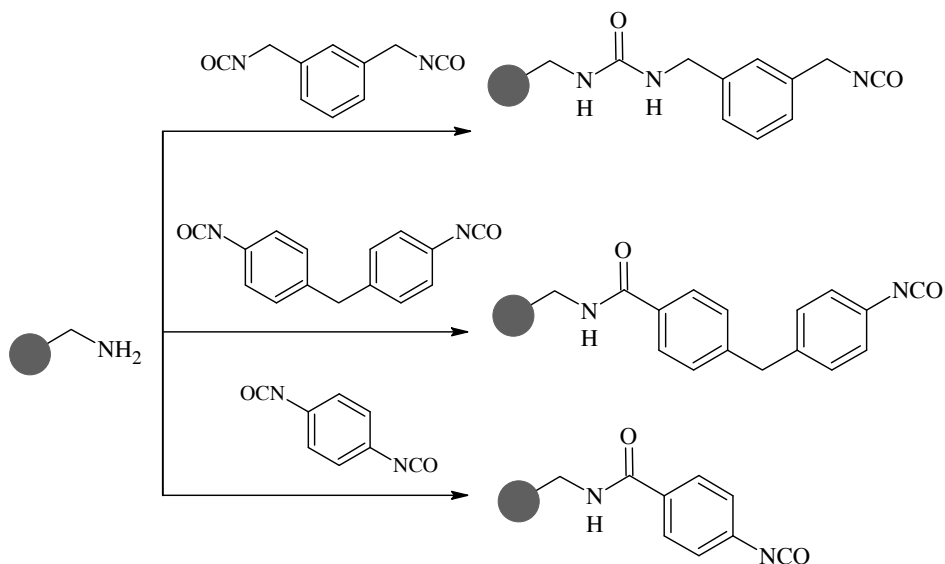
Scheme 12. Synthesis of cross-linked poly(vinyl alcohol)



Schemat 13. Modyfikacja chemiczna usieciowanego poli(alkoholu winylowego) w kierunku żywic z funkcjami aldehydowymi.

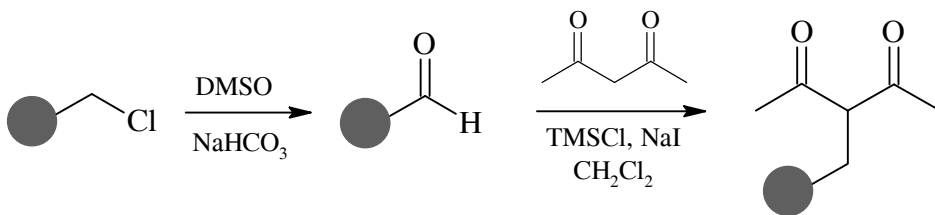
Scheme 13. Chemical modification of cross-linked poly(vinyl alcohol) in the direction of resins with aldehyde functionality

Bradley i in. [71], wychodząc z komercyjnie dostępnych żywic z funkcjami aminowymi i z komercyjnych diizocyanianów, otrzymali serię żywic z grupami izocyanianowymi (Schemat 14). Takie żywice charakteryzowały się dużą reaktywnością i mogły być z powodzeniem zastosowane do wychwytywania nadmiaru amin po syntezie amidów.



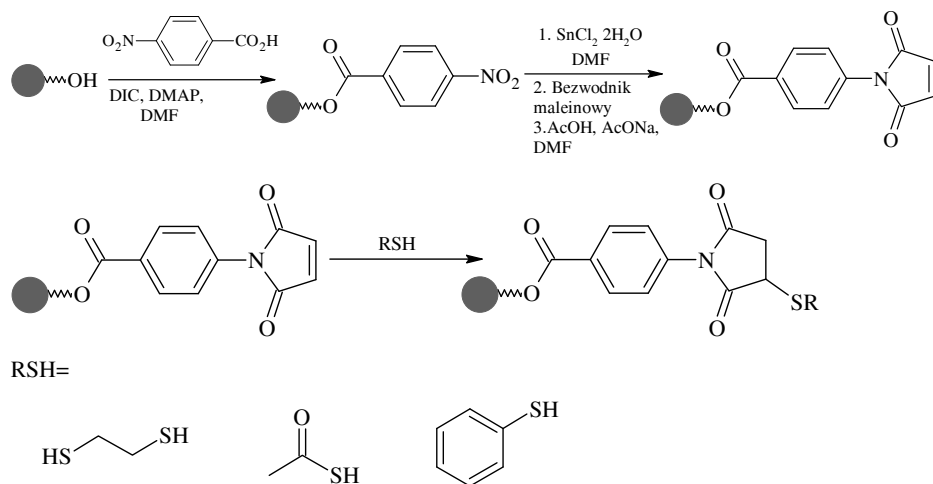
Schemat 14. Synteza żywic z funkcjami izocyjanianowymi
 Scheme 14. Synthesis of resins with isocyanate functionality

Kirschning i in. donieśli o syntezie immobilizowanych na polimerze 1,3-diketonów (Schemat 15), które były efektywne przy sekwestracji amin i hydrazyn [72]. Uzyskane żywice mogą być użyte do selektywnego wylapywania amin I-rzędowych, w obecności amin II-rzędowych.



Schemat 15. Synteza żywic z funkcjami 1,3-diketonów
 Scheme 15. Synthesis of resins with 1,3-diketone functionality

Hall i in. opisał z kolei syntezę immobilizowanego na polimerze maleimidu, który posiada zdolność wychwytywania tioli (Schemat 16) [73].



Schemat 16. Synteza i zastosowanie żywic z funkcjami maleimidu
 Scheme 16. Synthesis and application of resins with maleimide functionality

W pracy [74] opisano otrzymywanie monolitu charakteryzującego się bardzo dużą przepuszczalnością, powierzchnią właściwą do 550 m²/g oraz dużym powierzchniowym stopniem funkcjonalizacji (bez potrzeby dodatkowego szczepienia). Do jego syntezy wykorzystano polimeryzację w emulsji, w której faza rozproszona zajmuje powyżej 74% całkowitej objętości. W tych warunkach rozproszone kuliste drobiny kontaktują się wzajemnie ze sobą, ulegając zniekształceniu i tworzą w efekcie żywice o specjalnej morfologii, które nazwano terminem PolyHIPE. Takie żywice mogą być modyfikowane chemicznie w analogiczny sposób jak klasyczne żywice otrzymywane metodą polimeryzacji suspensyjnej.

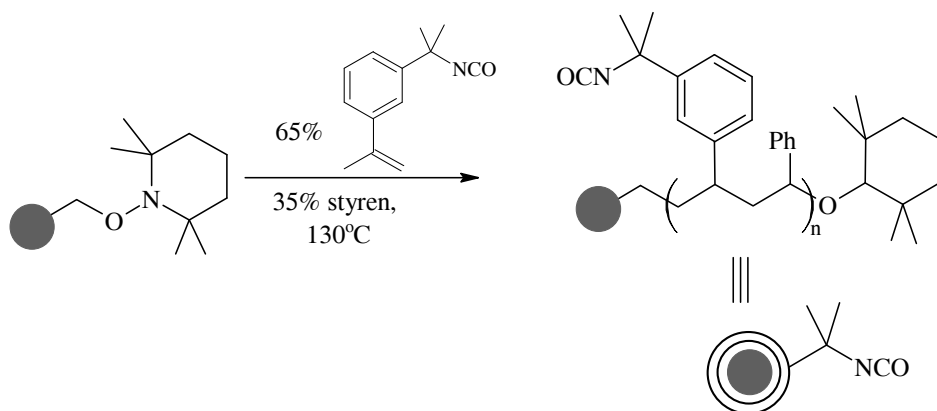
Żywice typu PolyHIPE badano m.in. przy separacji metali ciężkich [75], jako nośniki dla katalizatorów [76], a także jako żywice wychytujące [77], czyli tam gdzie monolityczna forma jest w szczególności atrakcyjna. Żywice z funkcjami poliaminowymi okazały się skuteczne np. przy wychwytywaniu chlorków kwasowych w warunkach przepływowych.

W wypadku prętów i dysków monolitycznych występują niejednokrotnie problemy związane z ograniczoną objętością porów. Spiekając ziarna makroporowatej żywicy z polialkenu udało się uzyskać formę cylindrycznych korków o wymiarach ~7 mm × 10 [23]. Zastosowanie polialkenu w niewielkiej ilości gwarantuje dużą przestrzeń międzywęzłową pomiędzy ziarnami żywicy, zapewniając swobodny dostęp rozpuszczalnika i reagentów do rdzenia korka.

W zasadzie dowolna, wstępnie funkcjonalizowana żywica może być ukształtowana w „korek” o określonym rozmiarze. Uzyskane przy tym monolity wykazują dobrą wytrzymałość na działanie większości rozpuszczalników, z wyjątkiem np. gorącego toluenu lub ksyłenu. Odpowiedni rozmiar „korka” pozwala na łatwe manipulowanie nimi przez roboty. Takie reaktywne korki są atrakcyjne również z punktu

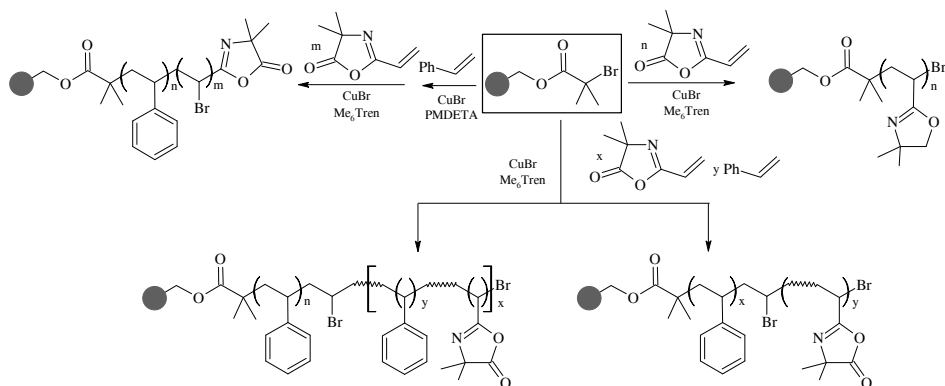
widzenia zastosowania w charakterze żywic wychwytyjących. Firma *Polymer Laboratories* ma w swojej ofercie, obok klasycznych żywic polistyrenowych, także różne żywice wychwytyjące w postaci tzw. *Strato-Sphere Plugs*TM.

Interesujący przykład żywic stanowią tzw. *Rasta resins*, otrzymane w wyniku żyjącej polimeryzacji rodnikowej, prowadzonej na odpowiednio zmodyfikowanej żywicy Merrifielda, tj. na żywicy z immobilizowanym inicjatorem polimeryzacji TEMPO (Schemat 17) [78]. Takie podejście pozwala na syntezę żywic o kontrolowanym powinowactwie do rozpuszczalników, stopniu funkcjonalizacji i dostępności małych cząsteczkowych reagentów (*tuning* żywicy). Żywice tego typu charakteryzują się długimi łańcuchami polimerowymi „wystającymi” z niesfunkcjonalizowanego usieciowanego rdzenia, ułatwiającymi dostęp małych cząsteczkowych reagentów. Dzięki temu doskonale sprawdzają się jako nośniki do syntezy oraz otrzymywania żywic wychwytyjących.



Schemat 17. Synteza żywic *Rasta* z funkcjami izocyjanianowymi
Scheme 17. Synthesis of *Rasta* resins with isocyanate functionality

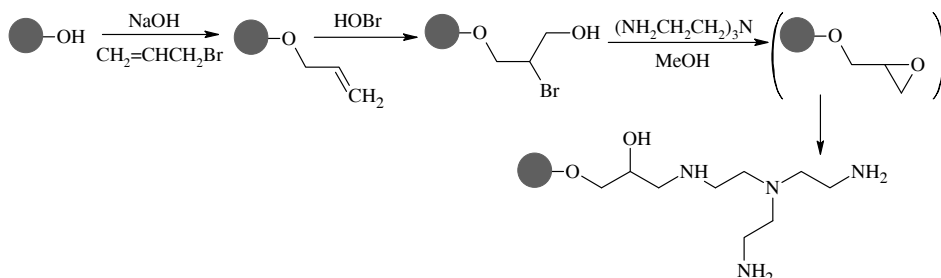
Fontain i in. opisali syntezę immobilizowanego azalaktonu, wychodząc ze zmodyfikowanej żywicy Wang [79]. Zastosowana przez nich polimeryzacja ATR pomiędzy 2-winylo-4,4-dimetylo-5-oksazolonom (VAZ) i styrenem, przeprowadzona na żywicy typu żelu, doprowadziła do serii mikroporowatych żywic z funkcjami azalaktonowymi, charakteryzujących się różną architekturą (Schemat 18). Uzyskane w ten sposób żywice efektywnie wychwytyją z roztworu benzyloaminy.



Schemat 18. Synteza immobilizowanego azolaktonu metodą polimeryzacji ATR

Scheme 18. Synthesis of polymer-bound azalactone by ATR polymerization

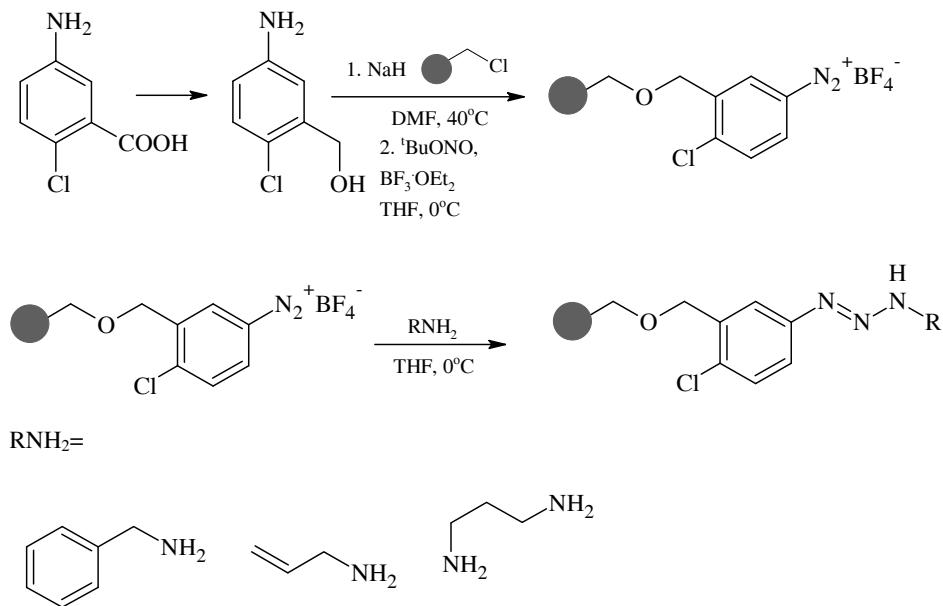
Żywice wychwytyjące można również otrzymać w wyniku odpowiedniej funkcjonalizacji żeli celulozowych (Schemat 19) [80]. Reaktywność takich biodegradowalnych żywic dorównuje żywicom styrenowym.



Schemat 19. Funkcjonalizacja żeli celulozowych

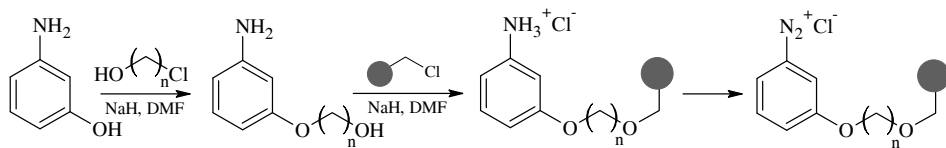
Scheme 19. Functionalization of cellulose gels

Bräse i in. [81] do skutecznego usuwania amin I-rzędowych zaproponowali żywice z immobilizowanymi jonami diazoniowymi (Schemat 20). Przy syntezie takich żywic wykorzystali redukcję kwasu 3-amino-6-chlorobenzoesowego, po jego immobilizacji na żywicy Merrifielda, oraz dalszą konwersję grup aminowych do soli diazoniowej o dużej stabilności.



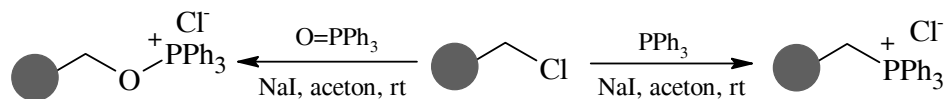
Schemat 20. Synteza i zastosowanie żywic z funkcjami soli diazoniowych
 Scheme 20. Synthesis and application of resins with diazonium salts functionality

Serię żywic z immobilizowanymi funkcjami soli diazoniowych, które można wykorzystać do wychwytywania amin, otrzymał również Łażny i in. [82] (Schemat 21). Cechą charakterystyczną tych żywic było dodatkowe zastosowanie wyciągnika oksyetylenowego, ułatwiającego dostęp do grup funkcyjnych, zwiększających hydrofilowy charakter żywic.



Schemat 21. Synteza żywic z funkcjami soli diazoniowych, zawierających wyciągnik oksymetylenowy
 Scheme 21. Synthesis resins with diazonium salts groups immobilized via oxymethylene spacer

Żywicę wychwytyjącą PPh₃ i O=PPh₃ zaproponowali w swojej pracy Lipschutz i in. [83]. Otrzymali je w wyniku prowadzonej *in situ* reakcji chlorometylowanego polistyrenu z jodkiem sodu, powodującej tworzenie bardziej reaktywnej jodometylowej formy żywicy Merrifielda, która jest zdolna do szybkiej reakcji z PPh₃ i O=PPh₃ (Schemat 22).



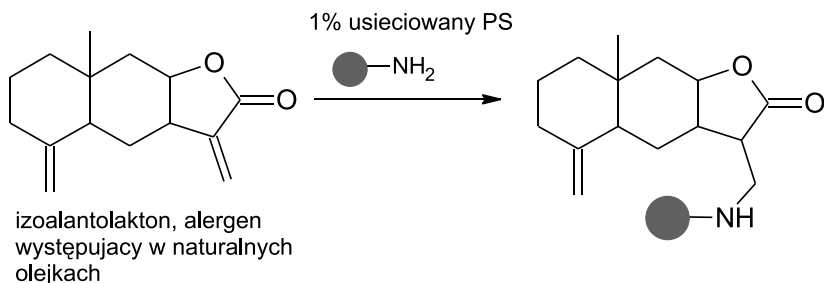
Schemat 22. Wykorzystanie chlorometylowanego polistyrenu jako żywicy wychwytyjących
Scheme 22. Application of chloromethyl polystyrene as scavenging resins

Ważnym czynnikiem przy wyborze żywicy czyszczącej jest ich stopień funkcjonalizacji, przekładający się na ilość stosowanej żywicy (im mniej użyto żywicy wychwytyjącej, tym łatwiej wymyło produkt końcowy z polimeru). Z tego też względu, w przeciwieństwie do żywicy stosowanych w syntezie na fazie stałej, charakteryzujących się stopniem funkcjonalizacji ok. 1 mmol/g, żywice wychwytyjące muszą wyróżniać się wyraźnie większym stopniem funkcjonalizacji. Duża zawartość grup funkcyjnych zapewnia możliwość użycia nadmiaru reagenta polimerowego w małej objętości rozpuszczalnika, co minimalizuje koszt wynikający z ilości użytej żywicy, jak i ilości rozpuszczalnika wymaganego do przemycia żywicy po reakcji. Jest to nie bez znaczenia, gdy do oczyszczenia danego produktu konieczne jest użycie kilku reagentów.

3. KONCEPCJE OCZYSZCZANIA Z UDZIAŁEM REAKTYWNYCH POLIMERÓW

Technika oczyszczania produktów reakcji z udziałem reaktywnych polimerów wykorzystuje fakt selektywnego wiązania zanieczyszczeń (nadmiarowych reagentów, produktów pośrednich, produktów ubocznych, katalizatorów homogenicznych) na zasadzie różnic we wzajemnym powinowactwie chemicznym składników roztworu i grup funkcyjnych obecnych w stałych reagentach polimerowych (tzw. selektywne rozpoznanie molekularne, *selective molecular recognition* [57]). W każdym roztworze reakcyjnym mogą bowiem występować składniki różniące się od celowego produktu właściwościami chemicznymi, co można wykorzystać do ich szybkiego usunięcia. Możliwość immobilizacji substancji małowcząsteczkowych na fazie stałej istnieje w reakcjach przebiegających z wytworzeniem wiązań kowalencyjnych, ale też przy oddziaływaniach jonowych lub mieszanych. W wypadku usuwania jonów metali lub ich kompleksów ważną rolę odgrywają również oddziaływania natury koordynacyjnej. Następcze oddzielenie stałego reagenta poprzez filtrację kończy oczyszczanie, umożliwiając uzyskanie roztworu pożądanego produktu (lub produktów) o poprawionej czystości.

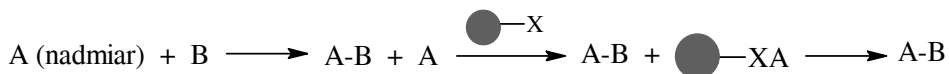
Za pionierów techniki oczyszczania z udziałem reagentów polimerowych można uznać Frecheta i in., którzy już w 1980 r. zademonstrowali użycie nierozpuszczalnego, słabo usieciowanego (1%) polimeru styrenowego z I-rzędowymi grupami aminowymi do selektywnego związania i usunięcia, pochodnej α -metyleno- γ -butyrolaktonu, alergenu, szkodliwego składnika naturalnych olejków, odpowiedzialnego za wywoływanie kontaktowego zapalenia skóry (Schemat 23) [84].



Schemat 23. Przykład użycia żywicy czyszczącej do usuwania izoalantolaktonu
Scheme 23. Examples of application of amine resin in scavenging of isoalantolactone

Od ukazania się pierwszej pracy na temat użycia reagentów nukleofilowych i elektrofilowych, immobilizowanych na polimerze, do oczyszczania bibliotek związków małocząsteczkowych [55], na potrzeby tzw. *polymer-assisted solution-phase (PASP) synthesis* opracowano liczne techniki oczyszczania.

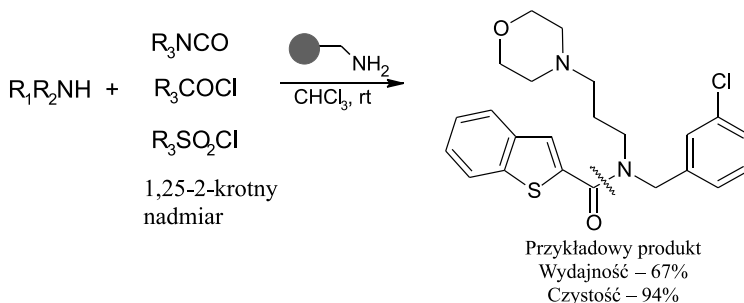
Pierwsza grupa metod obejmuje sekwestrację substratów i koproduktów (lub produktów ubocznych) na skutek zastosowania żywic z grupami funkcyjnymi komplementarnymi do niepożądanych składników mieszaniny reakcyjnej. Zasadę typowego procesu z udziałem komplementarnych reagentów ilustruje Schemat 24.



Schemat 24. Usuwanie nadmiaru reagenta za pomocą żywic czyszczących
Scheme 24. Removal of an excess reagent by polymer-supported scavengers

Zgodnie ze Schematem 24, w reakcji pomiędzy A i B, w celu jej doprowadzenia do końca, użyty jest nadmiar substratu A. W rezultacie tej hipotetycznej reakcji otrzymujemy mieszaninę AB i A. W celu usunięcia reszty nieprzereagowanego substratu, dodawany jest nadmiar nierozpuszczalnego polimeru, zawierającego grupy funkcyjne, podobne do grup funkcyjnych substratu B. Umożliwia to następcze wydzielenie produktu AB, w wyniku prostej filtracji i odparowania rozpuszczalnika. Tak zaprojektowana strategia oczyszczania wykorzystuje fakt, że produkt AB jest mniej reaktywny i chemicznie różny od nadmiarowego wyjściowego reagenta. Osiągany stopień czystości zależy oczywiście od różnicy względnej reaktywności pomiędzy pożądanymi produktami i zanieczyszczeniami.

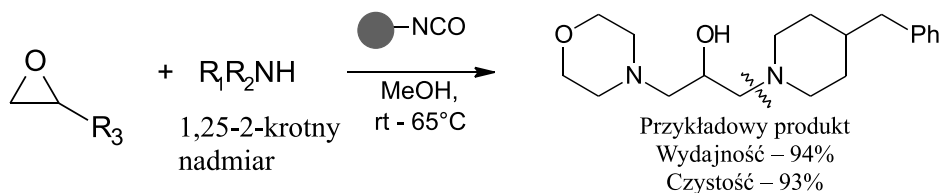
Skuteczność tej metody po raz pierwszy szerzej zademonstrowali Kaldor i in. [55, 56], wykorzystując żywice z funkcjami nukleofilowymi do usunięcia nadmiaru substancji o charakterze elektrofilowym oraz żywice o charakterze elektrofilowym do usunięcia substancji nukleofilowych. W reakcji acylowania amin (Schemat 25) nadmiar czynnika acylującego (izocyjanianu, chlorku kwasowego) z powodzeniem usuwali stosując żywice z grupami aminowymi.



Schemat 25. Przykład usuwania nadmiaru czynnika acylującego

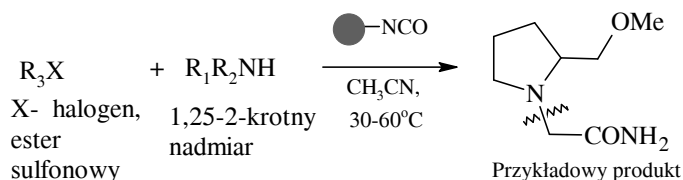
Scheme 25. Example of removal of an excess of acylation agent

W wypadku reakcji przyłączenia II-rzędowych amin do epoksydów (Schemat 26) oraz alkilowania II-rzędowych amin chlorkami alkilowymi (Schemat 27), nadmiar aminy mógł być usunięty za pomocą żywicy z grupami izocyjanowymi. Grupy –NCO nie wiązały przy tym produktów reakcji, będących aminami III-rzędowymi.



Schemat 26. Przykład usuwania amin w reakcji oksyalkilowania

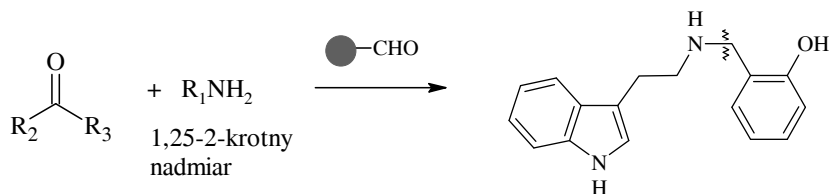
Scheme 26. Removal of amines from oxyalkylation reactions



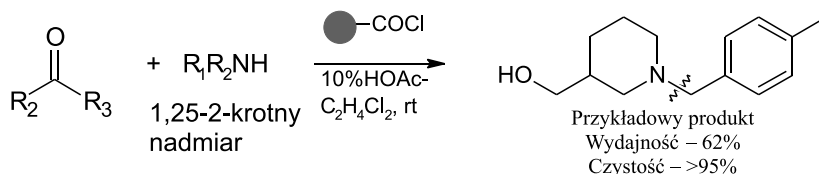
Schemat 27. Przykład usuwania amin w reakcji alkilowania

Scheme 27. Removal of amines from alkylation reactions

Z kolei w reakcji redukującego aminowania aldehydów, w zależności od rzędowości wyjściowej aminy i powstającego produktu, efekt oczyszczenia mógł być osiągnięty przy zastosowaniu żywicy z grupami aldehydowymi (Schemat 28), reagującej selektywnie z I-rzędowymi aminami, lub żywicy z funkcjami chlorków kwasowych (Schemat 29), niewiążącymi trwale amin III-rzędowych. We wszystkich testowanych reakcjach otrzymywane produkty charakteryzowały się dużą czystością.



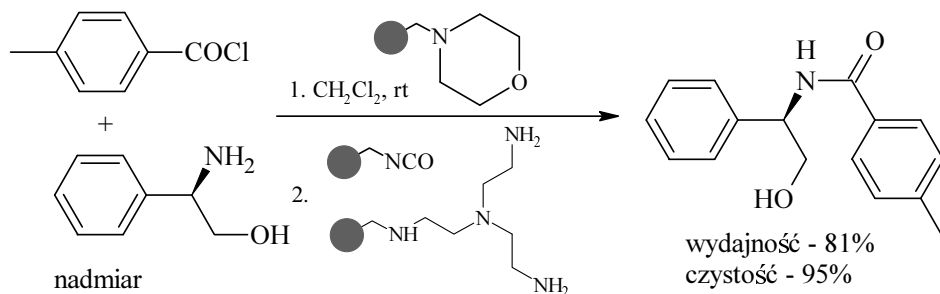
Schemat 28. Przykład usuwania amin I-rzędowych w reakcji redukującego aminowania
 Scheme 28. Removal of primary amines from reductive amination reactions



Schemat 29. Przykład usuwania amin II-rzędowych w reakcji redukującego aminowania
 Scheme 29. Removal of secondary amines from reductive amination reactions

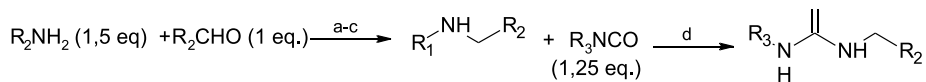
Liczne inne przykłady wykorzystania komplementarnych reagentów polimerowych do usunięcia nadmiarowych substratów w reakcji acylowania opisali w swoich pracach Flyn i in. [57, 85, 86] oraz Hodge i in. [58].

Schemat 30 ilustruje równoczesne użycie kilku żywic polimerowych w syntezie amidów. Immobilizowana na polimerze morfolina pełni rolę katalizatora reakcji, zaś żywice z grupami izocyjanianowymi i poliaminowymi, dodane po zakończeniu reakcji, odpowiadają za usunięcie odpowiednio: nadmiaru aminy oraz nieprze-reagowanego chlorku kwasowego [58].



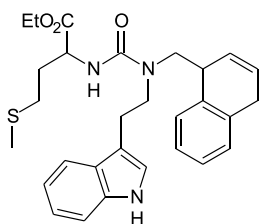
Schemat 30. Przykład równoległego wykorzystania dwóch żywic czyszczących [58]
 Scheme 30. Example of simultaneous application of two polymer-supported scavengers [58]

W swoich pracach Kaldor i in. [55, 56] wykazali ponadto skuteczność oczyszczania za pomocą reagentów polimerowych również w wypadku wieloetapowych syntez (Schemat 31) oraz w syntezach mieszanych bibliotek związków (Schemat 32).

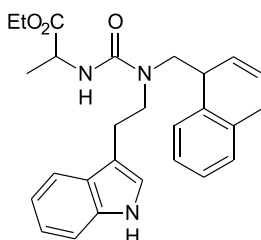


a) MeOH, rt, 1 h; b) żywica z funkcjami borowodorowymi, Amberlite IRA -400, rt; c) żywica polistyrenowa z grupami aldehydowymi, CH₂Cl₂, cała noc, 2. Filtracja; d) EtOH -absolutny-CH₃Cl, 1 h, 2. żywica styrenowa z funkcjami aminowymi, 1 h, 3. Filtracja

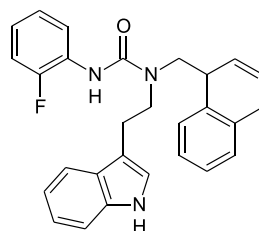
Produkty:



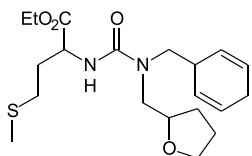
wydajność/czystość - 100/93



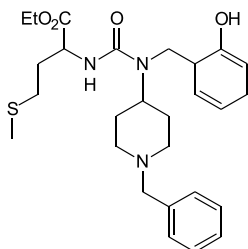
wydajność/czystość - 89/95



wydajność/czystość - 95/96

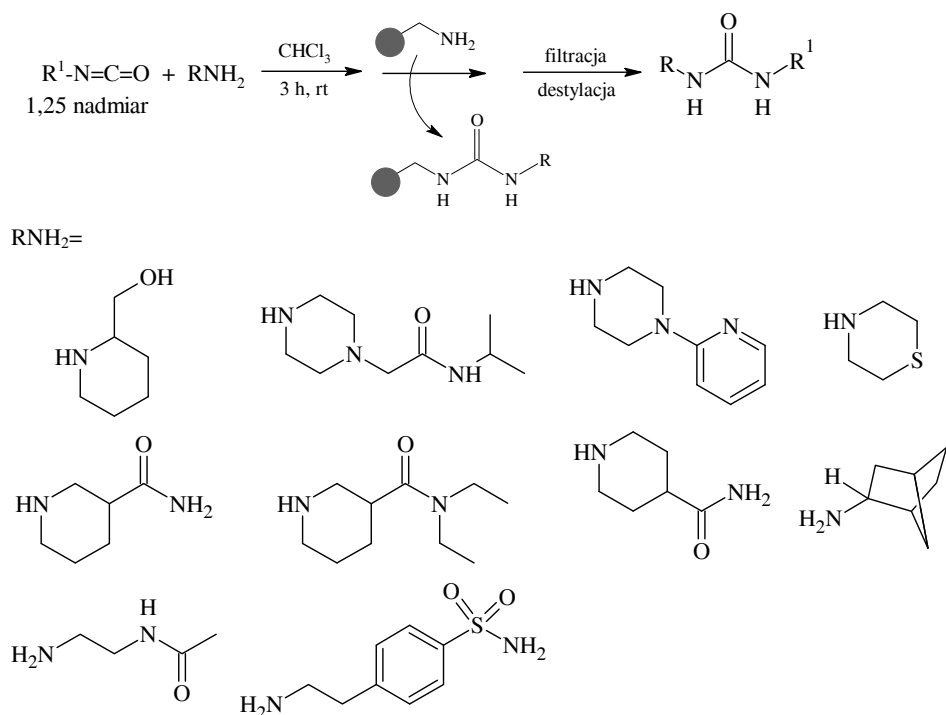


wydajność/czystość - 87/81



wydajność/czystość - 100/97

Schemat 31. Przykład wykorzystania żywic czyszczących w kilkuetapowej syntezie pochodnych mocznika [58]
Scheme 31. Example of application of scavengers in multi-stage synthesis of urea derivatives [58]

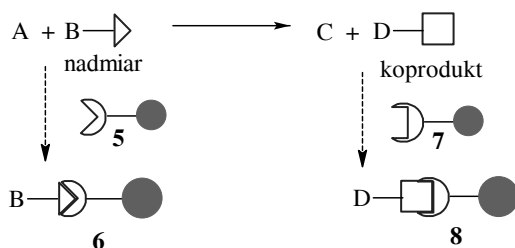


Schemat 32. Przykład równoległego wykorzystania żywic czyszczących w syntezie mieszanych bibliotek pochodnych mocznika [58].

Scheme 32. Example of application of scavengers in synthesis of mixed libraries of urea derivatives [58]

W większości przypadków reakcje organiczne przebiegają wielokierunkowo, a w mieszaninie poreakcyjnej, obok celowego produktu i nadmiarowego substratu, znajdują się produkty uboczne. Podstawą skutecznego oczyszczenia pożądaných produktów jest wówczas identyfikacja wszystkich produktów ubocznych, w celu określenia komplementarnego stałego reagenta, zdolnego do selektywnego rozpoznania zanieczyszczenia i jego usunięcia w następstwie selektywnej reakcji. Realizacja tego podejścia doprowadziła Flyna i in. [57] do rozwinięcia strategii oczyszczania produktów syntezy równoległej, nazwanej *complementary molecular recognition and reactivity (CMR/R)*. Proponowana metodologia bazowała na następujących założeniach: 1) elementy biblioteki syntezowane są w fazie ciekłej; 2) substraty reakcji, katalizator i produkty uboczne posiadają odpowiednie funkcje (naturalne lub celowo wprowadzone), które mogą być wykorzystane w procesie poreakcyjnej sekwestracji składników mieszaniny (*post-reaction sequestration*); 3) usunięcie nadmiarowego substratu, produktu ubocznego i/lub katalizatora następuje w wyniku traktowania roztworu reakcyjnego żywicami, zawierającymi funkcje komplementarne do niepożądanych składników (*CMR/R resins*), z następczą filtracją mieszaniny. Użycie tej strategii do sekwestracji niepożądanych składników mieszaniny reak-

cyjnej pozwala także na jednoczesne zastosowanie wielu żywic, nawet w wypadku gdy zawierają one wzajemnie niekompatybilne grupy funkcyjne. Ilustrację tego podejścia stanowi Schemat 33.

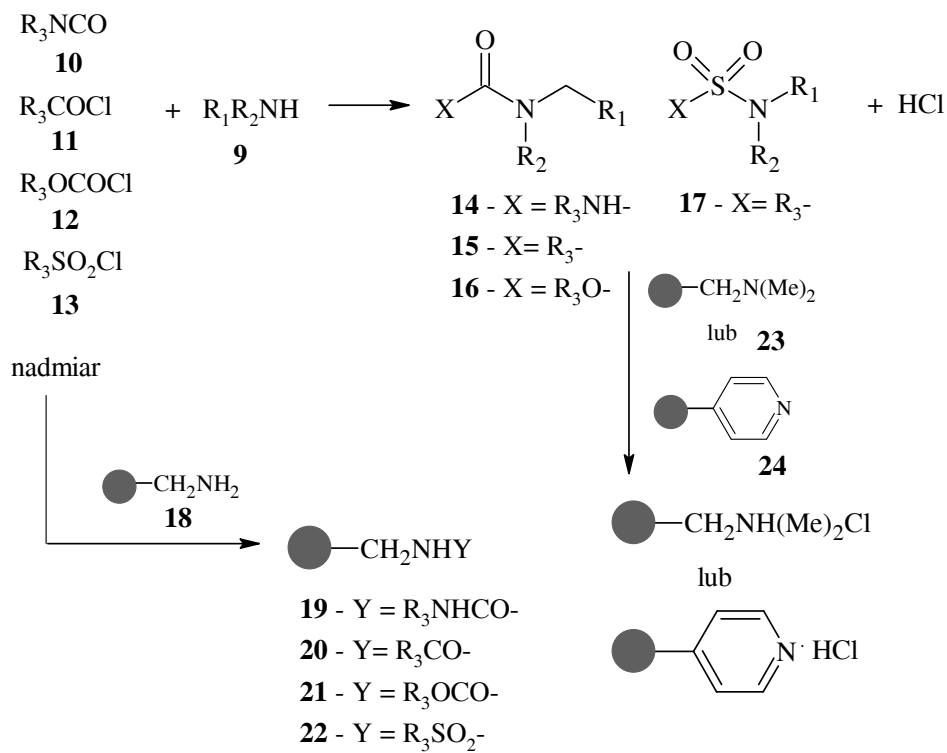


Schemat 33. Ogólny schemat użycia żywic *CMR/R* do usuwania nadmiaru substratów i/lub produktów ubocznych

Scheme 33. General scheme of application of *CMR/R* resins for the removal of an excess of reactants and/or by-products

Zgodnie z tym schematem, w równoległe prowadzonych reakcjach, w celu osiągnięcia maksymalnego przereagowania substratu **A** do produktów **C**, użyty jest nadmiar substratu **B**. Po zakończeniu reakcji w fazie ciekłej, nadmiar **B** jest selektywnie usuwany przez zastosowanie żywicy *CMR/R* **5**, zawierającej grupy funkcyjne komplementarne z grupami obecnymi w tym substracie. W wyniku reakcji (sekwestracji) **B** z żywicą **5** tworzy się addukt **6**, który jest usuwany przez filtrację. Jeśli w roztworze reakcyjnym obecny jest produkt uboczny lub koprodukt **D** (zawierający rozpoznawalne grupy funkcyjne), to dalsze oczyszczenie produktu **C** jest możliwe przy użyciu kolejnej żywicy *CMR/R* **7**, zawierającej komplementarne do **D** grupy funkcyjne selektywnie wiążące chemicznie ten produkt w addukt **8**. Następnie zatężenie roztworu prowadzi do otrzymania oczyszczonego produktu **C**.

Praktyczną ilustrację metodologii *CMR/R* stanowi seria eksperymentów zilustrowana Schematem 34 i Tabelą 3 [57].



Schemat 34. Przykłady zastosowania komplementarnych żywic do usuwania zanieczyszczeń z produktów acylowania [57].

Scheme 34. Examples of application of CMR/R technology for the removal of impurities from products of acylation reactions [57]

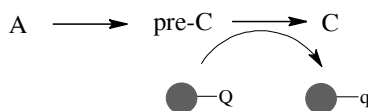
Tabela 3. Wydajność i czystość amidów, moczników, karbaminianów i sulfamidów, otrzymanych zgodnie ze Schematem 34 [57]

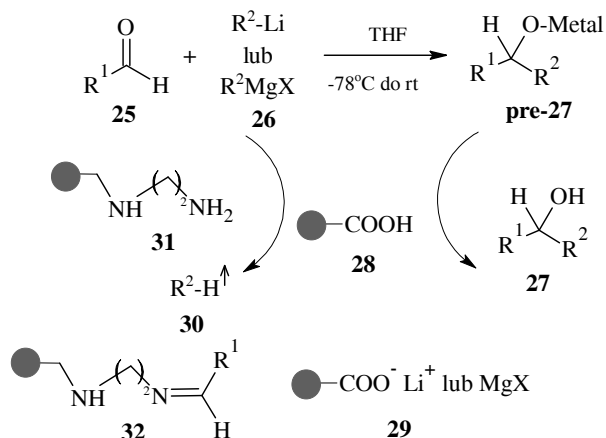
Table 3. Yield and purity of amides, ureas, carbamates and sulfoamides obtained according to Scheme 34 [57]

Amina	Czynnik acylujący	Produkt	% wydajność/czystość HPLC
PhNH ₂	PhCOCl	PhCONHPh	99,5/97,8
PhNH ₂	CH ₃ COCl	CH ₃ CONHPh	57,8/97,9
PhNH ₂	Bn-N=C=O	BnNHONHPh	100/97,8
PhNH ₂	i-Pr-N=C=O	i-Pr-NHCONHPh	50,0/98,6
PhNH ₂	p-Me-PhSO ₂ Cl	p-Me-PhSO ₂ NHPh	100/98,3
PhNH ₂	EtOCOCl	EtOCONHPh	95,8/99,7
BnNH ₂	PhCOCl	PhCONHBn	100/98,1
BnNH ₂	i-Pr-N=C=O	i-Pr-NHCONHBn	100/94,8
BnNH ₂	p-Me-PhSO ₂ Cl	P-Me-PHSO ₂ NHBn	93,9/97,7
(Bn) ₂ NH	PhCOCl	PhCON(Bn) ₂	100/97,7
(Bn) ₂ NH	i-Pr-N=C=O	i-Pr-NHCON(Bn) ₂	100/98,6
(Bn) ₂ NH	p-Me-PhSO ₂ Cl	p-Me-PhSO ₂ N(Bn) ₂	88,6/99,1

W przytoczonych przykładach do efektywnego usunięcia nadmiaru substratów **10–13** (czynników acylujących) użyto komplementarnej żywicy **18**. Efektywna sekwestracja koproduktu (HCl) była możliwa dzięki zastosowaniu komplementarnych żywic **23** lub **24**. W ten sposób pomimo użycia 2,5–5-krotnego nadmiaru czynnika acylującego w reakcji izocyjanianów **10**, chlorków kwasowych **11**, alkilochloromrówczanów **12** i sulfochlorków **13** z aminami I i II rz. **9**, możliwe było otrzymanie moczników **14**, amidów **15**, karbaminianów **16** i sulfoamidów **17** z doskonałą konwersją i czystością.

Flynn i in. [57], na przykładzie addycji związków metaloorganicznych do aldehydów, pokazali ponadto, że żywice *CMR/R* mogą być z powodzeniem zastosowane również do przekształcenia nietrwałych form produktów pośrednich *pre-C* (*quenching*) w finalną, trwałą formę *C* (Schemat 35). Praktyczną stroną takiego wykorzystania żywic *CMR/R* ilustruje Schemat 36.

Schemat 35. Schemat ogólny wykorzystania techniki *CMR/R* do rozkładu nietrwałych form produktów pośrednichScheme 35. Illustration of application of *CMR/R* technology for quenching of unstable forms of products



Schemat 36. Przykład wykorzystania techniki CMR/R w syntezie alkoholi II-rzędowych w reakcji związków metaloorganicznych z aldehydami

Scheme 36. Application of CMR/R technology in the synthesis of secondary alcohols in the reaction of organometallic compounds and aldehydes

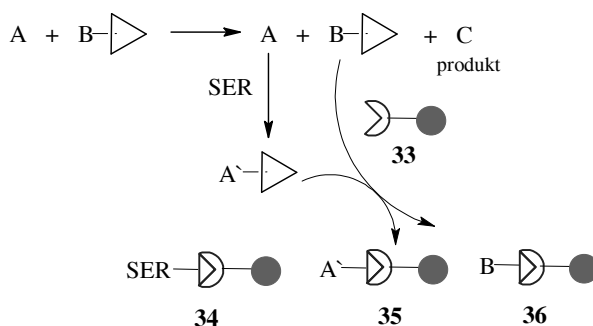
Aldehydy **25**, reagując z nadmiarem *n*-butylolitu lub chlorku allilomagnezowego **26**, tworzą nietrwałe alkoholany metali **pre-27**. Wprowadzenie do roztworu reakcyjnego żywicy **28** (Amberlite IRC-50S z funkcjami karboksylowymi) skutkuje rozkładem alkoholany do alkoholi **27**. Żywica **28** rozkłada dodatkowo nadmiar związku metaloorganicznego **26** do gazowego butanu lub propenu. Dalsza filtracja żywicy umożliwia otrzymanie produktów **27** z wydajnością 75–97% i czystością ponad 95% (Tab. 4). Jedynie zastosowanie nadmiaru związku metaloorganicznego w reakcji 6-metylopirydyno-karboksyaldehydu z chlorkiem alliloglinu nie gwarantowało ilościowej konwersji aldehydu, który zanieczyszczał finalny produkt. W tym wypadku, proste zastosowanie dodatkowej żywicy **31** (z I-rzędowymi grupami aminowymi) prowadziło do sekwestracji nieprzereagowanego aldehydu i usunięcia tego zanieczyszczenia w postaci adduktu **32**.

Tabela 4. Wydajność i czystość izolowanych alkoholi allilowych (**27**) otrzymanych zgodnie ze Schematem 35 [57]

Table 4. Yield and purity of allylic alcohols (**27**) obtained according to Scheme 35 [57]

R ¹	R ²	Wydajność 23	Czystość GC, %
fenylo	allil	90	>99
1-naftylo	allil	99	96,6
3-metoksyfenylo	allil	96	95,6
fenyloetylo	allil	94	95,3
6-metylopirydynyl-2-yl	allil	99	> 99
5-metylofuran-2-yl	allil	88	> 99

Niekiedy natura substratów biorących udział w reakcji nie umożliwia bezpośrednio zastosowania prostej metodologii *CMR/R* do oczyszczania produktów. Wówczas wykorzystanie odpowiednio sfunkcjonalizowanych żywic polimerowych do sekwestracji zanieczyszczeń od pożądanych produktów wymaga dodatkowej funkcjonalizacji zanieczyszczeń w reakcji ze specjalnymi reagentami *SER* (*sequestration enabling reagents, SER*) [85, 87–89]. Zadaniem tych reagentów jest przekształcenie niepożądanego składnika mieszaniny, słabo ulegającego sekwestracji lub nieposiadającego odpowiednich funkcji, w odpowiednio sfunkcjonalizowany komponent (chemicznie znaczone, z ang. *tagged*), zdolny do sekwestracji w kontakcie ze stałym reagentem, na wskutek oddziaływań jonowych lub kowalencyjnych. Metodę oczyszczania z wykorzystaniem stałych reagentów polimerowych, w połączeniu z reagentami *SER*, po raz pierwszy zademonstrowali Parlow i Flyna [85, 87]. Zasadę tej techniki ilustruje Schemat 37 [87].

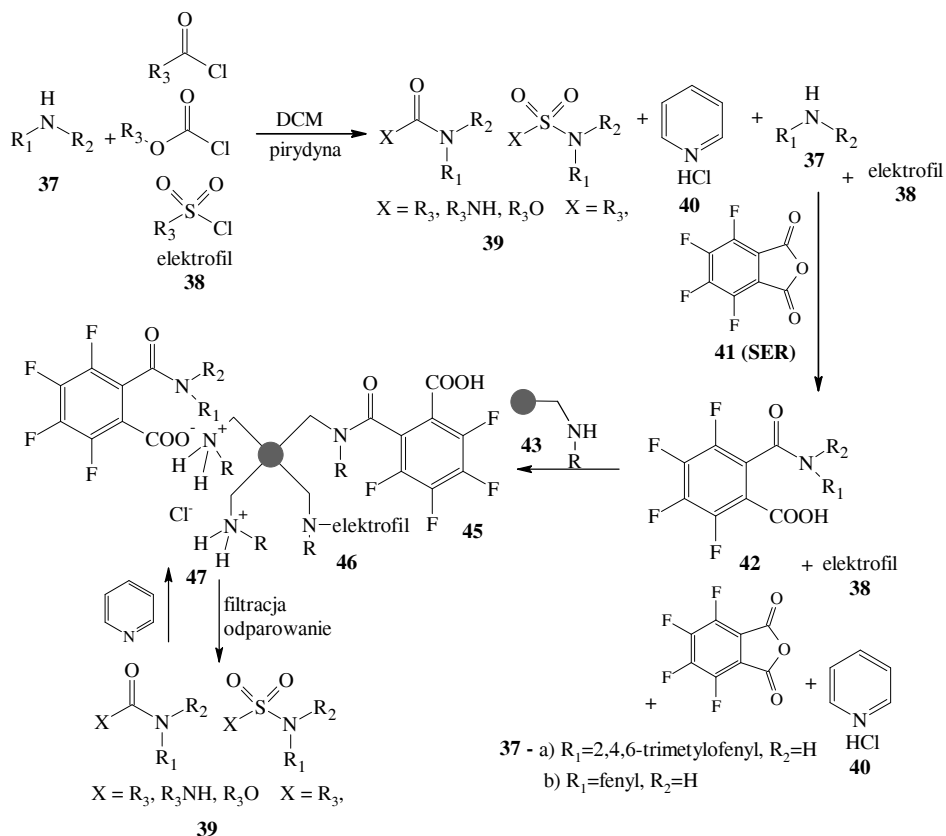


Schemat 37. Schemat oczyszczania z użyciem reagenta *SER* (na podstawie [87])
 Scheme 37. Application of *SER* reagent for the removal of impurities

Praktyczną ilustracją użycia reagentów *SER* mogą być reakcje acylowania amin II-rzędowych chlorkami kwasowymi, izocyjanianami, chloromrówczanami i chlorkami sulfonylu (Schemat 38).

Surowe produkty reakcji, w których wykorzystano nadmiar pirydyny, nie mogą być bezpośrednio oczyszczone z wykorzystaniem polimerów z grupami funkcyjnymi komplementarnymi do składników mieszaniny poreakcyjnej. Jednakże potraktowanie mieszanin poreakcyjnych nadmiarem bezwodnika tetrafluoroftalowego (**41**), skutkujące dodatkową derywatyzacją aminy do kwasu karboksylowego **42**, umożliwia już skuteczną sekwestrację składników mieszaniny poreakcyjnej za pomocą żywicy z grupami aminowymi **43**. Żywica ta przy oczyszczaniu produktu odgrywa potrójną rolę. Po pierwsze, usuwa chlorowodór wytworzony podczas pierwszej reakcji, pozwalając na następcze usunięcie pirydyny przez odparowanie. Po drugie, w wyniku oddziaływań jonowych usuwa wytworzony monoamid kwasu tetrafluoroftalowego. Po trzecie, usuwa nadmiar reagenta *SER* **41** na skutek oddziaływań kowalencyjnych. Żywica tworzy sól z monoamidem kwasu tetrafluoroftalowego i chlorowodorem oraz mocznik z izocyjanianem. Użycie do oczyszczania kombinacji rea-

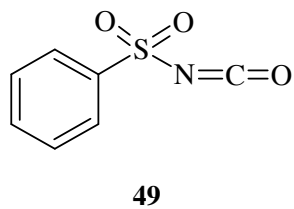
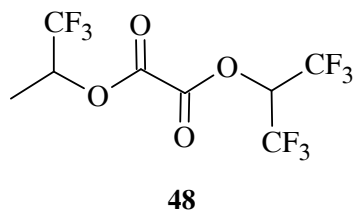
genta *SER* **41** i żywicy **43** pozwoliło Flynnowi i in. na otrzymanie moczników, węglanów i sulfoamidów z wysoką czystością.



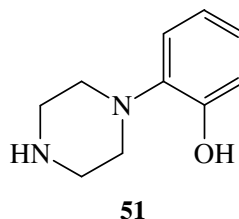
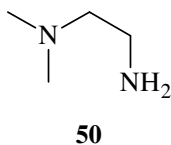
Schemat 38. Przykład praktycznego wykorzystania reagenta *SER* [87]

Scheme 38. Practical application of *SER* reagent [87]

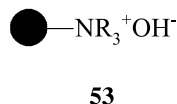
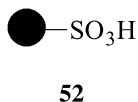
Innym przykładem elektrofilowych reagentów *SER* mogą być związki **48** i **49** [36].



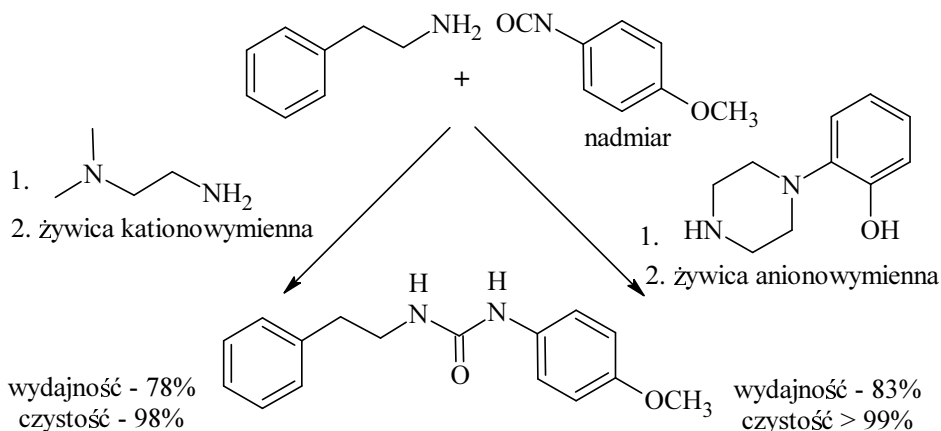
Oprócz opisanych powyżej elektrofilowych reagentów *SER*, do wychwytu nadmiaru izocyjanianu można zastosować również związki o charakterze nukleofilowym, takie jak np. **50** lub **51** [89].



Kiedy reagentem *SER* jest **50**, otrzymane zasadowe komponenty są usuwane na kolumnie z wymienniczym jonowym **52**. Alternatywnie, kiedy reagentem *SER* jest **51**, wytworzone pochodne fenolowe można usunąć na kolumnie z anionitem **53**.



Przykładem ilustrującym praktyczne wykorzystanie **50** i **51** jest reakcja syntezy pochodnej mocznika z odpowiedniej aminy I-rzędowej i izocyjanianu, przedstawiona na Schemacie 39 [89].

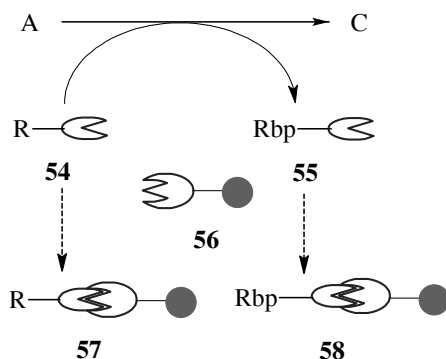


Schemat 39. Przykład wykorzystania nukleofilowego reagenta *SER*
 Scheme 39. Application of *SER* nucleophiles

Użycie reagentów *SER*, w celu stworzenia możliwości wykorzystania łatwo dostępnych i niedrogich żywic czyszczących, jest niejednokrotnie znacznie korzyst-

niejsze niż poświęcanie czasu na wytworzenie specyficznych reagentów polimerowych na potrzeby danej reakcji.

W trzeciej grupie metod oczyszczanie z udziałem reagentów polimerowych realizowane jest przy zastosowaniu tzw. „sztucznie znaczonych” reagentów (*artificially-tagged reagents* or *reactants*), których dodatkowe funkcje (grupy funkcyjne), niebiorące udziału we właściwej reakcji, są wykorzystane do sekwestracji nadmiaru substratu i koproduktu z mieszaniny poreakcyjnej (Schemat 40) [57, 90–92].



Schemat 40. Ilustracja użycia „sztucznie znaczonych” reagentów w technologii CMR/R (na podstawie [57])
Scheme 40. Illustration of the use of tagged reagents in CMR/R technology (based on [57])

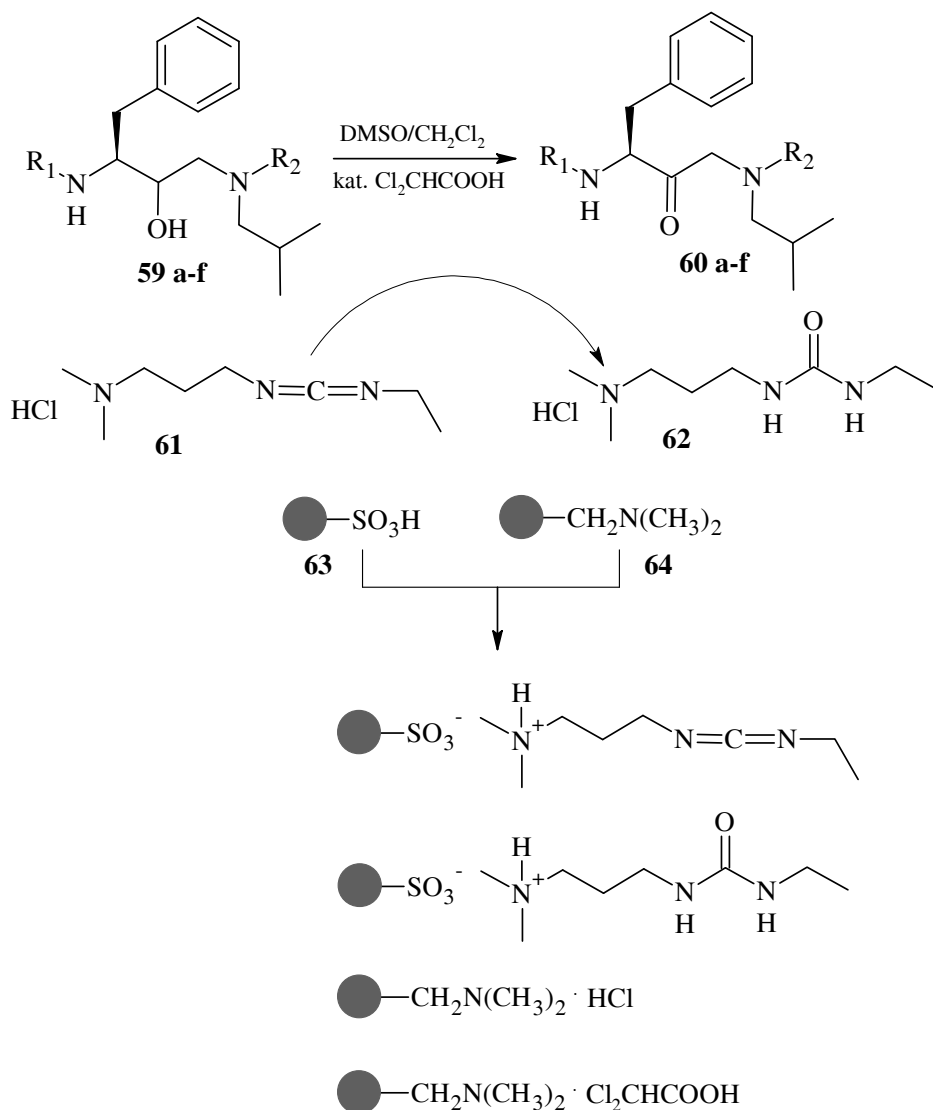
Zgodnie z tym podejściem, oczyszczenie produktu **C** z nadmiaru „znaczonego” reagenta **54** oraz powstałego w wyniku jego przekształcenia produktu ubocznego **55** jest przeprowadzane przy użyciu komplementarnej żywicy **56**. Zarówno **54** i **55** zawierają dodatkowo grupę funkcyjną, która umożliwia ich sekwestrację w postaci adduktów **57** i **58**, po dodaniu komplementarnej żywicy. Zastosowanie takiego podejścia jest możliwe w przypadku, gdy dodatkowa grupa funkcyjna jest inerta w stosunku do pozostałych substratów lub produktów, tj. nie reaguje z nimi ubocznie ani w inny sposób nie zakłóca przebiegu właściwej reakcji.

Przykładem wykorzystania metodologii *CMR/R* w połączeniu z dodatkowo funkcjonalizowanymi reagentami jest równoległe utlenianie Moffatta, w którym do utleniania amino alkoholi **59a-f** do ketonów **60a-f** zastosowano karbodiimid **61** z dodatkową funkcją soli amoniowej (Schemat 41).

Podczas reakcji karbodiimid **61** (nazwa, EDC) ulega przemianie do koproduktu **62**. Nienaruszona zostaje przy tym dodatkowa funkcja soli amoniowej substratu. Po wyczerpaniu się aminoalkoholu, zarówno **61**, jak i **62** ulegają sekwestracji z mieszaniny poreakcyjnej pod wpływem dwóch żywic *CMR/R*, zawierających funkcje kwasowe (sulfonowej, **63**) i zasadowe (aminowej, **64**). Żywica **64** odpowiada za usunięcie HCl z dodatkowej grupy amoniowej w cząsteczkach **61** i **62** (przeniesienie protonu), a żywica z grupami sulfonowymi w formie kwasowej **63** bierze udział następnie w sekwestracji wolnych form zasadowych **61** i **62**, wykorzystując kom-

plementarne rozpoznanie cząsteczek. Warto zauważyć, że jednoczesne użycie żywic zawierających wzajemnie niekompatybilne grupy funkcyjne jest dozwolone dzięki izolacji miejsc aktywnych na stałych reagentach.

W Tabeli 5 podano zestawienie ketonów otrzymanych według przedstawionej metodologii.

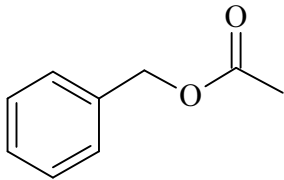
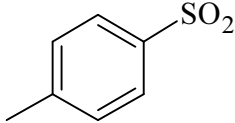
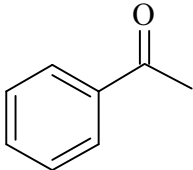
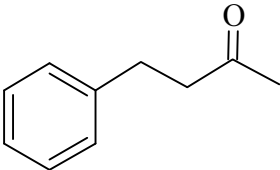
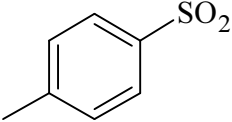
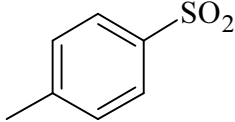
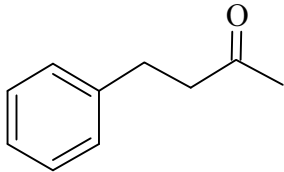
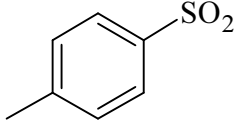

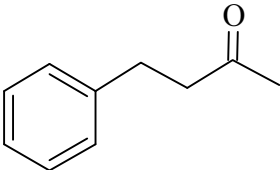
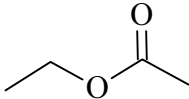
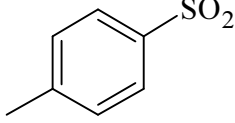


Schemat 41. Przykład wykorzystania „sztucznie znaczonych” reagentów w technice *CMR/R* [57]

Scheme 41. Application of tagged reagents in *CMR/R* strategies [57]

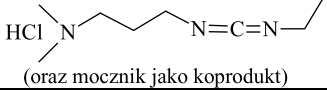
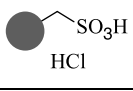
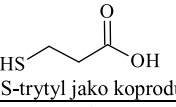
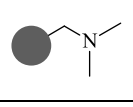
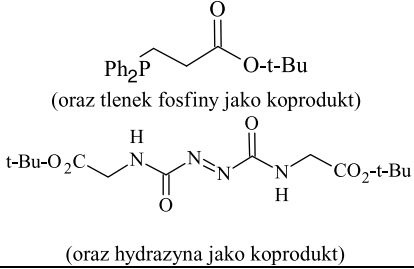
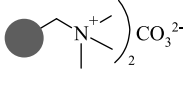
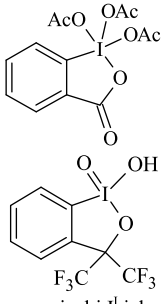
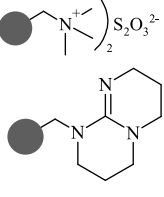
Tabela 5. Zestawienie wyników syntezy ketonów **60**, przeprowadzonej zgodnie ze Schematem 41 (na podstawie [57])

Table 5. Results of synthesis of ketones **60** according to Scheme 41 (based on [57])

60	R ₁	R ₂	Wydajność 60 , %	Czystość 60 , %
a			48	92
b			80	87
c			92	71
d			61	93
e			79	82
f			58	91

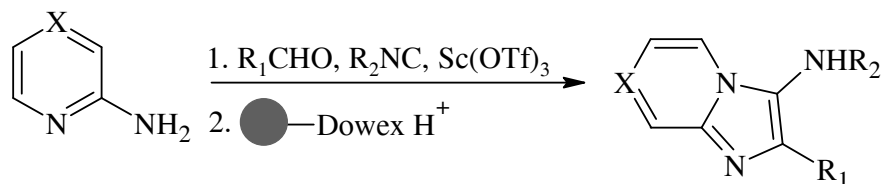
Dalsze przykłady wykorzystania dodatkowo sfunkcjonalizowanych reagentów, w połączeniu z komplementarnymi żywicami polimerowymi, zestawiono w Tabeli 6 [36].

Tabela 6. Przykłady wykorzystania „sztucznie znaczonych” reagentów
Table 6. Examples of the use of tagged reagents

Dodatkowo sfunkcjonalizowany reagent (sfunkcjonalizowany koprodukt)	Komplementarna Żywica	Typ reakcji	Źródło
 <p>(oraz mocznik jako koprodukt)</p>		utlenianie Moffatta	[57]
 <p>(oraz S-trytyl jako koprodukt)</p>		usuwanie grupy trytylowej	[36]
 <p>(oraz tlenek fosfiny jako koprodukt) (oraz hydrazyna jako koprodukt)</p>		reakcja Mitsunobu	[90]
 <p>(związki I^{III} oraz związki I^I jako koprodukty)</p>		utlenianie	[91]

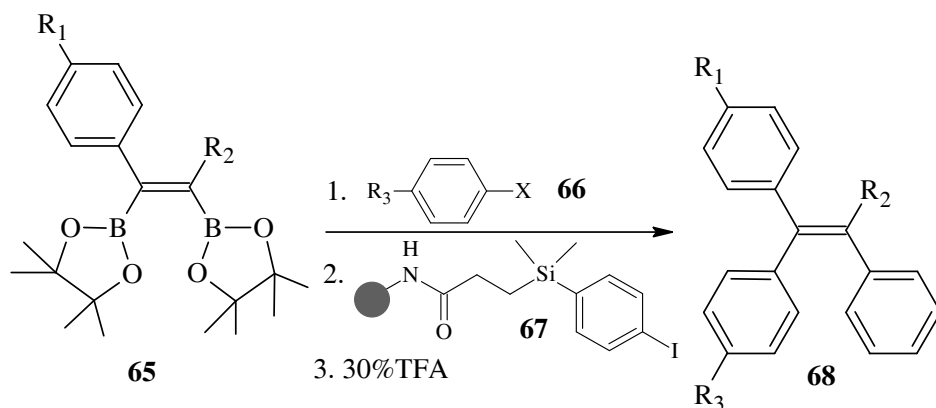
Czwarta grupa metod oczyszczania, stosowana w syntezie *PASP*, bazuje na zasadzie „chwyc/uwolnij” (*capture/release resins*). W tej technice używane są żywice zdolne do tymczasowego wychwytu pożądaných produktów z roztworu reakcyjnego (nie zaś sekwestracji niepożądanych składników), zachodzącego wskutek oddziaływań jonowych lub kowalencyjnych. W literaturze można znaleźć wiele przykładów ilustrujących takie podejście [93–106]. Przykładem może być trójskładnikowa kondensacja 2-aminopirydyny lub 2-aminopiperazyny z nadmiarem aldehydu i izoni trylu, w obecności kwasu Lewisa (Schemat 42) [99].

Pożądaný, zasadowy bicykliczny produkt tych reakcji jest sekwestrowany z roztworu pod wpływem żywicy jonowymiennej *Dowex*. Produkt uwalnia się z żywicy po jej przemyciu, w celu usunięcia zaadsorbowanych fizycznie pozostałych reagentów i zanieczyszczeń, przez wymycie roztworem amoniaku w metanolu. W podobny sposób realizowane było oczyszczanie 4-aminopiperidyny [96].



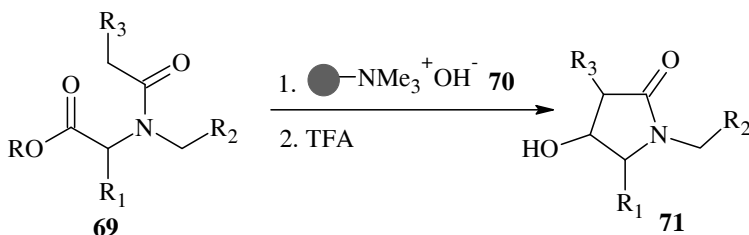
Schemat 42. Przykład wykorzystania techniki typu „chwyc/uwolnij” w wariacie „kationowymieniennym”.
 Scheme 42. Illustration of application of the *capture/release* technique in the cation-exchange variant

Przykładem ilustrującym koncepcję tymczasowego wiązania produktu na sposób kowalencyjny (*covalent resin capture/release strategy*) jest synteza tetra-podstawionych olefin, pochodnych *Tamoxifenu* (Schemat 43) [97]. Bis(boryl)alkeny **65** ulegają reakcji Suzuki z halogenkami aryłowymi **66**, dając głównie mono-podstawiony produkt z małą ilością produktu dwu-podstawionego i produktu nie zawierającego atomów boru. Pożądaný mono-podstawiony boryloalken może być immobilizowany na żywicy **67**, zawierającej funkcje halogenków arylowych. Przemycie żywicy od zanieczyszczeń, z następczym jej potraktowaniem kwasem trifluorooctowym, uwalnia pożądaný tetra-podstawiony alkeny **68** w czystej formie.



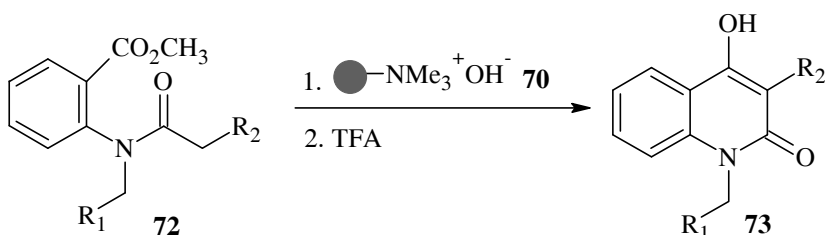
Schemat 43. Przykład wykorzystania techniki typu „chwyc/uwolnij” w wariacie „kowalencyjnym”.
 Scheme 43. Example of application of the *capture/release* technique in the covalent variant

Wykorzystanie żywicy anionowymiennej w technice *capture/release* przedstawiają z kolei Schematy 44 i 45. Żywica Amberlyst A-26 (**69**) w formie wodorotlenowej, jako zasada pośredniczy w cyklizacji N-acylowych pochodnych estrów aminokwasów **71** lub N-acylowych pochodnych estrów kwasu antranilowego **72**, dając odpowiednio związki heterocykliczne **71** lub **73** [94, 103]. Produkty zostają immobilizowane na żywicy wskutek oddziaływań jonowych, co pozwala na usunięcie zanieczyszczeń poprzez przemycie żywicy. Późniejsze potraktowanie żywicy kwasem trifluorooctowym uwalnia produkty w czystej postaci.



Schemat 44. Przykład wykorzystania techniki typu „chwyc/uwolnij” w wariacie „anionowym” – synteza hydroksypochodnych pirolidonu

Scheme 44. Example of application of the *capture/release* technique in the anion-exchange variant – synthesis of hydroxyderivatives of pyrrolidone



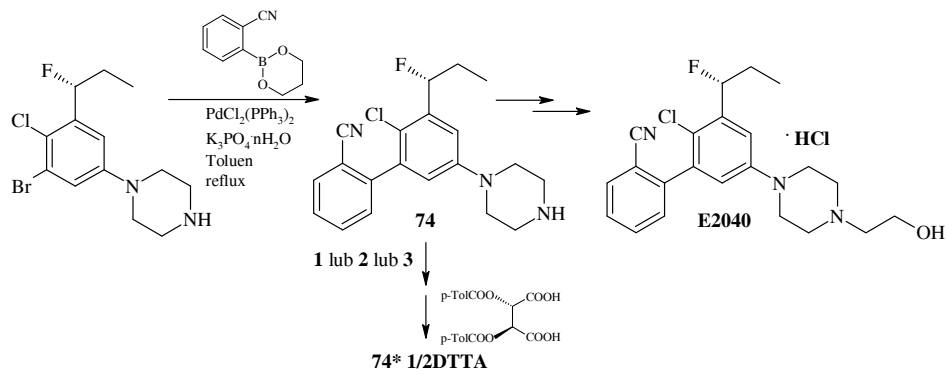
Schemat 45. Przykład wykorzystania techniki typu „chwyc/uwolnij” w wariacie „anionowym” – synteza 4-hydroksychinolino-2(1H)-nów

Scheme 45. Example of application of the *capture/release* technique in the anion-exchange variant – synthesis of 4-hydroxyquinolino-2(1H)-nes

W syntezie farmaceutyków oraz wielu innych substancji biologicznie czynnych ważną rolę odgrywają procesy z udziałem związków metaloorganicznych lub procesy katalityczne z wykorzystaniem homogenicznych kompleksów metali [107]. Do tej grupy procesów zaliczyć można katalityczne uwodornienie wobec kompleksów rodu i rutenu, stosowane na dużą skalę do otrzymywania czystych enancjomerycznie półproduktów. Pozostałość tych metali, nawet w śladowych ilościach, jest niedopuszczalna w finalnych produktach, ze względu na ich toksyczność. W tych przemianach pomocnymi przy oczyszczaniu produktów reakcji z jonów metali mogą okazać się żywice z funkcjami jonowymiennymi lub grupami donorowymi.

Reakcjami o dużym znaczeniu praktycznym są również reakcje Mizoroki-Heck, Sonogashira i Suzuki-Miyaura, w których tworzenie wiązania C-C jest katalizowane związkami palladu [108]. Klasyczne metody oczyszczania częstokroć nie pozwalają na wystarczająco głębokie oczyszczenie otrzymanych w tych reakcjach składników leków od pozostałości toksycznego palladu. Jest to natomiast możliwe przy użyciu odpowiednio sfunkcjonalizowanych polimerów. Przykładem może być wykorzystanie przez Urawa i in. [109] żywica z układem poliaminowym (1–3) do oczyszczania półproduktu **74**, stosowanego przy produkcji na skalę przemysłową antagonisty receptorów $D_3/D_2/5\text{-HT}_2$, znanego pod nazwą E2040 (Schemat 46, Tab. 7). Surowy **74** jest po reakcji zanieczyszczony dużymi ilościami Pd (ponad 2000 ppm).

Zanieczyszczeń tych nie można usunąć do akceptowalnego poziomu (poniżej 10 ppm Pd) wykorzystując klasyczne sorbenty, takie jak np. węgiel aktywny czy ziemię aktywne. Możliwe staje się to natomiast przy użyciu żywic z funkcjami poliamino-



wymi.

Schemat 46. Zastosowanie żywic z funkcjami poliaminowymi w syntezie antagonisty receptorów $D_3/D_2/5\text{-HT}_2$.
Scheme 46. Application of polymer-bound polyamines in the synthesis of the antagonist of $D_3/D_2/5\text{-HT}_2$ receptors

Tabela 7. Wyniki zastosowania żywic z funkcjami poliaminowymi w syntezie antagonisty receptorów $D_3/D_2/5\text{-HT}_2$
Table 7. Results of the use of polymer-bound polyamines

Żywica	Rozpuszczalnik	Czas, h	Pozostałość Pd, ppm	
			74	74* 1/2DTTA
1	toluen	17	370	11
1	toluen	65	–	< 2
2	toluen	65	–	< 2
3	aceton	65	–	4
3	toluen	17	103	18
3	toluen	31	136	7

in the synthesis of the antagonist of $D_3/D_2/5\text{-HT}_2$ receptors

PODSUMOWANIE

Praca stanowi próbę podsumowania dotychczasowych badań prowadzonych w zakresie syntezy i zastosowania reaktywnych materiałów polimerowych do szybkiego oczyszczania produktów reakcji organicznych z niepożądanych zanieczyszczeń: nadmiaru reagentów, produktów ubocznych i/lub homogenicznych katalizatorów. Omówiono w niej podstawowe techniki oczyszczenia z udziałem reaktywnych polimerów, podano liczne przykłady ich praktycznego wykorzystania oraz przedstawiono możliwości syntezy takich polimerów. Ta stosunkowo nowa dziedzina zastosowań sfunkcjonalizowanych polimerów jest szczególnie użyteczna zarówno z punktu widzenia syntezy kombinatorycznej nowych bibliotek związków o potencjalnej aktywności biologicznej, jak i syntezy półproduktów dla przemysłu farmaceutycznego i kosmetycznego.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] B.A. Adams, E.L. Holms, *J. Soc. Chem. Ind.*, 1935, **54**, IT.
- [2] US Patent 2,466,675, 1949.
- [3] R.L. Letsinger, S.B. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 3009.
- [4] R.L. Letsinger, M.J. Kornet, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 3045.
- [5] R.L. Letsinger, M.J. Kornet, V. Mahadevan, D.M. Jerina, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 5163.
- [6] R.L. Letsinger, V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.*, 1965, **87**, 3526.
- [7] R.B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 2149.
- [8] F.Z. Dorwald, *Organic Synthesis on Solid Phase*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002.
- [9] P.H.H. Hermkens, H.C.J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron*, 1996, **52**(13), 4527.
- [10] I.W. James, *Tetrahedron*, 1999, **55**, 4855.
- [11] F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 2091.
- [12] A.R. Vaino, K.D. Janda, *J. Comb. Chem.*, 2000, **2**, 579.
- [13] R. Łażny, A. Nodzewska, *Wiad. Chem.*, 2003, **57**, 587.
- [14] R. Łażny, M. Michalak, *Wiad. Chem.*, 2003, **57**, 1061.
- [15] R. Łażny, M. Łapińska, M. Sienkiewicz, *Wiad. Chem.*, 2005, **59**, 881.
- [16] R. Łażny, A. Nodzewska, B. Żabicka, *Wiad. Chem.*, 2006, **60**, 191.
- [17] F.R. Hartley, P.N. Vezey, *Adv. Organomet. Chem.* 1977, **15**, 189.
- [18] Y. Chauvin, D. Commereuc, F. Dawans, *Prog. Polym. Sci.*, 1977, **5**, 95.
- [19] D.C. Bailey, S.H. Langer, *Chem. Rev.*, 1981, **81**, 2, 143.
- [20] M. Kaneko, E. Tsuchida, *J. Polym. Sci: Macromol. Rev.*, 1981, **16**, 397.
- [21] F.R. Hartley, *Supported metal complexes*, 1985; tłumaczenie na j. rosyjski, Moskwa, Mir 1989.
- [22] A.D. Pomagailo, *Polimernyje immobilizowanyje metalokompleksnyje katalizatory*, Nauka, Moskwa 1988.
- [23] M.R. Buchmeiser, *Polymeric Materials in Organic Synthesis and Catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
- [24] Ed. D.E. De Vos, I.F.J. Vankelecom, P. A. Jacobs, *Chiral catalyst immobilization and recycling*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
- [25] Ed. J. Tulla-Puche, F. Albericio, *The power of functional resins in organic synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, 2008.

- [26] M. Benaglia, A. Puglisi, F. Cozzi, *Chem. Rev.*, 2003, **103**(9), 3401.
- [27] Q.-H. Fan, Y.-M. Li., A.S.C. Chan, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 3385.
- [28] R. Haag, S. Roller, *Top. Curr. Chem.*, 2004, **242**, 1.
- [29] N.E. Leadbeater, M. Marco, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 3217.
- [30] C.A. McNamara, M.J. Dixon, M. Bradley, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 3275.
- [31] D.E. Bergbreiter, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 3345.
- [32] I.A. Owsik, B.N. Kolarz, *Wiad. Chem.*, 2003, **57**, 21.
- [33] Ed. W. Bannwarth, B. Hinzen, *Combinatorial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006.
- [34] S. Shuttleworth, S.M. Allin, R.D. Wilson, D. Nasturica, *Synthesis*, 1997, 1217.
- [35] D.H. Drewry, D.M. Coe, S. Poon, *Med. Res. Rev.*, 1999, 97.
- [36] J.J. Parlow, R.V. Devraj, M.S. South, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1999, **3**, 320.
- [37] S.V. Ley, I.R. Baxendale, R.N. Bream, P.S. Jacson, A.G. Leach, D. Longbottom, M. Nesi, J.S. Scott, R.I. Storer, S.J. Taylor, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2000, 3815.
- [38] G. Bhalay, A. Dunstan, A. Glen, *Synlett*, 2000, **12**, 1846.
- [39] S. Shuttleworth, S.M. Allin, R.D. Wilson, D. Nasturica, *Synthesis*, 2000, 1035.
- [40] A. Kirschning, H. Monenschein, R. Wittenberg, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 650.
- [41] D.C. Sherrington, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2001, **39**, 2364.
- [42] A. Kirschning, H. Monenschein, R. Wittenberg, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 650.
- [43] S.V. Ley, I.R. Baxendale, G. Brusotti, M. Caldarelli, A. Massi, M. Nesi, *Il Farmaco*, 2002, **57**, 321.
- [44] H. Salimi, A. Rahimi, A. Pourjavadi, *Monatsh. Chem.*, 2007, **138**, 363.
- [45] R.J. Booth, J.C. Hodges, *Acc. Chem. Res.*, 1999, **32**, 18.
- [46] J. Eames, M. Watkinson, *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, 1213.
- [47] C.Ch. Tzschucke, Ch. Markert, W. Bannwarth, S. Roller, A. Hebel, R. Haag, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 3964.
- [48] P. Hodge, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, **7**, 362.
- [49] P. Wipf, C.M. Coleman, *Drug Discovery World Winter*, 2003-2004, 62.
- [50] P. Wipf, C.M. Coleman, *Drug Discovery World Spring*, 2004, 65.
- [51] *Advanced ChemTech Handbook of Combinatorial & Solid Phase Organic Chemistry*, Katalog Advanced ChemTech 1998.
- [52] *Combinatorial Chemistry*, Katalog Sigma-Aldrich 2001-2002.
- [53] *Synthesis and purification catalog*, Katalog Argonaut 2003.
- [54] *Synthesis and purification catalog*, Katalog Biotage, 2006.
- [55] S.W. Kaldor, M.G. Siegel, J.E. Fritz, B.A. Dressman, P.J. Hahn, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**(40), 7193.
- [56] S.W. Kaldor, J.E. Fritz, J. Tang, E.R. McKinney, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1996, **6**(24), 3041.
- [57] D.L. Flynn, J.Z. Crich, R.V. Devraj, S.L. Hockerman, J.J. Parlow, M.S. South, S. Woodard, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 4874.
- [58] R.J. Booth, J.C. Hodges, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 4882.
- [59] A. Falchi, M. Taddei, *Org. Lett.*, 2000, **2**(22), 3429.
- [60] T. Arnould, A.G.M. Barrett, S.M. Cramp, R.S. Roberts, F.J. Zecri, *Org. Lett.*, 2000, **2**(17), 2663.
- [61] J.D. Moore, R.J. Byrne, P. Vedantham, D.L. Flynn, P.R. Hanson, *Org. Lett.*, 2003, **5**(23), 4241.
- [62] J.D. Moore, R.H. Herpel, J.R. Lichtsinn, D.L. Flynn, P.R. Hanson, *Org. Lett.*, 2003, **5**(2), 105.
- [63] R.H. Herpel, P. Vedantham, D.L. Flynn, P.R. Hanson, *Tetrahedron Lett.*, 2006, **47**, 6429.
- [64] S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, **95** (4), 1328.
- [65] J.T. Sparrow, *J. Org. Chem.*, 1976, **41** (8), 1350.
- [66] Mitchell A.R., Erickson B.W., Ryabtsev M.N., Hodges R.S., Merrifield R.B., *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, **98** (23), 7357.
- [67] G.E. Martin, M.B. Shambhu, S.R. Shakhshir, G.A. Digenis, *J. Org. Chem.*, 1978, **43**(24), 4571.

- [68] J.A. Tripp, F. Svec, J.M.J. Frechet, *Org. Lett.*, 2000, **2**(2), 195.
- [69] J.A. Tripp, F. Svec, J.M.J. Frechet, *J. Comb. Chem.*, 2001, **3**, 216.
- [70] Z. Wang, J. Luo, X.X. Zhu, S. Jin, M.J. Tomaszewski, *J. Comb. Chem.*, 2004, **6**, 961.
- [71] N. Galaffu, M. Bradley, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 859.
- [72] U. Schön, J. Messinger, N. Merayo, G. Juskiewicz, A. Kirschning, *Synlett*, 2003, 983.
- [73] H. Hoveyda, D.G. Hall, *Org. Lett.*, 2001, **3**(22), 3491.
- [74] P.W. Small, D.C. Sherrington, *J. Chem. Soc.*, 1989, **21**, 1589.
- [75] S.D. Alexandratos, R. Beauvais, J.R. Duke, B.S. Jorgensen, *J. Appl. Polym. Sci.*, 1998, **68**, 1911.
- [76] N.R. Cameron, D.C. Sherrington, I. Ando, H. Kurosu, *J. Mater. Chem.*, 1996, **6**(5), 719.
- [77] P. Krajnc, J.F. Brown, N.R. Cameron, *Org. Lett.*, 2002, **4**(15), 2497.
- [78] J.C. Hodges, L.S. Harikrishnan, S. Ault-Justus, *J. Comb. Chem.*, 2000, **2**, 80.
- [79] D. Fournier, S. Pascual, V. Montebault, D.M. Haddleton, L. Fontaine, *J. Comb. Chem.*, 2006, **8**, 522.
- [80] A. Chesney, P. Barnwell, D.F. Stonehouse, P.G. Steel, *Green Chemistry*, 2000, 57.
- [81] S. Dahmen, S. Bräse, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2000, **39**, 3681.
- [82] R. Łażny, A. Nodzewska, P. Kłosowski, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 121.
- [83] B.H. Lipshutz, P.A. Blomgren, *Org. Lett.*, 2001, **3**(12), 1869.
- [84] A. Cheminat, C. Benezra, M.J. Farrall, J.M.J. Fréchet, *Can. J. Chem.*, 1981, **59**, 1405.
- [85] J.J. Parlow, D.L. Flynn, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 4013.
- [86] J.J. Weidner, J.J. Parlow, D.L. Flynn, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 239.
- [87] J.J. Parlow, W. Naing, M.S. South, D.L. Flynn, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 7959.
- [88] J.J. Parlow, A.M. Deborah, S.W. Scott, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 5908.
- [89] M.G. Siegel, P.J. Hahn, B.A. Dressman, J.E. Fritz, J.R. Grunwell, S.W. Kaldor, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 3357.
- [90] G.W. Starkey, J.J. Parlow, D.L. Flynn, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, **8**, 2385.
- [91] J.J. Parlow, B.L. Case, M.S. South, *Tetrahedron*, 1999, **55**, 6785.
- [92] J. Yoshida, K. Itami, *Chem. Rev.*, 2002, **102**(10), 3693.
- [93] T.A. Keating, R.W. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 2574.
- [94] B.A. Kulkarni, A. Ganesan, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1997, **36**, 2454.
- [95] S.D. Brown, R.W. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 6331.
- [96] R.M. Lawrence, S.A. Biller, O.M. Fryszman, M.A. Poss, *Synthesis*, 1997, **5**, 553.
- [97] S.D. Brown, R.W. Armstrong, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 7076.
- [98] A.J. Shuker, M.G. Siegel, D.P. Matthews, L.O. Weigel, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 6149.
- [99] Ch. Blackburn, B. Guan, P. Fleming, K. Shiosaki, S. Tsai, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 3635.
- [100] M.W. Miller, S.F. Vice, S.W. McCombie, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 3429.
- [101] Y.-S. Liu, C. Zhao, D.R. Bergbreiter, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 3471.
- [102] M.G. Siegel, A.J. Shuker, C.A. Droste, P.J. Hahn, C.D. Jesudason, J.H. McDonald III, D.P. Matthews, C.J. Rito, A.J. Thorpe, *Molec. Div.*, 1998, **3**, 113.
- [103] B.A. Kulkarni, A. Ganesan, *Chem. Commun.*, 1998, **7**, 785.
- [104] A.M. Hay, S. Hobbs-Dewitt, A.A. MacDonald, R. Ramage, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 8721.
- [105] U.J. Nilsson, E.J.-L. Fournier, O. Hindsgaul, *Bioorg. Med. Chem.*, 1998, **6**, 1563.
- [106] S.S. Nikam, B.E. Kornberg, S.E. Ault-Justus, M.F. Rafferty, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 1121.
- [107] C.J. Welch, J. Albaneze-Walker, W.R. Leonard, M. Biba, J. DaSilva, D. Henderson, B. Laing, D.J. Mathre, S. Spencer, X. Bu, T. Wang, *Org. Process Res. Develop.*, 2005, **9**, 198.
- [108] J. Tsuji, *Palladium Reagents and Catalysts*, John Wiley&Sons, England 2004.
- [109] Y. Urawa, M. Miyazawa, N. Ozeki, K. Ogura, *Org. Process Res. Develop.*, 2003, **7**, 191.

WYKORZYSTANIE DERYWATYZACJI W ANALIZIE PRÓBEK BIOLOGICZNYCH NA ZAWARTOŚĆ AMINOTIOLI TECHNIKĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ Z DETEKcją UV-VIS

USE OF DERIVATIZATION FOR DETERMINATION OF AMINOTHIOLS IN BIOLOGICAL SAMPLES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH UV-VIS DETECTION

Rafał Głowacki

*Zakład Chemii Środowiska, Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki
ul. Pomorska 163, 90-236 Łódź
e-mail: glowar@uni.lodz.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Charakterystyka tioli biologicznie ważnych
2. Tiole jako obiekt analityczny
 - 2.1. Redukcja wiązań disiarczkowych
 - 2.2. Charakterystyka matrycy
 - 2.3. Chromatografia tioli
3. Derywatyżacja
 - 3.1. Kwas 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoesowy)
 - 3.2. 4,4'-ditiopirydyna
 - 3.3. Tetrafluoroboran 2-chloro-1-metylocholininiowy
 - 3.4. Sole halopirydyniowe
 - 3.5. 1,1'-tiokarbonylodiimidazol
 - 3.6. Chlorek dansylu

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Rafał Głowacki ukończył studia na Uniwersytecie Łódzkim w roku 1996. W tym samym roku podjął pracę w Zakładzie Chemii Środowiska Katedry Technologii Chemicznej i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskał w roku 2001, po przedstawieniu pracy na temat: „Synteza i zastosowanie tetrafluoroboranu 2-chloro-1-metylocholinowego do derywatywacji biologicznie ważnych tioli w ich analizie metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej”. Od maja 2001 roku do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta w tej samej katedrze. W latach 2002

– 2003 odbył staż podoktorski w University of Medicine and Dentistry of New Jersey (USA), związany z biochemicznymi aspektami roli homocysteiny i tiolaktonu homocysteiny w schorzeniach sercowo-naczyniowych. Jego aktualne zainteresowania naukowe dotyczą chemii i biochemii aminotioli, w tym analizy chemicznej zanieczyszczeń środowiska i monitorowania ksenobiotyków w płynach ustrojowych człowieka, z wykorzystaniem technik separacyjnych.

ABSTRACT

Thiols are chemically and biochemically very active components of the sulfur cycle of the natural environment. Low molecular-mass thiols, such as homocysteine, cysteine, cysteinylglycine and glutathione are critical cellular components that play numerous roles in metabolism and homeostasis, and are important in a variety of physiological and pathological processes [1, 2]. Plasma thiols are being investigated as potential indicators of health status and disease risk [3–8].

Because of high affinity to oxidation low-molecular-mass thiols exist in biological samples mostly as symmetrical, unsymmetrical and protein-bound disulfides. Thus, determination of total thiol content must comprise disulfide bond disruption step. A reducing agent is necessary both for the reduction of the sulfide bonds and to keep the thiol in a reduced form until start of derivatization.

Most of thiols lack the structural properties necessary for the production of signals compatible with common HPLC detectors, such as UV absorbance and fluorescence. Therefore, an analyst must resort to derivatization for signal enhancement and labile sulfhydryl group blocking if fluorescence or UV-Vis detection methods are employed. Ultraviolet detection is less specific and less sensitive than fluorescence one, nevertheless, its sensitivity is sufficient for detection and quantitation of endogenous and exogenous thiols in biological samples in physiological and pathological conditions. Moreover, equipment for HPLC-UV analysis is often a part of an existing, standard instrumentation in hospital laboratories and staff is usually well experienced in its use. All methods, except those based on electrochemical and tandem-mass spectrometry detection, depend on pre- or post-column derivatization of thiols. Useful reagents must form thiol derivatives with sufficient absorption and/or fluorescent yield to measure thiols at trace concentrations. Furthermore, the ideal reagent should show no absorption and should react rapidly and specifically with thiols to form stable products. Numerous reagents are available for the thiol derivatization. A majority of the reagents can be classified by type of the reactive moiety into three categories: activated halogen compounds, disulfides, and compounds possessing maleimide moiety, and are reviewed with some experimental details in excellent works [36–41].

Keywords: high performance liquid chromatography, derivatization, thiols, UV-Vis detection

Słowa kluczowe: wysokosprawna chromatografia cieczowa, derywatywacja, tiole, detekcja UV-Vis

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ABD-F	– 7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazolo-4-sulfonamid
ATP	– adenozynotryfosforan
BCPB	– bromek 1-benzyl-2-chloropirydyniowy
CMPI	– jodek 2-chloro-1-metylopirydyniowy
CMQT	– tetrafluoroboran 2-chloro-1-metylocholinoliowy
DTNB	– kwas 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoesowy)
DTP	– 4,4'-ditiopirydyna
FL	– spektrofluorymetria
Hcy	– homocysteina
HPCE	– wysokosprawna elektroforeza kapilarna
HPLC	– wysokosprawna chromatografia cieczowa
IPR	– odczynnik tworzący pary jonowe z analitami
RP-HPLC	– wysokosprawna chromatografia cieczowa w odwróconym układzie faz
SBD-F	– 7-fluorobenzo-2-oxa,1,3-diazolo-4-sulfonian
TCDI	– 1,1'-tiokarbonyldiimidazol
TNB	– kwas 2-nitro-5-tiobenzoesowy
TNB ²⁻	– anion kwasu 5-tio-2-nitrobenzoesowego
UV-Vis	– spektrofotometria z zakresu promieniowania ultrafioletowego i widzialnego

WSTĘP

Spośród wielu dziedzin chemii analiza instrumentalna należy do grupy najszybciej rozwijających się w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat. Jednym z powodów takiego stanu rzeczy jest niewątpliwie fakt, że współczesna chemia analityczna to nauka wielodyscyplinarna, łącząca różne dziedziny chemii, fizykę, biologię, matematykę oraz, a może przede wszystkim, różne dziedziny techniki. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC), której popularność oraz znaczenie od kilku dziesięcioleci systematycznie rośnie, jest tego dobrym przykładem. Zdecydowana większość, bo ok. 90% wszystkich analiz próbek o złożonych matrycach, jest wykonywana techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Dzieje się to głównie za sprawą szerokich możliwości, jakie stwarza ta technika, szczególnie w przypadku oznaczania śladowych ilości substancji, w skomplikowanych matrycach biologicznych. Należą do nich biologicznie ważne tiole, takie jak cysteina, homocysteina, glutation, oraz wiele innych *endo-* i *egzo-*gennych związków, zawierających w swojej strukturze funkcję tiolową –SH. Właściwości fizykochemiczne wynikające ze struktury cząsteczkowej, związane głównie z obecnością różnych grup funkcyjnych powodują, iż właśnie RP-HPLC stanowi precyzyjne narzędzie ich analizy.

1. CHARAKTERYSTYKA TIOLI BIOLOGICZNIE WAŻNYCH

Grupa tiolowa należy do szeroko rozpowszechnionych w związkach obecnych w materiale biologicznym. Związki tego typu odgrywają znaczącą rolę w systemach biologicznych, a w szczególności w wielu procesach życiowych, przebiegających w organizmach żywych. Są to zarówno związki małowcząsteczkowe, takie jak cysteina, homocysteina, glutation, kwas liponowy czy koenzym A, jak również związki wielkowcząsteczkowe, takie jak peptydy, enzymy i błony półprzepuszczalne. Wiele reakcji ważnych z biologicznego punktu widzenia, a mianowicie reakcje *redox*, przenoszenia grupy metylowej, wiązania dwutlenku węgla oraz reakcje z udziałem koenzymu A, wiąże się z obecnością grupy tiolowej (–SH).

Zaburzenia metabolizmu tych aminokwasów prowadzą do wielu groźnych chorób. Cysteina jest jednym z 20 aminokwasów tworzących strukturę białek. Ulega także wbudowywaniu w tripeptyd glutation, a ponadto jest prekursorem koenzymu A. W swej zredukowanej postaci może być jednak związkiem toksycznym, w stosunku do centralnego układu nerwowego, prowadząc do zmian neurodegeneracyjnych [1]. Zaburzenia w metabolizmie cysteiny prowadzą do cystynozy, autosomalnej recesywnej choroby spowodowanej defektem lizosomalnego transportu i cystynurii, będącej rezultatem dziedzicznych zakłóceń w transporcie aminokwasów. Odbiegające od normy stężenie cysteiny w płynach ustrojowych towarzyszy szeregowi sytuacji patologicznych, m.in. chorobom Alzheimera i Parkinsona oraz AIDS.

Glutation z kolei, jest najbardziej rozpowszechnionym niskocząsteczkowym związkami tiolowym, występującym w centralnym układzie nerwowym. Uważa się, że spośród wielu fizjologicznych funkcji tego peptydu najważniejsze i najlepiej poznane są jego zdolności redukcyjne. Glutation zredukowany usuwa wolne rodniki i tym samym chroni błony komórkowe, DNA i białka przed stresem oksydacyjnym oraz ksenobiotykami. W komórce jest natomiast niezbędny do utrzymywania grup tiolowych białek w formie zredukowanej, czyli do zachowania tiolowego potencjału redoksoowego [2].

Wiele związków tiolowych, takich jak np. homocysteina, ułatwia diagnozowanie schorzeń związanych z zaburzeniami metabolizmu oraz chorobami układu krążenia [3]. Wysoki poziom Hcy w osoczu krwi bardzo często towarzyszy różnego typu patologiom nie tylko sercowo-naczyniowym, ale także związanym z funkcjonowaniem nerek [4], rozwojem płodu [5] oraz z zaburzeniami systemu nerwowego [6]. Stan organizmu, w którym homocysteina występuje w stężeniu powyżej 15 nmol/ml osocza, określa się mianem hiperhomocysteinemii [7, 8]. Istnieje wiele hipotez dotyczących aterogennego działania homocysteiny na naczynia krwionośne. Większość z nich powołuje się na stres oksydacyjny, który prowadzi do peroksydacji lipidów, uszkodzenia błon i struktury DNA, a także proteaz, nukleaz i kinaz białkowych. Postuluje się również możliwość degeneracji białek, w wyniku posttranslacyjnej *N*-homocysteinyłacji łańcuchów bocznych lizyny tiolaktonem homocysteiny [9, 10]. Pomimo olbrzymiego postępu w dziedzinie analizy płynów ustrojowych i tkanek na zawartość homocysteiny, rola tego aminokwasu wciąż pozostaje niewyjaśniona do końca. Nadal nie jest jasne, w jakim związku przyczynowo-skutkowym ze wspomnianymi wcześniej schorzeniami pozostaje homocysteina. Nie ustalono w sposób jednoznaczny, czy jest ona przyczyną chorób, ich skutkiem, czy też po prostu biomarkerem.

Szeroka grupa związków tiolowych znalazła również zastosowanie jako leki. Do najważniejszych należy zaliczyć cysteaminę, *N*-acetylocysteinę, kaptopryl, mesnę, 2-merkaptopropionylglicynę, D-penicylloaminę oraz metimazol. Nowoczesne metody analizy ułatwiają monitorowanie stężenia tych związków w płynach ustrojowych, umożliwiając tym samym śledzenie farmakokinetyki wspomnianych leków.

2. TIOLE JAKO OBIEKT ANALITYCZNY

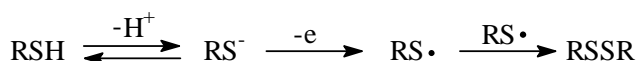
Oznaczanie związków tiolowych w próbkach biologicznych, takich jak płyny ustrojowe czy tkanki, nie należy do zadań łatwych. Jest to spowodowane kilkoma czynnikami. Najbardziej prozaicznym problemem podczas oznaczania tej grupy związków jest ich niskie stężenie w materiale biologicznym. Dodatkowy problem stanowi skomplikowana matryca. Znaczna różnorodność fizykochemiczna składników matrycy oraz ich duże, często nawet kilkaset razy wyższe od analitu stężenie, powodują, że procedura oznaczania tioli wymaga niekiedy włączenia etapu zateżnienia lub przynajmniej oczyszczania próbki. Wyjątek stanowi tutaj cysteina, której

stężenie w osoczu krwi oraz moczu sięga nawet kilkuset nmol/ml. Innym, dużym utrudnieniem podczas oznaczania ważnych z biologicznego punktu widzenia związków tiolowych są ograniczenia związane z detekcją. Dzieje się tak dlatego, że większość związków tego typu nie posiada strukturalnych właściwości, które mogłyby wytwarzać sygnały kompatybilne z najczęściej spotykanymi w laboratoriach chemicznych i klinicznych detektorami UV-Vis i FL. Absorpcja, jaką wykazują tiole, jest niewielka i mieści się w zakresie 190–210 nm. Detekcja przy tej długości fali, z analitycznego punktu widzenia, nie ma jednak większego znaczenia, z dwóch zasadniczych powodów. Po pierwsze, w próbkach biologicznych występuje wiele związków o podobnej charakterystyce absorpcji, a po drugie, większość składników faz ruchomych stosowanych w HPLC wykazuje absorpcję w tym zakresie ultrafioletu.

W celu eliminacji trudności związanych z detekcją, od szeregu lat poszukuje się detektora, który posiadałby cechy detektora uniwersalnego, a więc dostarczałby informacji na temat struktury cząsteczkowej analitów pozwalając jednocześnie na uzyskiwanie niskich granic wykrywalności i oznaczalności. Powyższe wymagania spełnia spektrometr mas, jednakże ze względu na wysoką cenę, jak dotąd, nie należy do standardowego wyposażenia chromatografów cieczowych. Równoległe, z dużym powodzeniem prowadzone są badania nad możliwościami modyfikacji analitów, które pozwoliłyby na oznaczanie przy wykorzystaniu detektorów już istniejących. W tym celu cząsteczkę analitu poddaje się reakcji chemicznej, której efektem może być zmiana układu wiązań pomiędzy atomami albo też przyłączenie nowego fragmentu do cząsteczki związku. Reakcja taka zwana jest derywatyzacją chemiczną, a jej końcowym produktem jest zmodyfikowany analit, którego właściwości fizykochemiczne zapewniają kompatybilność z aktualnie dostępną techniką analityczną. Poprawa właściwości detekcyjnych wiąże się z wprowadzeniem do cząsteczki analitu chromoforu, elektroforu lub, co ma miejsce najczęściej, fluoroforu. Brak prostych metod detekcji tioli, wynikający bezpośrednio z ich budowy chemicznej, w połączeniu z łatwością, z jaką związki te ulegają utlenianiu, powodują, że przygotowanie próbki do analizy składa się zazwyczaj z kilku etapów. Końcowa analiza chromatograficzna w pierwszej fazie poprzedzona jest redukcją wiązań disiarczkowych, a w następnej zachodzi reakcja derywatywacji chemicznej.

2.1. REDUKCJA WIĄZAŃ DISIARCZKOWYCH

Ważną i zarazem charakterystyczną cechą tioli jest ich duża reaktywność, która objawia się m.in. skłonnością do szybkiego utleniania, w wyniku czego powstają disiarczki (Schemat 1).



Schemat 1
Scheme 1

Stanowi to drugi, oprócz braku znaczącej absorpcji, poważny problem podczas oznaczania tej grupy związków w próbkach biologicznych. Wiązania disiarczkowe mogą powstawać pomiędzy dwoma tiolami małowcząsteczkowymi z wytworzeniem disiarczków symetrycznych lub mieszanych, albo też pomiędzy tiolami i grupami –SH pochodzącymi z białek, jak ma to miejsce w przypadku reszt cysteinowych albuminy osocza krwi. W rezultacie procedury oznaczania związków tiolowych zawierają zazwyczaj etap redukcji wiązań disiarczkowych. Rozerwania mostków disiarczkowych można dokonać stosując odczynniki, takie jak 2-merkapttoetanol, ditiotreitol [11, 12], borowodorek sodu [13–17], tri-*n*-butylofosfina [18, 19] oraz tris(2-karboksyetylo)fosfina [20–22]. Wybór odpowiedniego reduktora jest najczęściej uwarunkowany jego skutecznością i wygodą stosowania, ale przede wszystkim, rodzajem użytego odczynnika derywatyizującego. Stosowanie odczynników, takich jak 2-merkapttoetanol i ditiotreitol, jest niemal niemożliwe, w przypadku wykorzystania jako odczynnika derywatyizującego, wysoce reaktywnego w stosunku do grupy tiolowej, tetrafluoroboranu 2-chloro-1-metylocholinoliowego –CMQT [17, 19, 22]. Związki te, obecne w dużej ilości w próbce, reagują z CMQT powodując tym samym jego znaczny ubytek i zarazem niedobór w stosunku do analitów. Utworzone w ten sposób 2-S-chinoliniowe pochodne 2-merkapttoetanolu lub ditiotreitolu generują dodatkowe, często bardzo duże, sygnały na chromatogramie, utrudniając, a niekiedy uniemożliwiając jego interpretację. Stosowanie borowodorku sodu także wiąże się z pewnymi komplikacjami. Dotyczą one głównie trudności z utrzymaniem odpowiedniego pH środowiska reakcji derywatyizacji, po poprzedzającym ją i prowadzonym w bardzo kwaśnych warunkach etapie redukcji. Dodatkowym utrudnieniem jest także towarzyszące reakcji redukcji intensywne pienienie, będące następstwem wydzielania cząsteczkowego wodoru. Zjawisko to można nieco ograniczyć, dzięki wprowadzeniu do mieszaniny reakcyjnej *n*-oktanolu [23]. Ograniczenia związane ze stosowaniem tri-*n*-butylofosfiny dotyczą przede wszystkim jej toksyczności, ale także drażniącego i ostrego zapachu. Dodatkowo cechuje ją niska wydajność redukcji w temperaturze pokojowej. Tris(2-karboksyetylo)fosfina znajduje coraz szersze zastosowanie w redukcji wiązań disiarczkowych w próbkach biologicznych, między innymi ze względu na bardzo dobrą wydajność redukcji w temperaturze pokojowej, dobrą rozpuszczalność w roztworach wodnych oraz bezwonny charakter [20–22].

2.2. CHARAKTERYSTYKA MATRYCY

Ze względu na obecność protein, oprócz etapów redukcji wiązań disiarczkowych i derywatyizacji, analiza osocza pociąga za sobą konieczność deproteinizacji. Najczęściej zabiegu usunięcia protein dokonuje się poprzez wytrącenie białek za pomocą kwasu trichlorooctowego lub chlorowego(VII) i odwirowanie próbki. Istnieje również możliwość wykorzystania do tego celu filtrów typu *cut-off*, lecz ze względu na ich wysoką cenę i stosunkowo długi etap filtracji, nie znalazły one jak

dotąd szerszego zastosowania w procedurach oznaczania związków tiolowych w osoczu krwi czy tkankach. W próbkach biologicznych, takich jak krew i jej pochodne, czyli surowica i osocze, mamy do czynienia z dwoma rodzajami grup tiolowych. Pierwszą grupę stanowią obecne w płynach fizjologicznych tiole małowcząsteczkowe. Drugi rodzaj to grupy tiolowe, znajdujące się na powierzchni białek, m.in. pochodzące z reszt cysteinowych obecnych w albuminie. Także posttranslacyjna modyfikacja białek tiolaktonem homocysteiny prowadzi do zwiększenia ilości grup tiolowych na ich powierzchni [10, 24, 25]. W literaturze światowej większość doniesień z zakresu oznaczania tioli w próbkach biologicznych technikami separacyjnymi dotyczy osocza krwi. Zdecydowanie mniej znaną pod tym względem matrycą jest mocz. Wydaje się, że sytuacja ta mogłaby ulec zmianie, gdyby udało się znaleźć korelację pomiędzy stężeniem tioli w osoczu krwi i moczu. Ze względu na łatwą dostępność moczu, w tym nieinwazyjność metody pobierania, mógłby on stanowić dodatkowe narzędzie diagnostyczne, szczególnie w przypadku dzieci. Jak dotąd, podstawowym problemem w przypadku analizy moczu jest, zależna od wielu czynników, zmienność jego składu. Chodzi tutaj przede wszystkim o różnice w objętości moczu wydalanego w ciągu doby, a więc niestabilności stopnia jego rozcieńczenia. Problemem jest również zmienny skład moczu, wynikający głównie ze zmiennej diety. W celu ograniczenia negatywnego wpływu tych czynników, uzyskane wyniki są w niektórych przypadkach przeliczane na kreatyninę.

2.3. CHROMATOGRAFIA TIOLI

Oznaczanie tioli w próbkach biologicznych to najczęściej analiza płynów fizjologicznych, a przede wszystkim analiza moczu oraz osocza krwi. Charakterystyczne dla obydwu przypadków jest to, że mamy do czynienia ze śladowymi ilościami analitów (wyjątek stanowi cysteina) oraz bardzo skomplikowanymi matrycami. Większość procedur oznaczania tioli jest oparta o technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Jak powszechnie wiadomo, ten rodzaj chromatografii wykorzystuje niespecyficzne oddziaływania pomiędzy hydrofobowymi analitami i niepolarną fazą stacjonarną. W większości przypadków tiole biologicznie ważne, oprócz grupy tiolowej, zawierają w swojej strukturze również inne grupy łatwo ulegające jonizacji, jak chociażby grupę karboksylową czy aminową. Zwiększenia retencji tego typu związków dokonuje się najczęściej w wyniku derywatywacji chemicznej poprzez grupę tiolową [17, 18]. Oprócz zmiany właściwości fizykochemicznych analitu, reakcja ma także na celu zabezpieczenie bardzo reaktywnej grupy tiolowej przed utlenieniem. Należy podkreślić, że w przypadku niewielkich cząsteczek, takich jak cysteina czy homocysteina, o właściwościach fizykochemicznych pochodnej decyduje w głównej mierze hydrofobowy fragment, pochodzący od odczynnika derywatydującego. Uzupełnieniem może być zastosowanie w fazie ruchomej roztworów buforowych. Ich podstawowym zadaniem jest, w tym przypadku, zagwarantowanie takich warunków pH, w których analit zwiąk-

sza swoją hydrofobowość. Jest to możliwe dzięki cofnięciu dysocjacji grupy karboksylowej albo zniwelowaniu protonowania grupy aminowej. Zanik ładunku oznacza zwiększenie hydrofobowości cząsteczki, natomiast jego pojawienie umożliwia zmianę retencji pochodnej poprzez zastosowanie odpowiedniego odczynnika tworzącego pary jonowe z analitem (IPR). Dodanie do fazy ruchomej takiego odczynnika umożliwia tworzenie jego kompleksów z analitami, a utworzone w ten sposób agregaty wykazują dużo większe powinowactwo do fazy stacjonarnej aniżeli sam analit. W strukturze chemicznej cząsteczki IPR można wyróżnić dwa charakterystyczne elementy. Pierwszy, niepolarny, odpowiedzialny za oddziaływanie z fazą stacjonarną oraz drugi, polarny, umożliwiający interakcje z fragmentem polarnym cząsteczki analitu. Przykładami oddającymi w pełni charakter odczynnika tworzącego pary jonowe są np. kation tetrabutylamoniowy, anion kwasu oktylosulfonowego, lub anion kwasu trichlorooctowego. Stosowanie jako IPR bardzo hydrofobowego kwasu oktylosulfonowego bywa jednak dość uciążliwe, przede wszystkim ze względu na długi etap kondycjonowania kolumny chromatograficznej oraz trudności związane z jego dokładnym wymyciem po zakończeniu analiz. Niedogodności te można wyeliminować, stosując zamiast oktylosulfonianu kwas trichlorooctowy, który oprócz funkcji odczynnika tworzącego pary jonowe z analitami, może pełnić w fazie ruchomej rolę czynnika buforującego [17–19, 22, 23]. Najczęściej jednak procedury oznaczania związków tiolowych w próbkach biologicznych wykorzystują wszystkie trzy wspomniane tutaj sposoby zwiększania retencji analitów, a mianowicie derywatyzację, supresję jonową oraz wprowadzenie IPR do fazy ruchomej.

3. DERYWATYZACJA

Większość aminokwasów, w tym także biologicznie ważne aminokwasy tiolowe, nie posiada strukturalnych właściwości, które umożliwiłyby ich oznaczanie przy użyciu najbardziej rozpowszechnionych w laboratoriach detektorów, a więc konieczny jest zabieg derywatywacji chemicznej. Wyjątek stanowią fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan i histydyna, które absorbują promieniowanie UV w zakresie 250–280 nm, ale nie posiadają w swojej strukturze grupy tiolowej [26, 27]. W przypadku tioli, derywatywacja oznacza także zabezpieczenie bardzo reaktywnej grupy tiolowej przed niepożądanymi reakcjami zarówno w czasie oczekiwania na analizę, jak i w czasie samej analizy. Najczęściej chodzi o reakcje utleniania prowadzące do powstania disiarczków. Przeprowadzona bezpośrednio po etapie redukcji, reakcja derywatywacji powinna spełniać w tym przypadku kilka funkcji równocześnie:

- produkt derywatywacji powinien wykazywać dużą trwałość;
- właściwości detekcyjne pochodnej powinny być lepsze niż samego analitu;
- właściwości chromatograficzne pochodnej powinny ulec polepszeniu, w stosunku do niezmodyfikowanego analitu.

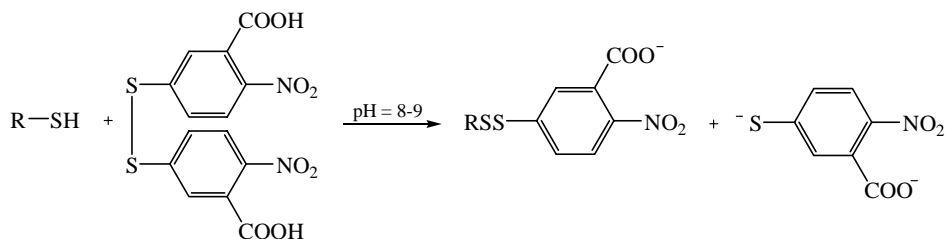
Odczynniki stosowane w HPLC do derywatywacji tioli można podzielić na kilka grup, uwzględniając dwa kryteria: właściwości spektroskopowe otrzymanych pochodnych oraz budowę chemiczną samego odczynnika. Pierwszą grupę stanowią związki, które w wyniku reakcji z funkcją tiolową analitu tworzą pochodne, które mogą być oznaczane z wykorzystaniem detekcji UV-Vis lub związki tworzące pochodne fluorujące. Uwzględnienie budowy chemicznej odczynników derywatyzujących pozwala natomiast na dokonanie podziału wg klas związków. Możemy zatem wyróżnić związki zawierające aktywny halogen, dialdehydy, disiarczki, enony, maleimidy oraz aziridyny i chinony. W zależności od tego, czy modyfikacja chemiczna analitu jest prowadzona przed etapem rozdzielania na kolumnie chromatograficznej, czy też bezpośrednio po nim, możemy mówić o derywatywacji przedkolumnowej lub pokolumnowej. Pierwszy sposób należy do najczęściej stosowanych podczas analizy chromatograficznej próbek biologicznych, w celu oznaczania w nich związków tiolowych. Decyduje o tym kilka czynników. Po pierwsze, reakcja modyfikacji analitu może w tym przypadku trwać nawet kilkanaście minut. Pozwala to na wykorzystanie dość szerokiej gamy związków chemicznych, jako selektywnych w stosunku do tioli odczynników derywatyzujących. Po drugie, podczas analiz wykorzystuje się dokładnie taką samą aparaturę, jak w przypadku analiz niewymagających derywatywacji chemicznej. Z kolei, w przypadku modyfikacji pokolumnowej koniecznym jest, aby reakcja derywatywacji przebiegała z dużą szybkością. Czas trwania reakcji wynosi nie więcej niż czas niezbędny do pokonania przez analit drogi od kolumny chromatograficznej do detektora. Kolejnym utrudnieniem jest potrzeba stosowania dodatkowej pompy, która umożliwi precyzyjne podawanie roztworu odczynnika derywatyzującego bezpośrednio do strumienia eluatu, czyli tuż za kolumnę chromatograficzną. W praktyce oznacza to konieczność wykorzystania trójnika umożliwiającego mieszanie roztworów eluatu i odczynnika derywatyzującego. W większości przypadków do derywatywacji biologicznie ważnych tioli w próbkach rzeczywistych, podczas ich analizy techniką HPLC, stosuje się odczynniki, które pozwalają na utworzenie pochodnych wykazujących fluorescencję [28–35]. Efektem tego jest możliwość uzyskania niższych granic oznaczalności i wykrywalności, niż ma to miejsce w przypadku stosowania detektora UV-Vis. Niestety, wadą wielu bardzo popularnych odczynników derywatyzujących tiole jest ich niezadowalająca reaktywność, objawiająca się między innymi małą szybkością reakcji i jej niską wydajnością albo brakiem selektywności. Pociąga to za sobą konieczność prowadzenia czasochłonnej reakcji, bardzo często w podwyższonej temperaturze. Przykładem może być tutaj zastosowanie halogenosulfonylobenzofurazanów (SBD-F, ABD-F) [28–32], gdzie reakcja derywatywacji przebiega w ciągu 1 godziny, w temperaturze 60°C. Bardzo często uzyskany podczas analizy próbki, poddanej wcześniej zabiegowi derywatywacji, obraz chromatograficzny jest dość skomplikowany. W głównej mierze przyczyną tego jest duża liczba pików pochodzących od produktów ubocznych reakcji oraz produktów rozkładu odczynnika derywatyzującego. Tego rodzaju problemy często towarzyszą analizom z wykorzystaniem, tworzących fluorujące pochodne,

monobromobimananów [33–35]. W literaturze anglojęzycznej można znaleźć kilka przeglądowych opracowań, które w dość szczegółowy sposób przedstawiają postęp w dziedzinie derywatywacji chemicznej, jaki miał miejsce w ciągu ostatnich kilkunastu lat [36–41].

W dalszej części niniejszego opracowania przedstawione zostaną wybrane procedury oznaczania tioli w próbkach biologicznych, w których wykorzystano najczęściej stosowane ostatnio odczynniki derywatyzujące, tworzące pochodne absorbujące promieniowanie UV-Vis.

3.1. KWAS 5,5'-DITIO-BIS(2-NITROBENZOESOWY)

Jednym z najlepiej poznanych i najczęściej wykorzystywanych do oznaczania grup tiolowych odczynników derywatyzujących jest niewątpliwie kwas 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoowy) (DTNB). Po raz pierwszy do literatury odczynnik ten został wprowadzony w roku 1959 przez George'a Ellmana [42]. W następnych latach szeroko stosowano go do oznaczania tioli małych cząsteczkowych oraz w aplikacjach wymagających określenia całkowitego stężenia grup –SH, np. w białkach [43–46]. Równanie reakcji tioli z DTNB przedstawiono na Schemacie 2.



Schemat 2
Scheme 2

DTNB jest odczynnikiem derywatyzującym zaliczanym do grupy disiarczków, a istota jego reakcji z tiolami polega na prostej reakcji wymiany tiol–disiarczek. Powstałe produkty reakcji różnią się znacząco widmami absorpcyjnymi. I tak, pochodna tiolowa (TNB-Tiol) wykazuje maksimum absorpcji przy długości fali ok. 330 nm, natomiast dla powstałego anionu (TNB²⁻) maksimum pochłaniania przypada na 412 nm. Należy zauważyć, że liczba powstałych różnych pochodnych TNB-Tiol będzie dokładnie taka sama, jak liczba obecnych w mieszaninie reakcyjnej tioli. Stężenie anionu TNB²⁻ będzie natomiast zależne od sumy stężeń wszystkich związków reagujących z DTNB. Pomiar stężenia tioli przy długości fali równej 412 nm jest zatem pomiarem pośrednim, ale pozwala na szybkie oznaczanie całej puli grup tiolowych obecnych w próbce, i to dzięki zastosowaniu zwykłego spektrofotometru [47]. Molowy współczynnik absorpcji dla tej długości fali wynosi

14150 l/mol \times cm. Ten rodzaj spektrofotometrycznego oznaczania sumy tioli ma jednak pewne ograniczenia. Dotyczą one głównie próbek biologicznych, takich jak moczu, osocze krwi oraz hodowle komórkowe. Okazuje się bowiem, że wiele składników matrycy wykazuje absorpcję w zakresie pokrywającym 412 nm. Stąd możliwość łatwego zafalszowania wyników, na skutek większej od rzeczywistej i nieproporcjonalnej do stężenia grup tiolowych absorpcji promieniowania UV-Vis [48]. W przeciwieństwie do pomiaru stężenia sumy grup tiolowych określenie stężenia obecnych w próbce poszczególnych pochodnych wymaga zastosowania techniki separacyjnej, np. HPLC.

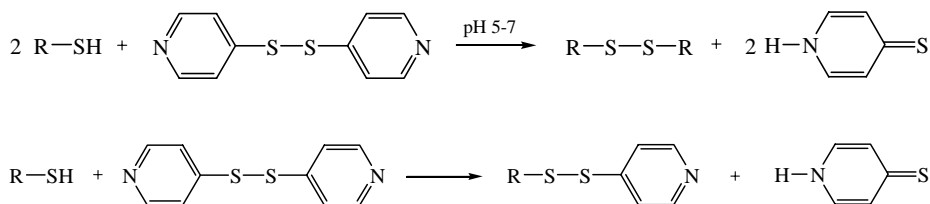
Riener i in. opisali spektrofotometryczną metodę oznaczania sumy grup tiolowych w białkach, wykorzystując do tego celu odczynnik Ellmana [45]. Nowością, w porównaniu do metod opisywanych wcześniej, w tym chromatograficznych, było zastosowanie dodatkowego odczynnika, który pełnił rolę swoistego mediatora pomiędzy białkiem i DTNB. Przyczyną były trudności związane z uzyskiwaniem powtarzalnych wyników znane wszystkim badaczom stosującym odczynnik Ellmana, będące następstwem niekompletnej reakcji DTNB z grupami tiolowymi białka. Główną przyczynę stanowiły utrudnienia steryczne i elektrosteryczne, ograniczające swobodny dostęp reagenta do białkowych grup tiolowych. Wprowadzona do mieszaniny reakcyjnej w roli mediatora, będąca disiarczkiem, cystamina ulega reakcji z grupami tiolowymi białka, uwalniając jednocześnie ekwiwalent cysteaminy. Ta z kolei, jako tiol, ulega klasycznej reakcji z DTNB uwalniając absorbujący przy 412 nm anion TNB^{2-} . Pomiar absorpcji przy tej długości fali umożliwia oznaczenie całkowitego stężenia grup tiolowych w próbce.

Katrusiak i in. opisali chromatograficzną metodę oznaczania cysteiny, homocysteiny, cysteinyloglicyny i glutationu w osoczu krwi oraz ekstraktach komórkowych [49]. Jako odczynnika derywatyzującego użyto kwasu 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzoesowego) (DTNB), natomiast do redukcji wiązań disiarczkowych wykorzystano ditiotreitól. Jako analityczną długość fali przyjęto 330 nm. Kalibrację metody wykonano w różnym zakresie stężeń, w zależności od rodzaju analitu. Dla cysteiny zakres ten wynosił 2–750 $\mu\text{mol/l}$, natomiast dla homocysteiny, cysteinyloglicyny i glutationu liniowość metody zbadano w zakresie 0,5–80 $\mu\text{mol/l}$. Opracowaną metodę zastosowano do oznaczania tioli w próbkach osocza osób zdrowych oraz ludzi poddawanych hemodializie.

W roku 2004 Zhloba i in. zastosowali DTNB do oznaczania homocysteiny całkowitej i glutationu w osoczu krwi człowieka [50]. Także w tym przypadku, do redukcji wiązań disiarczkowych użyto ditiotreitolu, a produkty reakcji derywatywacji rozdzielano techniką RP-HPLC, monitorując ich obecność przy 330 nm. Zakres liniowości metody dla homocysteiny mieścił się w przedziale 0,1–100 $\mu\text{mol/l}$, natomiast dla glutationu 0,1–200 $\mu\text{mol/l}$.

3.2. 4,4'-DITIOPIRYDYNA

Innym związkiem z grupy disiarczków, który znalazł zastosowanie podczas derywatywacji tioli, jest 4,4'-ditiopirydyna (DTP). Mechanizm reakcji DTP z tiolami jest podobny, jak w przypadku odczynnika Ellmana. Mamy tutaj, bowiem do czynienia z reakcją wymiany tiol–disiarczek (Schemat 3).



Schemat 3
Scheme 3

Reakcja przebiega dwuetapowo. W końcowym etapie powstaje tiopirydon, w ilości proporcjonalnej do stężenia obecnych w próbce grup tiolowych. Jego maksimum absorpcji przypada na ok. 324 nm, a molowy współczynnik absorpcji wynosi 21400 l/mol × cm. Charakter reakcji pozwala zatem na wykorzystanie DTP do procedur oznaczania grup tiolowych w białkach oraz sumy stężenia wszystkich tioli w badanej próbce. W przeciwieństwie do DTNB, 4,4'-ditiopirydyna ulega reakcji z tiolami w środowisku kwaśnym, co jest bezpośrednią konsekwencją jej budowy chemicznej. W niskim pH następuje protonowanie atomu azotu w pierścieniu pirydynowym, co powoduje znaczne zwiększenie reaktywności DTP w stosunku do tioli. Wzrost ten jest na tyle duży, że rekompensuje spadek reaktywności anionu tiolanowego, na skutek cofania dysocjacji grupy tiolowej.

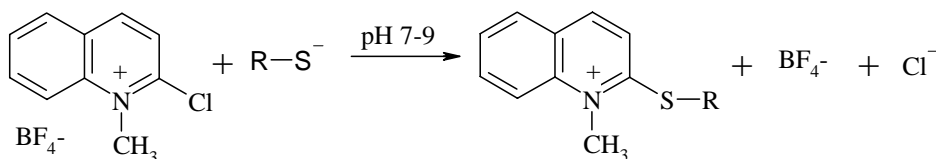
W roku 2002 Riener i in. dokonali porównania DTNB i DTP podczas oznaczania grup tiolowych w białkach [45]. Potwierdzili oni tezę o trudnościach związanych z niepełną derywatyzacją podczas reakcji z odczynnikiem Ellmana i koniecznością stosowania mediatora w postaci cystaminy. Jednocześnie wskazali na zalety wynikające ze zastosowania DTP.

Hansen i in. opracowali metodę oznaczania proteinowych grup tiolowych oraz cysteiny związanej z proteinami, wykorzystując jako odczynnik derywatyżujący 4,4'-ditiopirydynę [51]. Do redukcji wiązań disiarczkowych wykorzystano borowodorek sodu, a separacji powstałego w wyniku reakcji tiopirydonu od pozostałych składników dokonano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz. Kalibracja obejmowała zakres od 0,55 nmol/ml do 33,5 nmol/ml, natomiast granica wykrywalności metody wynosiła 0,25 nmol/ml. Na kolumnę nanoszono po 20 μl końcowego analitycznego roztworu. Analityczna długość fali wynosiła 324 nm. Zaletą stosowanej procedury, w stosunku do opisywanych wcześniej i wykorzystujących DTNB, jest możliwość prowadzenia reakcji w środowisku kwaśnym, bezpośrednio po etapie redukcji borowodorkiem sodu. Reakcja przebiega

w temperaturze pokojowej, w ciągu 30 min. Autorzy podkreślają, że duża powtarzalność metody jest spowodowana właściwościami fizykochemicznymi DTP, w tym wielkością cząsteczki i jej hydrofobowością, co ułatwia jego dostęp do grup tiolowych obecnych w białkach.

3.3. TETRAFLUOROBORAN 2-CHLORO-1-METYLOCHINOLINIOWY

Konkurencyjnym w stosunku do odczynników tworzących pochodne fluoryzujące, może być tetrafluoroboran 2-chloro-1-metylocholinolinyowy (CMQT) [52]. Należy on do grupy odczynników posiadających aktywny halogen. Wytworzone z jego udziałem 2-S-chinoliniowe pochodne wykazują molowy współczynnik absorpcji około $20000 \text{ l/mol} \times \text{cm}$, co pozwala na uzyskiwanie granic oznaczalności, w przypadku metod chromatograficznych, na poziomie kilkudziesięciu pmol/ml osocza [19, 23, 53–56]. Utworzona pochodna to stabilny tioeter, powstały w wyniku nukleofilowego ataku anionu tianowego na pozycję 2 pierścienia chinolinowego (Schemat 4).



Schemat 4

Scheme 4

Podczas reakcji obecny w pierścieniu atom chloru zostaje podstawiony atomem siarki, dzięki czemu następuje istotna zmiana właściwości fizykochemicznych zarówno samego tiolu, jak i pierścienia aromatycznego. Utworzona pochodna wykazuje dobrze wykształcone maksimum absorpcji przy długości fali ok. 350 nm. Jest ono przesunięte o około 25 nm w kierunku fal dłuższych, w stosunku do samego odczynnika derywatyzującego, którego maksimum absorpcji przypada na 328 nm. Zaistniałe zjawisko przesunięcia batochromowego jest bardzo korzystne z analitycznego punktu widzenia. Stosowane podczas derywatywacji bardzo rozcieńczonych próbek duże nadmiary odczynnika derywatyzującego, mogą utrudniać interpretację chromatogramu, na skutek obecności dużego sygnału analitycznego, pochodzącego właśnie od niewykorzystanego w reakcji odczynnika. Rejestrowanie chromatogramu przy długości fali większej niż maksimum absorpcji odczynnika powoduje, że powyższy problem praktycznie nie istnieje. Oprócz dużej selektywności w stosunku do tioli, istotną zaletą CMQT jest również możliwość stosowania bardzo łagodnych warunków reakcji. W przypadku próbek standardów wodnych, czas reakcji CMQT z tiolami, w temperaturze pokojowej, w pH 7–8, nie przekracza jednej minuty, a w przypadku próbek biologicznych, wynosi ok. 3–4 minuty. Powstałe

tiolowe pochodne wykazują bardzo dużą trwałość, także w temperaturze pokojowej, co stwarza możliwość kolekcjonowania próbek, w celu ich późniejszej analizy. Powyższe właściwości powodują, że CMQT może stanowić alternatywę dla odczynników stosowanych dotychczas w automatycznych procedurach oznaczania związków tiolowych w próbkach biologicznych [55]. Jak dotąd, CMQT wykorzystano do derywatacji tioli w próbkach biologicznych, takich jak osocze krwi, moczu oraz ślina.

W roku 2004 Bald i in. zaproponowali metodę oznaczania czterech metabolicznie spokrewnionych tioli w osoczu krwi człowieka [23]. Procedura analityczna składała się z kilku etapów, które obejmowały redukcję wiązań disiarczkowych z wykorzystaniem borowodoru sodu, derywatację chemiczną tetrafluoroboranem 2-chloro-1-metylocholinolinyowym, deproteinizację przy użyciu kwasu chlorowego(VII) i końcową analizę chromatograficzną z detekcją UV. Analityczna długość fali wynosiła 355 nm. Ze względu na dość duże różnice w czasach retencji poszczególnych 2-S-chinolinolinyowych pochodnych, podczas analiz wykorzystano dwa standardy wewnętrzne, kwasy 2 i 3-merkaptopropionowe. Metodę zastosowano do oznaczania stężenia różnych form tioli w osoczu krwi. Uzyskane wyniki zawartości poszczególnych tioli, w tym ich form zredukowanych, całkowitych, wolnych i związanych z proteinami, posłużyły do wyznaczenia tiolowego statusu *redox* w osoczu krwi człowieka. Dla tioli całkowitych zakresy liniowości metody wynosiły 7–300 nmol/ml dla cysteiny, 1–50 nmol/ml dla cysteinyloglicyny, 0,5–40 nmol/ml dla glutationu i 0,5–50 nmol/ml osocza dla homocysteiny. Odpowiednie zakresy dla form zredukowanych wynosiły 0,5–10 nmol/ml dla cysteiny i cysteinyloglicyny, 0,3–5 nmol/ml dla glutationu i 0,2–2 nmol/ml osocza dla homocysteiny. Granice oznaczalności dla poszczególnych tioli pokrywały się z najniższymi stężeniami na odpowiednich prostych kalibracyjnych.

Wykorzystując CMQT, Kuśmirek i in. opracowali chromatograficzną metodę oznaczania cysteaminy w osoczu krwi człowieka [56]. Redukcji wiązań disiarczkowych, występujących w osoczu krwi, dokonano przy użyciu borowodoru sodu. Uzyskane w ten sposób tiole zredukowane poddano reakcji z tetrafluoroboranem 2-chloro-1-metylocholinolinyowym, w środowisku buforu fosforanowego o pH 7,6. Powstałe 2-S-chinolinolinyowe pochodne tioli rozdzielano techniką HPLC w odwróconym układzie faz, stosując 355 nm, jako analityczną długość fali. Kalibracja metody obejmowała zakres od 0,1 do 40 nmol/ml osocza, a granica wykrywalności dla cysteaminy wynosiła 0,1 nmol/ml osocza. Opisana metoda pozwala na oznaczanie obok siebie cysteaminy oraz czterech metabolicznie spokrewnionych aminotioli, cysteiny, cysteinyloglicyny, glutationu i homocysteiny.

Bald i Głowacki zastosowali CMQT podczas opracowywania procedury oznaczania, w ślinie człowieka [57] glutationu i metabolicznie spokrewnionych z nim aminotioli. Redukcji wiązań disiarczkowych dokonano przy wykorzystaniu tri-*n*-butylofosfiny (TBP), inkubując mieszninę reakcyjną w ciągu 30 min, w temperaturze 60°C. Powstałe po derywatacji z CMQT, 2-S-chinolinolinyowe pochodne rozdzie-

lano techniką HPLC w odwróconym układzie faz, stosując elucję gradientową. Podobnie jak w przypadku osocza krwi, analityczną długość fali ustalono na 355 nm. Kalibrację wykonano w zakresie 0,5–100 nmol/ml śliny dla cysteiny oraz 0,5–30 nmol/ml śliny dla pozostałych tioli, czyli glutationu, cysteiny i cysteinyloglicyny. Dla wszystkich badanych aminotiooli dolna granica oznaczalności wynosiła 0,5 nmol/ml. Opracowaną procedurę zastosowano do analizy próbek śliny pochodzących od ośmiu dawców.

CMQT wykorzystano również w chromatograficznych procedurach oznaczania mesny w osoczu krwi i moczu człowieka [58, 59]. W przypadku analizy osocza, do rozdzielania 2-S-chinoliniowych pochodnych zastosowano elucję izokratyczną w odwróconym układzie faz. Kalibracja metody obejmowała zakres od 0,16 do 30 nmol/ml osocza, a granica oznaczalności wynosiła 0,16 nmol/ml. Głowacki i in. opisali procedurę oznaczania formy zredukowanej i całkowitej mesny w moczu człowieka [58]. W celu oznaczenia mesny całkowitej, dokonano redukcji wiązań disiarczkowych za pomocą tri-*n*-butylofosfiny. W obydwu przypadkach 2-S-chinoliniowe pochodne tioli rozdzielano w odwróconym układzie faz, a detekcji dokonano przy analitycznej długości fali 350 nm. Krzywą kalibracyjną wykreślono w zakresie stężeń 0,2–800 nmol/ml osocza. Najniższe stężenie na prostej kalibracyjnej stanowiło dolną granicę oznaczalności.

Podobnie jak w przypadku osocza krwi, także w przypadku analizy moczu, końcowa separacja chromatograficzna cysteiny, cysteinyloglicyny i homocysteiny jest poprzedzona etapami redukcji i derywatyzacji. Kuśmierek i in. opisali metodę oznaczania tych tioli w moczu człowieka, wykorzystując do redukcji wiązań disiarczkowych borowodorek sodu, a CMQT do derywatyzacji wolnych tioli [17]. Zakres liniowości metody dla cysteiny wynosił 50–500 nmol/ml, dla cysteinyloglicyny 2,5–25 nmol/ml i 2–14 nmo/ml dla homocysteiny. Granica oznaczalności metody wynosiła 0,12 nmol/ml dla cysteiny i cysteinyloglicyny oraz 0,25 nmol/ml dla homocysteiny. Metodę zastosowano do analizy 91 próbek moczu człowieka. W roku 2008, w podobny sposób oznaczono zawartość zredukowanych i utlenionych form cysteiny i cysteinyloglicyny, co pozwoliło na wyznaczenie statusu *redox* tych tioli w moczu [60].

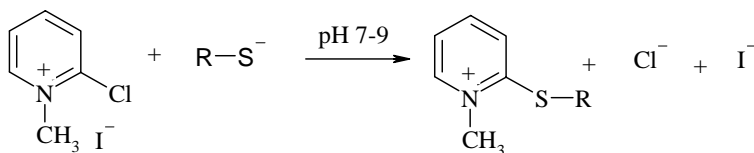
Wykorzystując CMQT opracowano również szereg metod oznaczania leków tiolowych w moczu człowieka, w tym cysteaminy, *N*-acetylocysteiny, kaptoprylu, 2-merkaptopropionyloglicyny, D-penicylaminy i metimazolu [22, 53, 54, 61, 62]. We wszystkich przypadkach procedura analityczna składała się z etapu redukcji, derywatyzacji oraz końcowej analizy chromatograficznej z detekcją UV.

Modyfikacja tioli przy wykorzystaniu CMQT powoduje wyraźną zmianę ich właściwości fizykochemicznych. Pierwszą i najważniejszą jest wprowadzenie chromoforu i zablokowanie grupy tiolowej, drugą zaś zwiększenie hydrofobowości cząsteczki. Wzrost hydrofobowości jest na tyle duży, że umożliwia rozdzielanie 2-S-chinoliniowych pochodnych tioli techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz. Obecność posiadającego ładunek dodatni czwar-

torzędowego atomu azotu w pierścieniu oraz grup aminowej i karboksylowej aminotiolu powoduje że całkowity ładunek powstałej pochodnej tiolowej, w zależności od pH, wynosi 0, +1 lub +2. W środowisku kwaśnym, w przypadku gdy w cząsteczce aminotiolu występuje jedna grupa aminowa i jedna karboksylowa, oprócz ładunku na czwartorzędowym atomie azotu w pierścieniu, pojawia się drugi ładunek dodatni na skutek protonowania grupy aminowej. W przypadku kiedy pochodna znajduje się w środowisku alkalicznym, zdysocjowana grupa karboksylowa niweluje dodatni ładunek pierścienia, w wyniku czego całkowity ładunek pochodnej wynosi 0. Ta unikalna właściwość umożliwia rozdzielanie powstałych 2-S-chinolinowych pochodnych, przy wykorzystaniu wysokosprawnej elektroforezy kapilarnej (HPCE) [63, 64].

3.4. SOLE HALOPYRIDYNIOWE

Sole halopirydyniowe, podobnie jak CMQT, należą do grupy odczynników derywatyżujących, zawierających tzw. aktywny halogen. Mechanizm reakcji jest analogiczny i polega na podstawieniu nukleofilowym atomem chloru w pierścieniu aromaticznym, atomem siarki z grupy tiolowej. Na Schemacie 5 przedstawiono reakcję tioli z jodkiem 2-chloro-1-metylopirydyniowym.



Schemat 5
Scheme 5

W konsekwencji powstaje stabilny tioeter z dobrze wykształconym maksimum absorpcji przy długości fali 314 nm. W porównaniu z CMQT, sole halopirydyniowe wykazują mniejszą reaktywność w stosunku do tioli. Wymaga to zastosowania dłuższego czasu reakcji (około 15 min) podczas derywatyżacji roztworów wodnych, w pH 7–8,5. Także obraz chromatograficzny próbek osocza krwi i moczu, zawierających 2-S-pirydyniowe pochodne tioli, w większości przypadków jest bardziej skomplikowany, co uniemożliwia osiągnięcie porównywalnych z CMQT granic oznaczalności. Odpowiedzialnym za to jest także znacznie niższy od CMQT molowy współczynnik absorpcji 2-S-pirydyniowych pochodnych, który wynosi ok. 10000 l/mol × cm.

Bromek 1-benzyl-2-chloropirydyniowy (BCPB) wykorzystano w procedurze opisującej oznaczanie kaptoprylu we krwi i moczu człowieka [65]. Do uwolnienia związanych z proteinami cząsteczek kaptoprylu użyto trifenylofosfiny. Reakcja przebiegała w ciągu 40 min, w temperaturze 50°C. Reakcja derywatyżacji była prowadzona w temperaturze pokojowej, w ciągu 15 min. Uzyskane 2-S-pirydyniowe

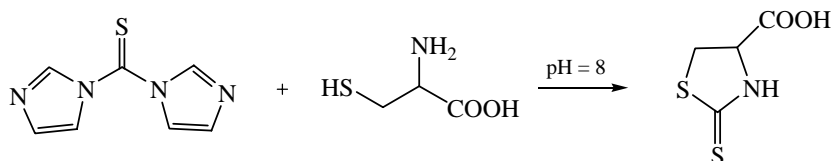
poходne rozdzielano w odwróconym układzie faz, z detekcją UV-Vis, przy analitycznej długości fali 314 nm. Zakresy liniowości metody dla kaptoprylu zredukowanego wynosiły 10–500 ng/ml w przypadku krwi, i 50–1200 ng/ml w przypadku moczu. Analogiczne zakresy dla kaptoprylu utlenionego wynosiły odpowiednio 10–100 ng/ml i 50–3000 ng/ml. Granice oznaczalności metody wynosiły 0,3 ng/ml dla krwi i 10 ng/ml dla moczu.

Jodek 2-chloro-1-metylopirydyniowy (CMPI) wykorzystano do derywatywacji cysteiny i homocysteiny podczas ich oznaczania w moczu techniką HPLC-RP z detekcją UV-Vis [18]. Etap derywatywacji był poprzedzony redukcją wiązań disiarczkowych, przy wykorzystaniu tri-*n*-butylofosfiny. Krzywe kalibracyjne sporządzono dla zakresów 20–200 nmol/ml dla cysteiny, i 5–150 nmol/ml dla homocysteiny. Granica oznaczalności metody dla obydwu analitów wynosiła 0,2 nmol/ml. Metodę zastosowano do analizy próbek 14 dawców.

3.5. 1,1'-TIOKARBONYLODIIMIDAZOL

Amarnath i in. opracowali i opisać procedurę oznaczania cysteiny i metabolicznie spokrewnionych aminotiole w próbkach biologicznych, wykorzystując do derywatywacji 1,1'-tiokarbonylodiimidazol (TCDI) [20].

W reakcji biorą udział zarówno grupa tiolowa, jak i aminowa cząsteczki aminotiole, a produktem reakcji jest cykliczny ditiokarbaminian, wykazujący absorpcję promieniowania UV w zakresie 250–300 nm. Równanie reakcji TCDI z cysteiną przedstawiono na Schemacie 6.

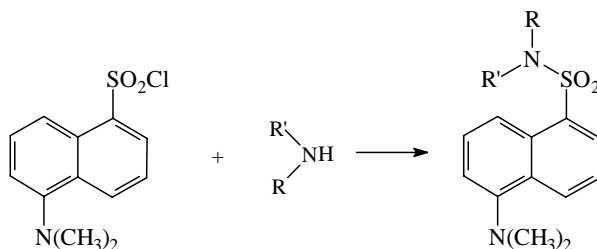


Schemat 6
Scheme 6

Reakcja cyklizacji przebiega w temperaturze 37°C, w ciągu 20 min. Nadmiar TCDI jest hydrolizowany do imidazolu, który nie wykazuje znaczącej absorpcji promieniowania powyżej 240 nm. Wykonane proste kalibracyjne wykazywały charakter liniowy w przedziale od 80–230 nmol/ml, dla cysteiny, 2,5–10 nmol/ml dla homocysteiny i 12–50 nmol/ml dla cysteinyloglicyny. Dla wszystkich badanych związków granica oznaczalności była zbliżona i wynosiła ok. 0,4 nmol/ml, dla 50 µl roztworu nanoszonego na kolumnę chromatograficzną.

3.6. CHLOREK DANSYLU

Chlorek dansylu (chlorek 5-(dimetyloamino)naftaleno-1-sulfonylu) został wykorzystany przez Wanga i in. do oznaczania cystyny w moczu, z zastosowaniem RP-HPLC i detekcji spektrofotometrycznej [66]. Reakcja pomiędzy cystyną i odczynnikiem derywatyzującym zachodzi z wykorzystaniem grupy aminowej analitu (Schemat 7). Powstała pochodna wykazuje maksimum absorpcji przy 286 nm.



Schemat 7
Scheme 7

Niewątpliwą wadą zaproponowanej procedury jest czasochłonny i skomplikowany etap przygotowania próbki do analizy. Reakcja pomiędzy odczynnikiem derywatyzującym i analitem wymaga ogrzewania w temperaturze 80°C, w ciągu 30 min, co stanowi istotne ograniczenie podczas analizy dużej liczby próbek. Potencjalnego użytkownika prezentowanej metody może także zniechęcać dość długi czas końcowej analizy chromatograficznej, który wynosi 30 min. Zakres liniowości metody mieści się w przedziale 1–500 mg/l, a granica oznaczalności wynosi 1 mg/l. Zaletą metody jest natomiast możliwość jednoczesnego oznaczania w próbce zarówno cystyny, jak i jej formy zredukowanej – cysteiny. Wymaga to jednak zablokowania grupy tiolowej cysteiny za pomocą kwasu jodooctowego.

PODSUMOWANIE

Ze względu na dużą reaktywność, oznaczanie związków tiolowych w próbkach biologicznych nie należy do zadań łatwych. Dużym utrudnieniem jest także brak znaczącej absorpcji tioli w zakresie promieniowania UV-Vis, uniemożliwiający ich bezpośrednią detekcję. Oznaczanie tioli biologicznie ważnych, zarówno *endo-* jak i *egzogennych*, dotyczy zazwyczaj analizy osocza krwi oraz moczu. W obydwu przypadkach mamy do czynienia ze skomplikowanymi matrycami, które dodatkowo mogą utrudniać ich oznaczanie. Istnieje szereg technik, które pozwalają na oznaczanie związków tiolowych, jednak techniki separacyjne, takie jak HPLC i HPCE, znalazły w tej dziedzinie najszersze zastosowanie. Sprzężenie z najbardziej popularnymi rodzajami detekcji, a mianowicie detekcją spektrofotometryczną i spektrofluory-

metryczną, umożliwiło opracowanie szeregu precyzyjnych i dokładnych metod oznaczenia tioli w próbkach biologicznych. Stosowanie tego rodzaju detekcji pociąga za sobą konieczność derywatywacji analitów, najczęściej z wytworzeniem pochodnych fluoryzujących lub absorbujących promieniowanie UV-Vis. Detekcja fluorescencyjna pozwala na uzyskanie niższych granic oznaczalności, jednak w tym przypadku, reakcja derywatywacji wymaga zazwyczaj zastosowania bardziej drastycznych warunków. Bardzo często, oprócz pochodnych tiolowych, podczas reakcji powstaje szereg produktów ubocznych, które utrudniają rozdzielanie, a w konsekwencji interpretację chromatogramu. W większości przypadków problemy te nie występują podczas derywatywacji i separacji pochodnych wykazujących absorbcję w zakresie promieniowania UV-Vis. Opracowane z ich udziałem procedury analityczne odznaczają się dużą czułością i precyzją. Uzyskane krzywe kalibracyjne w pełni pokrywają zakresy stężeń analitów obecnych w próbkach zarówno w stężeniach fizjologicznych, jak i patologicznych. Dodatkowym czynnikiem, który przemawia na korzyść detekcji UV, jest prostota obsługi aparatury i jej łatwa dostępność. Odczyniki, np. CMQT, ze względu na dużą selektywność w stosunku do tioli oraz możliwość stosowania łagodnych warunków reakcji, mogą być szczególnie przydatne w procedurach w pełni zautomatyzowanych. Te z kolei mogą z powodzeniem konkurować z coraz bardziej popularnymi metodami immunoenzymatycznymi, których charakterystyczną cechą jest to, że umożliwiają równoczesne oznaczenie jednego analitu w dużej liczbie próbek. Przewaga metod separacyjnych polega na możliwości monitorowania stężeń wielu analitów podczas jednej analizy.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Puka Sundval, P. Eriksson, M. Nilsson, M. Saudberg, A. Lehmann, *Brain Res.*, 1995, **705**, 65.
- [2] I.A. Cotgreave, R.G. Gerdes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, **242**, 1.
- [3] M.A. Hofmann, B. Kohl, M.S. Zumbach, V. Borcea, A. Bierhaus, M. Henkels, *Diabetes care*, 1998, **21**, 841.
- [4] S.K. Austen, J.S. Coombes, R.G. Fassett, *Clin. Nephron.*, 2003, **60**, 375.
- [5] P.R. Brauer, B.J. Tierney, *Curr. Pharm. Des.*, 2004, **10**, 2719.
- [6] M.P. Mattson, T.B. Shea, *Trends Neurosci.*, 2003, **26**, 137.
- [7] M.R. Malinow, S.S. Kang, L.M. Taylor, P.K.W. Wong, B. Coull, *Circulation*, 1989, **79**, 1180.
- [8] S.S. Kang, P.K.W. Wang, M.R. Malinow, *Ann. Rev. Nutr.*, 1992, **12**, 279.
- [9] H. Jakubowski, *Cell. Mol. Life Sci.*, 2004, **61**, 470.
- [10] H. Jakubowski, *Biomed. Pharmacother.*, 2001, **55**, 443.
- [11] B. Kagedal, M. Kallberg, *J. Chromatogr. B*, 1984, **308**, 75.
- [12] M.J. Magera, J.M. Lacey, B. Casetta, P. Rinaldo, *Clin. Chem.*, 1999, **45**, 1517.
- [13] H. Fiskerstrand, H. Refsum, G. Kvalheim, P.M. Ueland, *Clin. Chem.*, 1993, **39**, 263.
- [14] J.F. Livesey, J.G. Donnelly, D.S. Ooi, *Clin. Chem.*, 1996, **42**, 1714.
- [15] A. Pastore, R. Massoud, C. Motti, A. Lo Russo, G. Fucci, C. Cortese, G. Federici, *Clin. Chem.*, 1998, **44**, 825.
- [16] I. Fermo, C. Arcelloni, R. Paroni, *Anal. Biochem.*, 2002, **307**, 181.
- [17] K. Kuśmierk, R. Głowacki, E. Bald, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, **385**, 855.

- [18] E. Kaniowska, G. Chwatko, R. Głowacki, P. Kubalczyc, E. Bald, *J. Chromatogr. A*, 1998, **798**, 27.
- [19] E. Bald, R. Głowacki, J. Drzewoski, *J. Chromatogr. A*, 2001, **913**, 319.
- [20] K. Amarnath, V. Amarnath, K. Amarnath, H.L. Valentine, W.M. Valentine, *Talanta*, 2003, **60**, 1229.
- [21] P. Lochman, T. Adam, D. Friedecky, E. Hlidkova, Z. Skopkova, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 1200.
- [22] K. Kuśmierek, E. Bald, *Chromatographia*, 2008, **67**, 23.
- [23] E. Bald, G. Chwatko, R. Głowacki, K. Kuśmierek, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1032**, 109.
- [24] R. Głowacki, H. Jakubowski, *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 10864.
- [25] H. Jakubowski, *Anal. Biochem.*, 2008, **380**, 257.
- [26] R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell, *Biochemia Harpera*, PZWL, Warszawa, 1994.
- [27] R.L. Hagan, *J. Liq. Chromatogr.*, 1993, **13**, 2701.
- [28] T.D. Nolin, M.E. McMenamin, J. Himmelfarb, *J. Chromatogr. B*, 2007, **852**, 554.
- [29] B. Frick, K. Schrocksnadel, G. Neurauder, Wirleitner, E. Artner-Dworzak, D. Fuchs, *Clin. Chim. Acta*, 2003, **331**, 19.
- [30] G. Minniti, A. Piana, U. Armani, R. Cerone, *J. Chromatogr. A*, 1998, **828**, 401.
- [31] Y. Ogasawara, Y. Mukai, T. Togawa, T. Suzuki, S. Tanabe, K. Ishii, *J. Chromatogr. B*, 2007, **845**, 157.
- [32] D. Tang, M.M. Shafer, K. Vang, D.A. Karner, D.E. Armstrong, *J. Chromatogr. A*, 2003, **998**, 31.
- [33] A.R. Ivanov, I.V. Nazimov, L. Baratova, *J. Chromatogr. A*, 2001, **895**, 157.
- [34] S.T. Chou, L.E. Ko, C.S. Yang, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **429**, 331.
- [35] I.O. Melnikov, I.V. Nazimov, E.A. Stukacheva, Yu. M. Glubokov, *Anal. Chem.*, 2006, **61**, 1093.
- [36] T. Fukushima, N. Usui, T. Santa, K. Imai, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2003, **30**, 1655.
- [37] H.A. Bardelmeijer, H. Lingeman, C. de Ruiter, W.J.M. Underberg, *J. Chromatogr. A*, 1998, **807**, 3.
- [38] G. Lunn, L.C. Hellwig (Eds), *Handbook of Derivatization Reactions for HPLC*, John Wiley and Sons Inc. New York, 1998.
- [39] K. Shimada, K. Mitamura, *J. Chromatogr. B*, 1994, **659**, 227.
- [40] J.M. Rosenfeld, *Trends Anal. Chem.*, 2003, **22**, 785.
- [41] K. Kuśmierek, G. Chwatko, R. Głowacki, E. Bald, *J. Chromatogr. B*, 2009, **877**, 3300.
- [42] G.L. Ellman, *Arch. Biophys.*, 1959, **82**, 70.
- [43] P. Jocelyn, *Method Enzymol.*, 1987, **163**, 44.
- [44] J. Russell, J.A. McKeown, C. Hensman, W.E. Smith, J. Reglinski, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1997, **15**, 1757.
- [45] C.K. Riener, G. Kada, H.J. Gruber, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **373**, 266.
- [46] N. Patsoukis, C.D. Georgiou, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **378**, 1783.
- [47] P. Eyer, F. Worek, D. Kiderlen, G. Sinko, A. Stuglin, V. Simeon-Rudof, E. Reiner, *Anal. Biochem.*, 2003, **312**, 224.
- [48] S. Willig, D.L. Hunter, P.D. Dass, S. Padilla, *Vet. Hum. Toxicol.*, 1996, **38**, 249.
- [49] A.E. Katrusiak, P.G. Paterson, H. Kamencic, A. Shoker, A.W. Lyon, *J. Chromatogr. B*, 2001, **758**, 207.
- [50] A.A. Zhloba, E.L. Blashko, *J. Chromatogr. B*, 2004, **800**, 275.
- [51] R.E. Hansen, H. Rstergaard, P. Nřrgaard, J. R. Winther, *Anal. Biochem.*, 2007, **363**, 77.
- [52] E. Bald, R. Głowacki, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.*, 2001, **24**, 1323.
- [53] K. Kuśmierek, E. Bald, *Biomed. Chromatogr.*, 2008, **22**, 441.
- [54] K. Kuśmierek, E. Bald, *Anal. Chim. Acta*, 2007, **590**, 132.
- [55] R. Głowacki, E. Bald, *J. Chromatogr. B*, 2009, **877**, 3400.
- [56] K. Kuśmierek, R. Głowacki, E. Bald, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **382**, 231.
- [57] E. Bald, R. Głowacki, *Amino Acids*, 2005, **28**, 431.

- [58] R. Głowacki, D. Gryglik, K. Kuśmerek, E. Bald, *Talanta*, 2005, **66**, 534.
- [59] R. Głowacki, K. Wójcik, E. Bald, *J. Chromatogr. A.*, 2001, **914**, 29.
- [60] K. Kuśmerek, G. Chwatko, E. Bald, *Chromatographia*, 2008, **68**, S91.
- [61] K. Kuśmerek, E. Bald, *Chromatographia*, 2007, **66**, 71.
- [62] K. Kuśmerek, E. Bald, *Talanta*, 2007, **71**, 21.
- [63] P. Kubalczyk, E. Bald, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, **384**, 1181.
- [64] P. Kubalczyk, E. Bald, *Electrophoresis*, 2008, **29**, 3636.
- [65] S. Sypniewski, E. Bald, *J. Chromatogr. A*, 1996, **729**, 335.
- [66] Y. Wang, X. Kang, W. Ge, X. Sun, J. Peng, *Chromatographia*, 2007, **65**, 527.

Praca wpłynęła do Redakcji 25 maja 2009

**MEDYCZNE ZASTOSOWANIA
SIT MOLEKULARNYCH**

MEDICAL APPLICATIONS OF MOLECULAR SIEVES

**Karolina Długopolska¹, Tomasz Ruman¹,
Dariusz Pogocki^{1,2}, Marek Danilczuk^{2,3*}**

¹ *Politechnika Rzeszowska, Wydział Chemiczny,
al. Powstańców Warszawy 6, 35-959 Rzeszów*

² *Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
ul. Dorodna 16, 03-195 Warszawa,*

³ *Department of Chemistry and Biochemistry, University of Detroit Mercy,
4001 W. McNichols Road, Detroit, MI 48221-3038, USA
e-mail: danilcma@udmercy.edu*

Abstract

Wstęp

1. Systemy transportu leków
2. Modyfikacje materiałów porowatych
3. Właściwości przeciwnowotworowe
4. Preparaty przeciwkwasowe
5. Powłoki mikroporowate
6. Inne zastosowania

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr Karolina Długopolska doktorant Międzynarodowego Studium Doktoranckiego przy Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN w Krakowie. Aktualnie wykonuje badania związane z tematem pracy doktorskiej „Synteza i badania borowych analogów nukleotydów jako inhibitorów syntazy tymidylanowej” w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej. W 2007 r. ukończyła studia na Wydziale Biologiczno-Rolniczym Uniwersytetu Rzeszowskiego, kierunek biologia.



Dr inż. Tomasz Ruman jest adiunktem w Katedrze Biochemii i Biotechnologii na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej od 2007 roku. Tytuł magistra inżyniera uzyskał w 2003 roku. Pracę doktorską pt. „Ligandy polipirazoliloboranowe: homoskorpionianowe, heteroskorpionianowe i chiralne” obronił w 2004 roku pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Stanisława Wołowca. Aktualnie zajmuje się badaniami biologicznie czynnych związków boru, NMR związków paramagnetycznych oraz post-translacyjnymi modyfikacjami białek.



Dr hab. inż. Dariusz Pogocki ukończył Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej. W 1996 r. uzyskał tytuł doktora nauk chemicznych, a w 2004 r. habilitację w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie. W latach 1998–2001 przebywał na stażu na Wydziale Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu w Kansas. Od 2005 roku jest profesorem nadzwyczajnym na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej. Jego główne zainteresowania naukowe to procesy rodnikowe w układach o znaczeniu biologicznym oraz wykorzystanie metod spektroskopowych i modelowania molekularnego w ich badaniu. Badania te realizuje we współpracy z zespołami Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej, w którym jest zatrudniony na stanowisku docenta.



Dr Marek Danilczuk ukończył studia magisterskie na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Prace magisterską wykonał pod kierunkiem dr hab. Stanisława Witkowskiego w Instytucie Chemii w Zakładzie Chemii Organicznej. Tytuł magistra uzyskał w 1998 roku. Bezpośrednio po ukończeniu studiów magisterskich podjął pracę w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, i po odbyciu trzymiesięcznego stażu, został słuchaczem Studium Doktoranckiego. Główny temat jego badań to stabilizacja małych rodników węglowodorowych i klastrów metali przejściowych w sitach molekularnych. Pracę doktorską wykonał pod kierunkiem prof. dr hab. Jacka Michalika. Tytuł doktora uzyskał w 2004 roku. Od 2005 roku przebywa na stażu podoktorskim na Wydziale Chemii i Biochemii, University of Detroit Mercy, gdzie prowadzi badania degradacji membran stosowanych w ogniach paliwowych.

ABSTRACT

Molecular sieves are porous, crystalline materials usually synthetic or natural zeolites, that contain well-defined pores of precise and uniform size. The term zeolite originally described a group of natural crystalline aluminosilicates, however nowadays the term covers many different materials such as aluminophosphates or gallium-silicalites. During the last few decades microporous and mesoporous materials have been considered for medical use due to biological properties and stability in biological environment [1–4]. Zeolites have been investigated as drug carriers, dietetic supplements, antimicrobial agents or as adjuvants in anticancer therapy [3–9].

Unique ‘magnetic’ zeolite was obtained by Shan et al. Zeolite nanocrystals were *in situ* combined with superparamagnetic magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles in the hydrothermal synthesis procedure. An high amount of enzymes adsorption and a good biocatalytic performance is shown by those newly formed magnetite/zeolite composite nanoparticles [15].

Zeolite of the CuX type has been used as a support for a antitumoral drug-cyclophosphamide. The *in vivo* tests show that the intensity of the antitumoral effects of the CuX zeolite-cyclophosphamide system is similar in comparison to the one achieved by cyclophosphamide alone [21]. Ion-exchanged zeolites have also been used as a novel approach to storage and delivery of nitric oxide (NO) [16]. Zeolite surface coatings offer antimicrobial protection through the controlled release of antimicrobial agent and can be applied to different types of surfaces or incorporated in many types of polymers [17, 18]. Rivera group prove that both zeolitic materials and drugs could be simultaneously administrated to a patient without any loss of an individual pharmaceutical effect of each product [22]. Zeolite matrix has been also used to stabilize erythromycin solutions. An existing commercial product based on diisopropylsebacate/ethanol solution of 4% erythromycin and zinc acetate (Zineryt[®], Yamanouchi Pharma) has been compared to analogical system where active compounds are loaded into porous material [26].

Natural clinoptilolite is the main and active component of the antidiarrheal drug acting as adsorbent of bile acids, Aflatoxine B and Glucose [64]. Recent studies show that this material can also be utilized as an adjuvant in anticancer therapy [10–13, 46–47]. The new antacid drug Neutacid[®] is based on the neutralizing capacity of the purified natural zeolite – clinoptilolite from the Tasajera deposit (Cuba) for therapy of patients suffering from hyperacidity produced by gastric dyspepsia and gastric-duodenal ulcer [50]. Mesoporous material MCM-41, due to the pore size tunability and functionalization possibilities, can especially encapsulate a variety of different drug molecules and release them in controlled ways [27, 28, 30–36]. Zeolites containing silver ions are used as antimicrobial agents [53–57]. Zeolites are the main ingredient of commercially available anti-bleed agents [67].

Keywords: microporous materials, mesoporous materials, zeolite, drug delivery systems, drug carriers

Słowa kluczowe: materiały mikroporowate, materiały mezoporowate, zeolity, nośniki leków, systemy transportu leków

WSTĘP

Sita molekularne tworzą niezwykle interesującą i zróżnicowaną klasę złożonych materiałów nieorganicznych o ściśle zdefiniowanej strukturze krystalicznej. Początkowo nazwą „zeolity”, określano krystaliczne glinokrzemiany naturalne i syntetyczne, obecnie jednak rozciągnięto ją na wiele innych materiałów, w tym także glinokrzemianofosforany i galokrzemiany. Zeolity, ze względu na strukturę, rozmiary i układ porów oraz kanałów (porowatość), właściwości jonowymienne i stabilność termiczną, znalazły szerokie zastosowanie jako katalizatory w przemyśle petrochemicznym, m.in. w krakingu, aromatyzacji i dysproporcjonowania węglowodorów.

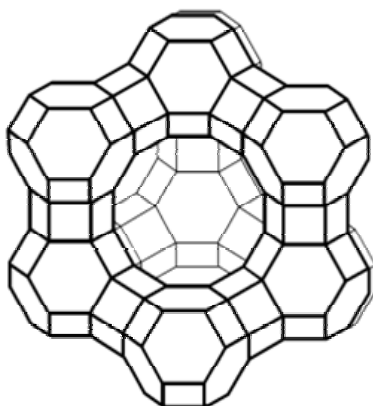
Sieć zeolitu zbudowana jest z czworościanów $[\text{SiO}_4]$ i $[\text{AlO}_4]$, z atomem Si lub Al w centrum i atomami tlenu w narożach. Czworościany mają wspólne naroża lub krawędzie, więc liczba atomów tlenu jest dwukrotnie większa niż suma liczby atomów Al i Si. Ładunki formalne SiO_2 i AlO_2 wynoszą odpowiednio 0 i -1 . Oznacza to, że obecność glinu w sieci zeolitu wprowadza do sieci ładunek ujemny, który może być równoważony przez protony lub kationy nieorganiczne, zwykle jedno- lub dwudodatnie, oraz kationy organiczne. Stosunek Si/Al jest ważnym parametrem określającym właściwości zeolitów. Zawartość Al w sieci determinuje pojemność kationową sieci i inne właściwości, jak np. chemiczną i termiczną stabilność czy polarność wewnętrznej powierzchni. Wraz ze wzrostem zawartości glinu spada termiczna stabilność sieci i w trakcie dehydratacji w wyższych temperaturach może dochodzić do częściowej dealuminacji, polegającej na usunięciu glinu z sieci zeolitu bez zniszczenia struktury krystalicznej. Pojemność kationowa decyduje również o gęstości elektronowej na atomie tlenu sieci zeolitu oraz zawartości kationów w komorach i kanałach, a powstałe wokół kationów lokalne pola elektrostatyczne silnie oddziałują na cząsteczki adsorbatów, modyfikując ich własności elektronowe, i prowadzą do tworzenia reaktywnych produktów przejściowych, które inicjują procesy katalityczne [1–4].

Właściwości fizyko-chemiczne oraz stabilność w środowisku biologicznym zeolitów zwróciły uwagę badaczy na możliwość wykorzystania ich w medycynie [3]. Zastosowanie zeolitów jako suplementów diety pozwala na znaczne obniżenie poziomu radionuklidów w wątrobie i nerkach [4]. Wyniki ostatnich badań komórek nowotworowych *in vitro* oraz badań na zwierzętach cierpiących na nowotwory wykazały, że zeolity mogą być z powodzeniem stosowane jako środki wspomagające terapię przeciwnowotworową [5]. Zeolity znalazły również zastosowanie do wzbogacania i identyfikacji białek [6, 7] oraz immobilizacji enzymów jako biosensorów [8]. W diagnostyce medycznej rozważano zastosowanie zeolitów zawierających Gd^{3+} jako środka kontrastowego do obrazowania metodą rezonansu magnetycznego (ang. *Magnetic Resonance Imaging*, MRI) [9].

1. SYSTEMY TRANSPORTU LEKÓW

Zróznicowanie sit molekularnych pod względem struktury i morfologii umożliwia zaprojektowanie układów typu *host-guest* o ściśle określonych właściwościach adsorpcyjnych. Ze względu na silnie rozwiniętą powierzchnię i wielkość oraz układ porów, zeolity charakteryzują się również wysoką selektywnością i pojemnością adsorpcyjną, która umożliwia adsorpcję wody w ilości stanowiącej nawet 50% masy zeolitu. Właściwości te powodują, że zeolity sprawdzają się doskonale jako nośniki leków.

Dyer i in. badali działanie dostępnego komercyjnie zeolitu Y (Rys. 1), jako nośnika leków o wydłużonym czasie uwalniania czynnika aktywnego. Przykładowo: pyrantel i/lub fenbendazol zaadsorbowany na zeolicie Y był podawany szczurom zarażonym nicieniem *Nippostrongylus brasiliensis*, natomiast dichlorvos zaaplikowano świnom z nicieniami z rodzaju *Ascaris* lub *Oesophagostomum*. Terapia z zastosowaniem zeolitu Y jako nośnika leku okazała się skuteczniejsza w likwidowaniu dorosłych form pasożytów, w porównaniu do standardowego leczenia przy użyciu czystych preparatów [10]. Badania prowadzone, w tym zespole, wykazały, że adsorpcja niektórych leków przeciwpasożytniczych (dichlorvos, fenbendazol i pyrantel) na matrycy glinokrzemianowej znacznie obniża szybkość ich uwalniania, co wydłuża okres utrzymywania się stężenia leku we krwi w zakresie terapeutycznym [11].



Rysunek 1. Struktura fojazytu (FAU), zeolitu X, Y
Figure 1. Structure of faujasite (FAU), zeolite X, Y

Tetramizol, eksperymentalny lek przeciwpasożytniczy, stosowany w terapii zaburzeń reumatycznych do przywrócenia odpowiedzi układu immunologicznego poprzez wzrost chemotaksji makrofagów i aktywności limfocytów T, można również zastosować jako addukt z zeolitem Y [12]. Badana przez Otkera i in. adsorpcja na naturalnych zeolitach enrofloksacyny, antybiotyku z grupy fluorochinolonów,

szeroko stosowanego w terapii infekcji układu oddechowego oraz jelit, wywołanych bakteriami u drobiu, jest zależna w wysokim stopniu od wartości pH środowiska i wzrasta wraz ze spadkiem pH. Oznacza to, że enrofloksacyna jest *zwitterjonem*, który w środowisku kwaśnym przyjmuje ładunek dodatni i może ulegać wymianie jonowej na zeolicie [13].

Innymi bardzo obiecującymi materiałami są nanokompozyty zeolitów, składające się z magnetytu i komercyjnego zeolitu Na-Y, który charakteryzuje się dużą powierzchnią i pojemnością kationową, co umożliwia osadzanie, magazynowanie i uwalnianie znacznych ilości doksorubicyny, przeciwnowotworowego antybiotyku należącego do grupy tetracyklin. Dzięki zastosowaniu zewnętrznego lub wewnętrznego pola magnetycznego, lek w takiej formie może być kierowany bezpośrednio do właściwego miejsca w organizmie, np. komórek nowotworowych, i tam uwalniany. W ten sposób można znacząco zredukować dotychczas wymaganą dawkę terapeutyczną leku i zminimalizować efekty uboczne związane z jego stosowaniem. Wspomniane powyżej, dostępne na rynku nanokompozyty składają się z magnetycznych nanocząstek pokrytych cienką warstwą glinokrzemianu [14]. „Magnetyczny zeolit” otrzymany przez Shana i in. powstał w syntezie hydrotermalnej nanokryształów zeolitu, w obecności nanocząstek magnetytu (Fe_3O_4). Nanocząstki kompozytów magnetyt/zeolit charakteryzują się wysoką zdolnością do adsorpcji enzymów i własnościami biokatalitycznymi [15].

Zeolity o właściwościach jonowymiennych umożliwiają adsorpcję i transport tlenu azotu (NO) [16]. Ekspozycja zeolitu na gazowy tlenek azotu skutkuje wiązaniem NO na powierzchni sieci glinokrzemianowej, co ułatwia skuteczne upakowanie tlenu azotu wewnątrz zeolitu. Po dehydratacji układ NO-zeolit wykazuje dużą stabilność, a uwolnienie tlenu azotu następuje w kontakcie z wodą. Pojemność zeolitu w odniesieniu do adsorpcji NO jest zaskakująco wysoka, a szybkość uwalniania gazu można modyfikować poprzez zmianę porowatości materiału [17]. Szeroki zakres zastosowania NO-zeolitów obejmuje między innymi przeciwdrobnoustrojowe pokrycia materiałów opatrunkowych, pokrycia o działaniu przeciwzakrzepowym bypassów, cewników, kaniul oraz stent [18].

Pokrycie powierzchni naturalnego klinoptylolitu chlorkiem benzalkoniowym lub inną substancją powierzchniowo czynną indukuje wyraźny wzrost adsorpcji sulfametoksazolu, który jest niezdolny do wiązania się z zeolitem niezmodyfikowanym. Preadsorbowany chlorek benzalkoniowy działa jak *kotwica* wiążąca leki. Spośród wszystkich testowanych substancji powierzchniowo czynnych, surfaktanty kationowe wykazały najsilniejsze powinowactwo do klinoptylolitu, tworząc z nim stabilne kompozyty [19]. Obecność surfaktantów i leków w zeolicie nie powoduje zmian strukturalnych, skutkuje tylko spadkiem powierzchni aktywnej zeolitu. Dodatkowo pokrycie powierzchni zeolitu odpowiednim surfaktantem umożliwia osadzenie i transport różnego rodzaju leków [20].

Zeolit typu Cu-X jest używany jako substancja pomocnicza w terapii lekiem przeciwnowotworowym, cyklofosfamidem. Testy *in vivo* wykazały, że efekt działania układu zeolit-cyklofosfamid jest podobny do uzyskanego w przypadku zastoso-

wania czystego cyklofosfamidu. Istotną korzyścią stosowania adduktu zeolit-cyklofosfamid jest utrzymywanie się stężenia substancji czynnej w osoczu, w zakresie od 100 aż do 1000 ng/ml [21].

Grupa Rivery przeprowadziła badania pod kątem oszacowania fizykochemicznych oddziaływań między zeolitem a dwoma lekami: metronidazolem i sulfametoksazolem, których stosowanie powoduje znaczne efekty uboczne ze strony układu pokarmowego. Wydaje się, że oba leki, po związaniu na powierzchni zeolitu, pozostają w niezmienionej formie, nie obserwuje się również degradacji leków pod wpływem zmian pH. Autorzy udowodnili, że testowany zeolit oraz wspomniane leki mogą być podawane pacjentom jednocześnie, bez jakichkolwiek strat ze strony działania terapeutycznego tych środków [22].

Dostępne na rynku syntetyczne zeolity Vegobond 13X i Vegobond AX (SASOL, Włochy) testowano jako nośniki leku przeciwzapalnego, ketoprofenu. Badania wykazały możliwość zamknięcia 400 mg substancji czynnej w 1 g aktywowanej matrycy oraz stabilność układu lek/zeolit w środowisku kwaśnym (testy uwalniania leku w roztworze symulującym płyny wypełniające układ pokarmowy) [23]. Inne badania stabilności hydrolitycznej leków wykonano dla układu kwas acetylosalicylowy–zeolit, jako materiał mineralny wykorzystano kankrynit. Udowodniono, że układ – zeolit jako lek przeciwkwasowy oraz kwas acetylosalicylowy można stosować jednocześnie i nie zaobserwowano obniżenia aktywności żadnego z nich. Szybkość hydrolizy aspiryny w układzie z zeolitem porównano do podobnego układu, gdzie aspiryna była upakowana w syntetycznym hydrotalcycie. Większy stopień hydrolizy układu zeolit–aspiryna wynikał jednak z bardziej zasadowego charakteru hydrotalcytu [24].

Handlowe produkty, oparte na 4% roztworze erytromycyny i octanu cynku w układzie rozpuszczalników diizopropylsebacynian/etanol (Zineryt[®], Yamanouchi Pharma), porównano do analogicznego układu, gdzie aktywne składniki umieszczono w substancjach porowatych (zeolitach) stabilizujących roztwory erytromycyny. Zaobserwowano, że zeolity – nośniki erytromycyny stopniowo uwalniają jony cynku przez wymianę jonową po kontakcie ze skórą. Oprócz spodziewanego efektu terapeutycznego, który wykazuje substancja czynna upakowana, zaobserwowano, że naturalny zeolit wykazuje działanie wspomagające gojenie się ran, ale mechanizm tego zjawiska nie został jeszcze w pełni wyjaśniony [25, 26]. Vallet-Regi i in. zaproponowali zastosowanie materiału mezoporowatego MCM-41 jako nośnika środków farmakologicznych. Materiał został wypełniony lekiem przeciwzapalnym, ibuprofenem. Badano materiał w postaci sproszkowanej i w formie pastylek. W przypadku formy proszkowej, ibuprofen wprowadzono do materiału w ciągu 24-godzinne, a w przypadku pastylek 3-dniowego nasycania z roztworu w heksanie. Adsorpcja w przypadku pastylek jest znacznie wolniejsza, jednak w obu przypadkach procentowa zawartość wagowa ibuprofenu w MCM-41 wyniosła aż 30%, natomiast ilość i sposób uwalniania leku był zależny od sposobu nasycania nim sita molekularnego [27, 28].

2. MODYFIKACJE MATERIAŁÓW POROWATYCH

Modyfikacja (funkcjonalizacja) sita molekularnego za pomocą różnego typu grup funkcyjnych może być wykorzystywana do kontroli szybkości uwalniania osadzonego leku w ustroju [29–33]. Badania sita molekularnego MCM-41 zawierającego grupy aminopropylowe wykazały znaczne zmiany w szybkości uwalniania zaadsorbowanych leków w roztworach symulujących płyn fizjologiczny (SBF, pH 7,4), w temperaturze 37°C [30, 34]. W przypadku ibuprofenu, który zawiera grupy karboksylowe, badania wykazały, że po modyfikacji sita MCM-41 grupami aminopropylowymi następuje spadek szybkości uwalniania leku. Manzano i in. opisali zastosowanie jako nośnika leków [35] sita molekularnego typu MCM-41, o powierzchni modyfikowanej grupami 3-aminopropylotrietoksylanowymi. Wykazano, że aminowa forma MCM-41 w postaci kulek (średnica 490–770 nm) uwalnia znacznie wolniej ibuprofen, w porównaniu z MCM-41 w postaci sproszkowanej. Jest to jedna z metod kontrolowanego transportu i uwalniania środka farmakologicznego w dłuższym okresie czasu.

Modyfikacja powierzchni materiału mezoporowatego MCM-41 za pomocą grup 3-glicydoksypropylsilanolowych prowadzi do wzrostu chemisorpcji ibuprofenu na powierzchni matrycy (tworzenie wiązań kowalencyjnych ibuprofenu z powierzchnią zmodyfikowanej matrycy) [31]. W zależności od zastosowanej metody wprowadzania leku do sita molekularnego, ibuprofen stanowił od 27% do 33% wag. Wyniki uzyskane z dyfraktometru rentgenowskiego pokazują, że zamknięty ibuprofen pozostaje w fazie molekularnej i amorficznej, a jedynie niewielka frakcja (~0.2%) występuje w postaci krystalicznej na powierzchni matrycy [36].

Efektywność adsorpcji leków zależy nie tylko od specyficznych interakcji pomiędzy zeolitem a osadzonymi na jego powierzchni cząsteczkami, ale również od rozmiaru porów i powierzchni aktywnej zeolitu [37–39]. Zwiększanie stosunku średnicy do objętości porów prowadzi zwykle do zwiększenia stopnia adsorpcji leku i ma również istotny wpływ na szybkość uwalniania. Badania NMR ibuprofenu zaadsorbowanego na MCM-41 o średnicy porów 35 i 116 Å dowodzą, że w temperaturze pokojowej cząsteczki leku wykazują niezwykłą mobilność, wyższą niż w krzemionce o większej średnicy porów. Wydaje się, że wysoka mobilność ibuprofenu jest rezultatem słabych oddziaływań typu *host-guest*, które prowadzą do szybszego uwalniania leku [40].

Fischer i in. porównali szybkość adsorpcji i uwalniania fluoresceiny (substancja modelowa leku) i jej analogów dla zeolitu NaX i sita molekularnego MCM-41. Adsorpcja sodowej soli fluoresceiny na poziomie 9% i 14%, odpowiednio na NaX zeolitach i MCM-41, sugeruje relatywnie niską penetrację porów. Zastosowanie odpowiedniego, tzw. „ładującego” rozpuszczalnika, w tym przypadku acetonu, zwiększa adsorpcję substancji aktywnej. W początkowym etapie obserwuje się znaczne uwalnianie fluoresceiny z powierzchni zeolitu, następnie już tylko niewielki wzrost w czasie. Obecność enzymu z grupy esteraz w uwalniającym rozpuszczalniku znacząco zwiększa szybkość uwalniania z MCM-41, nie ma natomiast wpływu na szyb-

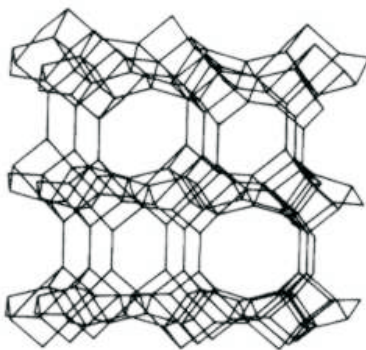
kość uwalniania z zeolitu typu X. Ogólnie: adsorpcja fluoresceiny silnie zależy od zastosowanego rozpuszczalnika, jakkolwiek szybkość uwalniania w znacznym stopniu zależy od pH środowiska oraz obecności enzymów [41].

Chemiczna modyfikacja struktury matrycy krzemionkowej, zaproponowana przez Tanga i in., a polegająca na reakcji krzemianów z 2-cyjanopropylotrietoksyilanem, i hydrolizie w środowisku kwaśnym produktów zawierających grupę cyjanową, umożliwiła stworzenie krzemianów zawierających grupę karboksylową, które wykorzystano do testów jako nośniki famotydy (substancja modelowa). Testy szybkości uwalniania substancji czynnej ze zmodyfikowanej matrycy przeprowadzono w płynach symulujących płyny ustrojowe [42].

Syntetyczna krzemionka SBA-15, ze względu na uporządkowaną mezoporową strukturę z porami o regulowanej średnicy (aż do 300 Å), jest dla badaczy potencjalnie interesującą alternatywą dla istniejących nośników leków [43, 44]. Duże rozmiary porów umożliwiają magazynowanie stosunkowo dużych cząsteczek leków. Doadrio i in. testowali *in vitro* kontrolowane uwalnianie gentamycyny zaadsorbowanej na matrycy SBA-15 [45]. Nie wykazano znacznych różnic w szybkości uwalniania antybiotyku w zależności od postaci użytkowej matrycy. Zastosowanie zeolitów jako nośników leków w wielu wypadkach może podnosić rozpuszczalność leku, w porównaniu do formy niezaadsorbowanej. Badania hydrofobowego itraconazolu, zadsorbowanego na krzemionce SBA-15, wykazały istnienie ścisłej zależności pomiędzy średnicą porów a szybkością uwalniania leku. Intraconazol zaadsorbowany na krzemionce o średnicy porów 6,4–9,0 nm rozpuszcza się znacznie lepiej w środowisku wodnym niż jego forma krystaliczna [37].

3. WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWE

Zeolity, takie jak klinoptylolit (Rys. 2), były analizowane pod kątem zastosowania w roli środka wspomagającego w terapii przeciwnowotworowej [46]. Pavelic i in. sugerują, że naturalny klinoptylolit, podawany doustnie myszom i psom cierpiącym na różnego rodzaju nowotwory, prowadzi do ogólnoustrojowej poprawy, wydłużenia długości życia oraz zmniejszenia rozmiarów guza. Po kontakcie z klinoptylolitem obserwowano redukcję objętości tkanki nowotworowej u psów (rak skóry) i nie stwierdzono występowania efektów ubocznych tej terapii. Badania tkankowych kultur *in vitro* pokazały, że sproszkowany klinoptylolit w czystej postaci hamuje kinazę B (c-Akt) i indukuje ekspresję genów p21WAF1/CIP1, p27KIP1 kodujących supresory nowotworowe oraz blokuje wzrost komórek nowotworowych [47].



Rysunek 2. Struktura klinoptiolitu
Figure 2. Structure of clinoptilolite

Inne badania wskazują, że mikronizowany zeolit, w połączeniu ze standardową chemioterapią (Doxorubicyna), obniża szybkość przemian metabolicznych komórek nowotworowych i znacząco redukuje przerzuty do płuc. Leczenie klinoptylolitem, poddanym mechanicznej mikronizacji (dla polepszenia przyswajalności), myszy i psów z nowotworem prowadzi do ogólnej poprawy stanu zdrowia i redukcji rozmiarów guza. Zauważono również redukcję peroksydacji lipidów w wątrobie myszy. Mikronizowany klinoptylolite redukuje szybkość przemian metabolicznych komórek nowotworowych i zwiększa wiązanie *in vitro* 4-hydroksy-2-nonenalu (HNE) z albuminą. Leczenie skojarzone klinoptylolitem i doksyrybicyną redukuje ilość przerzutów do płuc i nieznacznie podwyższa efekt przeciwnowotworowy leku [5].

Aktywowany zeolit TMA (zeolit modyfikowany solami tetrametyloamoniowymi) ma zdolność obniżania stresu antyoksydacyjnego u pacjentów chorych na nowotwory złośliwe oraz cukrzycę. Wstępne dane wskazują na związek między zmniejszeniem stresu oksydacyjnego a ogólną poprawą stanu zdrowia [48]. Wykazano, że 4-tygodniowe doustne podawanie TMA pacjentom z nowotworem skutkuje przywróceniem poprzedniego wyższego poziomu antyoksydantów i obniżeniem poziomu wolnych rodników w osoczu. Aktywowany zeolit wykazuje również aktywność przeciwnowotworową w hodowlach tkankowych, poprzez inhibicję kinazy B (c-Akt) oraz indukcję ekspresji genów p21WAF1/CIP1 i p27KIP1 supresorów nowotworowych, niezależnie od białka p53. W rezultacie leczenie aktywowanym zeolitem TMA myszy i psów prowadzi do polepszenia stanu zdrowia, zwiększenia przeżywalności i zmniejszenia rozmiarów nowotworu [49]. Otrzymane rezultaty są bardzo obiecujące, pomimo braku wiedzy na temat mechanizmów działania zeolitów na nowotwór.

4. PREPARATY PRZECIWKWASOWE

Zeolity znalazły szerokie zastosowanie jako preparaty przeciwkwasowe. Działanie nowego środka zobojętniającego kwasy, Neutacidu[®], stosowanego u pacjentów cierpiących na nadkwaśność spowodowaną niestrawnością żołądkową i wrzodami żołądka oraz dwunastnicy, oparte jest na zdolności klinoptylolitu do zobojętniania nadmiaru HCl w soku żołądkowym. Neutacid[®] jest produkowany w postaci tabletek i gum do żucia. U pacjentów stosujących ten lek nie obserwowano efektów ubocznych, takich jak nasilenie produkcji kwasu lub obstrukcja, ponieważ struktura pepsyny w soku żołądkowym pozostaje niezmienną. Fizyczne i chemiczne właściwości tabletek nie ulegają zmianie nawet po trzech latach przechowywania w pokojowych warunkach [50].

Naturalnie występujący klinoptylolit, zawierający węglan sodu, jest kolejnym obiecującym lekiem na nadkwasotę [51]. Pomijając właściwości zeolitów, jako nośników leków, należy wspomnieć, że syntetyczne zeolity w wyniku zmian strukturalnych mogą uwalniać niewielkie ilości jonów glinu, które interferują z fosforanami z diety [52]. Dwunastotygodniowe badania toksykologiczne oczyszczonego klinoptylolitu, przeprowadzone przez Tillana i in., nie wykazały toksycznego działania tego zeolitu u zwierząt [50].

Inne kationowe modyfikacje naturalnych zeolitów zaowocowały otrzymaniem materiałów wykazujących specyficzne działanie farmakologiczne: forma zawierająca jony cynku, nazwana ZZ, ma działanie mikrobicydu; forma bogata w wapno, nazwana Kolestyną, adsorbuje kwasy żółciowe z soku żółciowego w przewodzie pokarmowym, działając hipocholesterolemicznie. Forma zawierająca jony żelaza(II) (FZ) jest selektywnym adsorberem glukozy z przewodu pokarmowego, kontrolującym transport cukru do krwiobiegu, zaliczana jest do środków działających przeciwhiperlikemicznie [50].

5. POWŁOKI MIKROPOROWATE

Od połowy lat dziewięćdziesiątych cienkie filmy zeolitowe i pudrowe pokrycia o bakteriobójczych właściwościach wzbudzają coraz większe zainteresowanie jako biomateriały. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe pokryć zeolitowych zostały znacznie poprawione przez wprowadzenie do zeolitu jonów srebra. Pokrycia z zeolitu A nie wykazują utraty właściwości przeciwbakteryjnych, nawet po 2-miesięcznym zanurzeniu w wodzie [53, 54]. Rusin i in. wykazali, że na powierzchni stali nierdzewnej pokrytej zeolitem domieszkowanym jonami srebra i cynku następuje zmniejszenie ilości chorobotwórczej bakterii *Legionella pneumophila* [55]. Zeolit X zawierający jony srebra wykazuje działanie przeciwbakteryjne, potwierdzone w przypadku bakterii *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* czy *Staphylococcus aureus* [56].

W 2001 roku Ciba Specjalty Chemicals (Bazylea, Szwajcaria) wprowadziła na rynek preparat IRGAGUARD B 5000, zeolit o właściwościach przeciwbakteryjnych, zawierający jony srebra. Zeolit ten pozwala kontrolować uwalnianie jonów srebra i, co więcej – hamuje wzrost mikroorganizmów patogennych, takich jak bakterie czy grzyby pleśniowe. Materiał ten stosowano jako antybakteryjne pokrycia tworzyw sztucznych i jako dodatek do polimerów.

Bezbarwne kompozyty zeolitowo-polimerowe oraz polimery pokryte zeolitami mogą być użyte jako opakowania żywności i sprzętu medycznego. Właściwości takich materiałów mogą być modyfikowane poprzez wprowadzenie do porów zeolitu odpowiedniego składnika aktywnego [57].

Zeolity zawierające leki ulokowane wewnątrz porów [58] można zastosować także jako składnik biodegradowalnych polimerów, w celu kontroli transportu i uwalniania środków terapeutycznych. Pokrycia mogą zawierać zewnętrzną warstwę polimeru, łatwo usuwalnego w warunkach fizjologicznych, zawierającą wybrany składnik terapeutyczny w zeolicie oraz wewnętrzną warstwę zawierającą zeolitowy nośnik z innym środkiem biologicznie czynnym. Zeolitowe pokrycia filmów zawierające antybiotyk wykazują świetne działanie antybakteryjne, pomimo niskiej zawartości antybiotyku (10–100 mg/m²) [59]. Powlekając cienką warstwę zeolitu naturalnego bądź syntetycznego, zawierającego jony metali (Au, Ag, Cu, Zn), uzyskano implanty ortopedyczne o własnościach przeciwbakteryjnych [60].

6. INNE ZASTOSOWANIA

Zeomic (Sinamen-Zeomic, Nagoya, Japonia), zeolit zawierający jony srebra, ma szeroki zakres możliwych zastosowań; jest m.in. składnikiem stomatologicznego leku o właściwościach bakteriostatycznych, jest składnikiem filtrów wody, bioodpornych folii i polimerów. Zeomic wykazuje szerokie spektrum działania przeciw drobnoustrojom, włączając w to bakterie Gram ujemne (*Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*) Gram-dodatnie (*Staphylococcus aureus*) oraz grzyby (*Aspergillus niger* i *Penicillium nigricans*) [61].

Zeolity stosowano również jako środki przeciwbakteryjne, np. przy infekcjach dróg moczowych *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia sp.* [62].

Innowacyjne zastosowanie naturalnego zeolitu, klinoptolitu, jako antywirusowego środka, wykazał Grce i in. Do badań wykorzystano ludzki adenowirus 5, wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV 1) i ludzki enterowirus (coxsackie virus B5 i echowirus 7). Znacząca inhibicja namnażania wirusa obserwowana była przy stężeniu zeolitu 12 mg/ml. Przeciwwirusowe działanie zeolitu prawdopodobnie ma charakter niespecyficzny i opiera się na absorpcji wirusa w porach zeolitu. Właściwość ta może być wykorzystana do oczyszczania wody pitnej [63].

Klinoptilolit jest również głównym aktywnym komponentem przeciwbiegunkowego leku o nazwie Enterex (Victus, Inc., USA). Tuf wulkaniczny, bogaty w kli-

noptylolit, testowano jako środek przeciwbiegunkowy u bydła. Stosowane terapeutyczne dawki były jednak dosyć duże i wynosiły nawet 2 g/kg masy ciała. Skuteczność przeciwbiegunkowa zeolitów wynosiła w przybliżeniu 70%, w porównaniu do 18% dla grupy kontrolnej. Prawdopodobny mechanizm działania polega na adsorpcji kwasów żółciowych, aflatoksyny B i glukozy [64].

Pavelic i in. wskazują na ważną rolę, jaką odgrywają zeolity w regulacji układu immunologicznego. Podobnie jak niektóre krzemiany, tak i glinokrzemiany mogą zachowywać się jak niespecyficzne immunostymulatory, podobnie jak superantygenu (SAG). SAG to klasa immunostymulatorów i białek chorobotwórczych pochodzenia bakteryjnego i wirusowego ze zdolnością do aktywowania relatywnie dużej frakcji (5–20%) populacji komórek T. Aktywacja SAG wymaga jednoczesnej interakcji z $V\beta$ domeną receptorów komórek T i cząsteczkami układu zgodności tkankowej klasy II na komórkach prezentujących antygen. Mikronizowany zeolit, podawany dożołądkowo myszom zaszczepionym komórkami czerniaka, znacząco zredukował przerzuty tego nowotworu [65]. Zastosowane zeolity jako składniki pożywienia ograniczają ilość wolnych toksyn w układzie pokarmowym, zmniejszając równocześnie ich działanie toksyczne. Ramos i in. skupili się na porównaniu skuteczności wiązania aflatoksyny przez różne porowate materiały (aktywowany węgiel, bentonit, zeolit, uwodnione glinokrzemiany sodowe, wapniowe czy jonowymiennie żywice) [66].

Zeolity są głównymi składnikami dostępnych na rynku środków przeciw krwawieniu o nazwie QuikClot (Z-Medica Corporation, USA). QuikClot występuje w postaci granulek, aplikowanych bezpośrednio na ranę w celu zatrzymania krwawienia. Mechanizm działania polega na adsorbowaniu wody z krwi, stężeniu czynników krzepnięcia, aktywowaniu trombocytów i pobudzeniu kaskady krzepnięcia krwi. Zeolity wiążące wodę generują ciepło, co było główną wadą poprzedniej generacji produktów QuikClot. Przy opracowywaniu ostatniej ich wersji skupiono się na wyeliminowaniu egzotermicznej reakcji z wodą [67].

PODSUMOWANIE

Materiały mikro- i mezoporowate, ze względu na właściwości fizyko-chemiczne (wysoką pojemność adsorpcyjną, zdolność molekularno-sitową, znaczną selektywność i pojemność jonowymienną oraz odporność na działanie kwasów i podwyższonej temperatury), znalazły zastosowanie jako alternatywne układy transportu leków. Zeolity i inne mikroporowate materiały, ze względu na rozmiary porów oraz możliwość modyfikacji powierzchni zapewniają enkapsulację środków biologicznie aktywnych oraz ich kontrolowane uwalnianie. Właściwości przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze zeolitowych powłok, polegające na stopniowym uwalnianiu czynników antybakteryjnych, mogą znaleźć zastosowanie jako pokrycia różnego rodzaju powierzchni (sprzęt medyczny, implanty). Obecnie zeolity z powodzeniem stosuje

się jako suplementy diety, środki przeciw nadkwasocie i środki przeciwbakteryjne w stomatologii. Badane są także własności materiałów mikro- i mezoporowatych jako czynników immunostymulujących oraz antywirusowych. Jednym z najbardziej interesujących, ale i najmniej poznanym zastosowaniem zeolitów, jest zastosowanie klinoptylolitu jako środka wspomagającego w terapii nowotworowej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] C.K. Hersh, *Molecular Sieves*, Reinhold Pub. Corp., New York, 1961.
- [2] D.W. Breck, *Zeolite Molecular Sieves*, Wiley, New York, 1973.
- [3] D.W. Breck, *Zeolite Molecular Sieves: Structure, Chemistry, and Uses*, John Wiley & Sons, New York, 1974, pp. 634–641.
- [4] E.M. Flanigen, L.B. Sand, *Molecular Sieve Zeolite - I*, ACS, Washington, 1971.
- [3] T. Ceyhan, M. Tatlier, H.J. Akcakaya, *Mater. Sci. Mater. Med.*, 2007, **18**, 1557.
- [4] W.G. Pond, L.P. Krook, H. Ho, D.R. Su, P.A. Schoknecht, *Bull. Env. Contam. Toxicol.*, 1996, **57**, 713.
- [5] N. Zarkovic, K. Zarkovic, M. Kralj, S. Borovic, S. Sabolovic, M.P. Blazi, A. Cipak, K. Pavelic, *Anticancer Res.*, 2003, **23**, 1589.
- [6] Y.H. Zhang, X.J. Yu, X.Y. Wang, W. Shan, P.Y. Yang, Y. Tang, *Chem. Comm.*, 2004, 2882.
- [7] Y.H. Zhang, X.J. Yu, X.Y. Wang, W. Shan, B.Y. Wu, H. Z. Fan, X. J. Yu, Y. Tang, P.Y. Yang, *Ang. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 615.
- [8] T. Yu, Y.H. Zhang, C.P. You, J.H. Zhuang, B. Wang, B.H. Liu, Y.J. Kang, Y. Tang, *Chem.-A Eur. J.*, 2006, **12**, 1137.
- [9] C. Platas-Iglesias, L. Van der Elst, W.Z. Zhou, R.N. Muller, C.F.G.C. Geraldes, T. Maschmeyer, Peters, J.A. *Chem.-A Eur. J.*, 2002, **8**, 5121.
- [10] A. Dyer, S. Morgan, P. Wells, C. Williams, *J. Helminthol.*, 2000, **74**, 137.
- [11] A. Dyer, P. Wells, C. Williams, 2007, Patent: PTC. INT.APPL. WO 8705, 504.
- [12] S.K. Shaker, A. Dyer, D.M. Storey, *J. Helminthol.*, 1992, **66**, 288.
- [13] H.M. Ötker, I.J. Akmeahmet-Balcloglu, *J. Hazard. Mater.*, 2005, **122**, 251.
- [14] M. Arruebo, R. Fernandez-Pacheco, S. Irusta, J. Arbiol, M.R. Ibarra, J. Santamaria, *J. Nanotechnology*, 2006, **17**, 4057.
- [15] W. Shan, T. Yu, B. Wang, J. Hu, Y. Zhang, X. Wang, Y. Tang, *Chem. Mater.*, 2006, **18**, 3169.
- [16] P.S. Wheatley, A.R. Butler, M.S. Crane, S. Fox, B. Xiao, A.G. Rossi, I.L. Megson, R.E. Morris, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 502.
- [17] M.C. Frost, M.E. Meyerhoff, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2005, **72A**, 409.
- [18] M.R. Miller, I.L. Megson, *Br. J. Pharmacol.*, 2007, **151**, 305.
- [19] A. Rivera, T. Farias, *Micropor. Mesopor. Mater.*, 2005, **80**, 337.
- [20] A. Rivera, T. Farias, A.R. Ruiz-Salvador, L.C. de Menorval, *Micropor. Mesopor. Mater.*, 2003, **61**, 249.
- [21] C.V. Uglea, I. Albu, A. Vatajanu, M. Croitoru, S. Antoniu, L. Panaitescu, R.M.J. Ottenbrite, *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.*, 1994, **6**, 633.
- [22] T. Farias, A.R. Ruiz-Salvador, A. Rivera, *Micropor. Mesopor. Mater.*, 2003, **61**, 117.
- [23] M.G. Rimoli, M.R. Rabaioli, D. Melisi, A. Cucio, S. Mondello, R. Mirabelli, E. Abignete, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2008, **87A**, 156.
- [24] C.F. Linares, S. Solano, G. Infante, *Micropor. Mesopor. Mater.*, 2004, **74**, 105.
- [25] M.C. Bonferoni, G. Cerri, M. de' Gennaro, C. Juliano, C. Caramella, *App. Clay. Sci.*, 2007, **36**, 95.

- [26] G. Cerri, M. de' Gennaro, M.C. Bonferoni, C. Caramella, *App. Clay. Sci.*, 2004, **27**, 141.
- [27] A. Ramila, B. Munoz, J. Perez-Pariente, M. Vallet-Regi, *J. Sol- Gel Sci. Technol.*, 2003, **26**, 1199.
- [28] M. Vallet-Regi, A. Ramila, R.P. del Redl, J. Perez-Pariente, *Chem. Mater.*, 2001, **13**, 308.
- [29] S. Inagaki, S. Guan, Y. Fukushima, T. Ohsuma, O. Terasami, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 9611.
- [30] B. Munoz, A. Ramila, J. Perez-Pariente, I. Diaz, M. Vallet-Regi, *Chem. Mater.*, 2003, **15**, 500.
- [31] C. Tourne-Peteilh, D. Brunel, S. Begu, B. Chiche, F. Fajula, D.A. Lerner, J.M. Devoisselle, *New J. Chem.*, 2003, **27**, 1415.
- [32] A. Vinu, K.Z. Hossain, K.J. Ariga, *Nanosci. Nanotechnol.*, 2005, **5**, 347.
- [33] A. Vinu, T. Mori, K. Ariga, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 2006, **7**, 753.
- [34] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Research.*, 1990, **24**, 721.
- [35] M. Manzano, V. Aina, C.O. Arean, F. Balas, V. Cauda, M. Colilla, M.R. Delgado, M. Vallet-Regi, *Chem. Eng. J.*, 2008, **137**, 30.
- [36] C. Charnay, S. Begu, C. Tourne-Peteilh, L. Nicole, D.A. Lerner, J.M. Devoisselle, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2004, **57**, 533
- [37] C.A. Aerts, E. Verraedt, R. Mellaerts, A. Depla, P. Augustijns, J. Van Humbeeck, G. Van den Mooter, J.A. Martens, *J. Phys. Chem. C.*, 2007, **111**, 13404.
- [38] T. Heikkila, J. Salonen, J. Tuura, N. Kumar, T. Salmi, D.Y. Murzin, M.S. Hamdy, G. Mul, L. Laitinen, A.M. Kaukonen, J. Hirvonen, V.P. Lehto, *Drug Delivery.*, 2007, **15**, 337.
- [39] T. Linnell, J. Riikonen, J. Salonen, A.M. Kaukonen, L. Laitinen, J. Hirvonen, V.P. Lehto, *Int. J. Pharm.*, 2007, **343**, 141.
- [40] T. Azais, C. Tourne-Peteilh, F. Aussenac, N. Baccile, C. Coelho, J.M. Devoisselle, F. Babonneau, *Chem. Mater.*, 2006, **18**, 6382.
- [41] K.A. Fisher, K.D. Huddersman, M.J. Taylor, *Chem. A Eur. J.*, 2003, **9**, 5873.
- [42] Q. Tang, Y. Xu, D. Wu, Y. Sun, *J. Solid State Chem.*, 2006, **179**, 1513.
- [43] D. Zhao, Q. Huo, J. Feng, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 6024.
- [44] D. Zhao, J. Feng, Q. Huo, N. Melosh, G.H. Fredrickson, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, *Science*, 1998, **279**, 548.
- [45] A.L. Doadrio, E.M.B. Sousa, J.C. Doadrio, J. Perez-Pariente, I. Izquierdo-Barba, M. Vallet-Regi, *J. Control. Release.*, 2004, **97**, 125.
- [46] M. Colic, K. Pavelic, *J. Mol. Med.*, 2000, **78**, 333.
- [47] K. Pavelic, M. Hadzija, L. Bedrica, I. Dikic, M. Katic, M. Kralj, M. Bosnar Herak, S. Kapitanovic, M. Poljak-Blazi, S. Krizanac, R. Stojkovic, M. Jurin, B. Subotic, M. Colic, *J. Mol. Med.*, 2001, **78**, 708.
- [48] S. Ivkovic, D. Zabcic, *Free. Rad. Biol. Med.*, 2002, **33**, S331.
- [49] S. Ivkovic, P. Bendzko, J. Schulz, *Free. Rad. Biol. Med.*, 2004, **37**, S173.
- [50] G. Rodriguez-Fuentes, A.R. Denis, M.A.B Alvarez, A. Iraizoz Colarte, *Micropor. Mesopor. Mater.* 2006, **94**, 200.
- [51] A. Rivera, G. Rodriguez-Fuentes, E. Altshuler, *Micropor. Mesopor. Mater.*, 1998, **24**, 51.
- [52] K.L. Watkins, L.L. Southern, *Poultry Sci.* 1992, **71**, 1048.
- [53] C.R. O'Neill, D.E. Beving, W. Chen, Y. Yan, *AIChE Journal*, 2006, **52**, 1157.
- [54] D.E. Beving, C.R. O'Neill, Y. Yan, *Micropor. Mesopor. Mater.* 2008, **108**, 77.
- [55] P. Rusin, K. Bright, C. Gerba, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **36**, 69.
- [56] K. Bright, C. Williams, M.A. Kenward, I. Radecka, *J. App. Microbiol.* 2008, **104**, 1516.
- [57] S. Suarez, A. Devaux, J. Banuelos, O. Bossart, A. Kunzmann, G. Calzaferrri, *Adv. Funct. Mat.*, 2007, **17**, 2298.
- [58] R. Francis, 2007, US Patent 20070259017.
- [59] R. Niira, T. Yamamoto, M. Uchida, 1996, US Patent 5556699.

- [60] J.E. Barry, J.A. Trogolo, 2006, US Patent 6582715.
- [61] M. Kralj, K. Pavelic, EMBO Reports 2003, **4**, 1008.
- [62] M. Hotta, H. Nakajima, K. Yamamoto, M. Aono, J. Oral Rehabil., 1998, **25**, 485.
- [63] M. Grce, K. Pavelic, Micropor. Mesopor. Mater., 2005, **79**, 165.
- [64] G. Rodriguez-Fuentes, M.A. Barrios, A. Iraizoz Colarte, I. Perdomo, B. Cedre, Zeolites, 1997, **19**, 441.
- [65] K. Pavelic, M. Katic, V. Sverko, T. Marotti, B. Bosnjak, T. Balog, R. Stojkovic, M. Radacic, M. Colic, M. Poljak-Blazi, J. Cancer. Res. Clin. Oncol., 2002, **128**, 37.
- [66] A.J. Ramos, J. FinkGremmels, E. Hernandez, J. Food. Prot., 1996, **59**, 631.
- [67] X.F. Hyrsey, F.J. Dechene, 1989, US Patent 4822349.

Praca wpłynęła do Redakcji 23 kwietnia 2009

DESMURAMYLOPEPTYDY
– STRUKTURA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

DESMURAMYLPEPTIDE
– STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY

**Krystyna Dzierzbicka^{1*}, Karol Sągol¹,
Anna Wardowska², Piotr Trzonkowski²**

¹ *Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska,
ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk*

² *Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii,
Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk
e-mail: kd@chem.pg.gda.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Analogi desmuramylopeptydów – zależność struktura–aktywność (SAR)

1.1. FK-156 i jego pochodne

1.2. Ftalimido-DMPs

1.3. Adamantylo-DMPs i inne

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr hab. inż. Krystyna Dzierzbicka, prof. nadzw. PG w roku 1985 ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, w specjalności Chemia i Technologia Organiczna. W tym samym roku podjęła pracę w Katedrze Chemii Organicznej PG, gdzie pracuje do chwili obecnej. W 1994 roku obroniła pracę doktorską, a w 2005 r. otrzymała tytuł doktora habilitowanego nauk chemicznych. Jest współautorem kilkunastu prac dotyczących syntezy i projektowania koniugatów muramyllopeptydów i desmuramyllopeptydów ze związkami o stwierdzonej lub domniemanej aktywności biologicznej, pochodnych akrydyny, akrydonu, batracyliny, antrachinonów oraz tuftsyny. Obecnie zajmuje się projektowaniem i syntezą inhibitorów angiogenezy oraz związków immunosupresyjnych.

Dr hab. med. Piotr Trzonkowski – aktywnie zajmuje się immunologią od 1997 roku. Specjalizacje: główna – immunologia, dodatkowe – histologia, transplantologia. Jest kierownikiem Zakładu Immunologii Klinicznej i Transplantologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Obecnie jego zainteresowania naukowe dotyczą roli komórek regulatorowych w odporności i możliwości ich zastosowania w terapii immunosupresyjnej po przeszczepach allogenicznych i w chorobach autoimmunologicznych. Prowadzi badania nad wykorzystaniem nowych związków immunosupresyjnych w terapii po przeszczepach narządowych. Zajmuje się też opisem funkcjonowania układu immunologicznego osób przewlekle hemodializowanych oraz po przeszczepie allogenicznym nerki oraz zaburzeń działania układu immunologicznego osób starszych.

Dr Anna Wardowska w roku 2005 ukończyła studia na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku. W 2009 roku obroniła pracę doktorską i podjęła pracę w Zakładzie Immunologii Klinicznej i Transplantologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Obecnie zajmuje się badaniem właściwości immunomodulacyjnych nowych połączeń muramylodipeptydu (MDP) z pochodnymi tuftsyny i retro-tuftsyny.

Mgr Karol Sągol w roku 2009 ukończył studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego na kierunku Chemia, o specjalności Chemia Biologiczna. Obecnie studiuje na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej na kierunku Technologia Chemiczna.

ABSTRACT

Bacterial cell wall peptidoglycan (PGN) is a potent immunostimulator and immune adjuvant. Numerous studies reported on immunoactivities of bacterial PGN, most of which have been reproduced by a chemically synthesized low-molecular PGN fragment, muramyl dipeptide (MDP) **1** (Fig. 1) [2, 4, 5, 7, 8, 10, 13]. Another type of PGN fragment, desmuramylpeptides (DMPs), has also been chemically synthesized to mimic PGN containing *meso*-DAP, and the DMPs exerted similar bioactivities to MDP. In 1984 [18] reported that γ -D-Glu-*meso*-DAP was the minimum structural unit capable of eliciting bioactivities induced by DMPs. Recently demonstrated that intracellular protein carrying a nucleotide-binding oligomerization domain (NOD), NOD2 an intracellular receptor for MDP and DMPs containing DAP was recognized by another NOD protein, NOD1 [8, 33]. Replacement of the *N*-acetylmuramyl moiety with various acyl groups thus represents an important approach to the design and synthesis of new immunologically active MDP analogues – desmuramylpeptides, e.g. FK-156 **9**, pimelautide **11** (Fig. 2), 7-(oxoacyl)-L-alanyl-D-isoglutamines, carbocyclic MDP analogues (Fig. 13) [3, 13] in which a more lipophilic cyclohexane ring is present instead of the polyhydroxy pyranose ring of D-glucosamine, and the adamantyl-substituted MDP analogue LK-415 (Fig. 8) [54]. The FK-156 isolated from *Streptomyces olivaceogriseus* [21, 22] and its synthetic analogue of FK-565 **10** (Fig. 2) have been reported to be a potent stimulant of antibody production and free of pyrogenicity. These compounds with close structural resemblance to bacterial cell wall peptidoglycan peptides, exhibit very interesting biological activities. Both FK-156 **10** and FK-565 **11** (Fig. 3) enhance host defense ability against microbial infections, exhibit strong antiviral activity and remarkable antitumor potency [2, 13, 14, 18].

Also other acyl-DMPs were obtained and their activity described (Table 1). The most promising DMPs analogues were series of phthalimido-DMPs **46-53** (Fig. 7). In these compounds *N*-acetylmuramic acid residue was replaced by various *N*-phthaloylated amino acids [42–49] or phthalimido substituted aminoethoxyacetic acid to give immunologically active acyclic MDP analogues like LK-423 **46** (LK-413 **47**, LK-511 **48**, LK-512 **49**, LK-508 **50**) (Fig. 7) [42, 47–49]. LK-423 has been selected for further studies to develop an anti-inflammatory pharmaceutical agent. In 2001 Gobec *et al.* [54] reported the synthesis of new adamantyl-DMPs LK-415 **55** and LK-517 **56** (Fig. 8) with 1-adamantyl-carboxamido moiety replacing *N*-acetylglucosamine fragment in MDP. Their efficiency in modulating the production of cytokines IL-12, TNF α , IFN γ , IL-4, and IL-10 was measured *in vitro* in ionomycin and PMA activated cultures of PBMC, co-incubated with the analogues tested. The results were compared with the activity of MDP. All substances were strong regulators of IL-12 synthesis and IFN γ synthesis as well. Introduction of diethyl phosphonate moiety into LK-517 was of great importance for augmented T-cell cytokine production. Dzierzbicka *et al.* [55] described synthesis of three analogues of DMPs **57a,b**, **58** modified with an amino-acridine/acridone residue. The screening data indicate that the analogues **57a,b** and **58** (Fig. 9) exhibit low cytotoxic activity. Uehara *et al.* [59] reported MDP and DAP-containing desmuramylpeptides in combination with chemically synthesized Toll-like receptor agonists (Fig. 10) synergistically induced production of IL-8 in a NOD2- and NOD1-dependent manner, respectively, in human monocytic cells in culture. In 2008 Kawasaki *et al.* [33] designed synthesis of DAP containing PGN fragments and tracheal cytotoxin (TCT) (Fig. 5) and investigated their biological activity. Recently, *N*-acetylglucosamine-1,6-anhydro-*N*-acetylmuramylpentapeptide (Fig. 12) and evaluation of its turnover by AmpD from *Escherichia coli* has been reported [61]. The synergism of MDP and DMPs with other chemotherapeutics is also promising in the therapy of many infectious and anticancer diseases.

This paper reviews the most important approaches to desmuramylpeptides (DMPs), their derivatives and displays structure-reactivity relationships of these compounds.

Keywords: desmuramylpeptides, DMPs, FK-156, FK-565, DAP, structure, biological activity

Słowa kluczowe: desmuramylpeptydy, DMPs, FK-156, FK-565, DAP, struktura, aktywność biologiczna

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Ac	– acetyl
AIDS	– nabyty zespół niedoboru odpornościowego (ang. <i>acquired immunodeficiency syndrome</i>)
AZT	– 3'-azydo-3'deoksytymina, lek stosowany w terapii AIDS
BCG	– atenuowany szczep prątka bydlęcego gruźlicy, zaadaptowany jako szczepionka przeciw gruźlicy u człowieka (<i>Bacillus Calmette-Guerin</i>)
Bn	– benzyl
Boc	– <i>tert</i> -butyloksykarbonyl
Boc ₂ O	– diwęglan di- <i>tert</i> -butylowy
B30-MDP	– 6- <i>O</i> -(2-tetradecyloheksadekanoilo)- <i>N</i> -acetylo-muramylo-L-alanylo-D-izoglutamina
DAP	– kwas 2,6-diaminopimelinowy
DCC	– dicykloheksylokarbodiimid
DIPAD	– azodikarboksylan diizopropylowy
DMAP	– 4-(<i>N,N</i> -dimetyloamino)-pirydyna
DMF	– <i>N,N</i> -dimetyloformamid
DMPs	– desmuramylopeptydy
EBV	– wirus Epstein-Barra
EDCI	– chlorowodorek 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl) karbodiimidu
FK-156	– D-laktylo-L-alanylo- γ -D-glutamyl-(L)- <i>mezo</i> -2,6-diaminopimelilo-(L)-glicyna
FK-565	– <i>N</i> -heptanoilo- γ -D-glutamyl-(L)- <i>mezo</i> -2,6-diaminopimelilo-(L)-D-alanina
HBV	– wirus zapalenia wątroby typu B
HIV	– ludzki wirus niedoboru odpornościowego (ang. <i>human immunodeficiency virus</i>)
HOBt	– 1-hydroksybenzotriazol
HSV	– wirus opryszczki zwykłej
IFN γ	– interferon γ
iE-DAP	– kwas γ -D-glutamyl- <i>mezo</i> -diaminopimelinowy (γ -D-Glu- <i>mezo</i> -DAP)
IL	– interleukina
LK-409	– 7-oksooktanoilo-L-alanylo-D-izoglutamina
LK-413	– <i>N</i> -(5-ftalimidopentanoilo)-L-alanylo-D-izoglutamina
LK-415	– kwas <i>N</i> -(2-(2[(1-adamantylokarbonylo)amino]etoksy)acetylo)-L-alanylo-D-izoglutaminowy
LK-423	– kwas <i>N</i> -[2-(2-ftalimidoetoksy)acetylo]-L-alanylo-D-glutaminowy

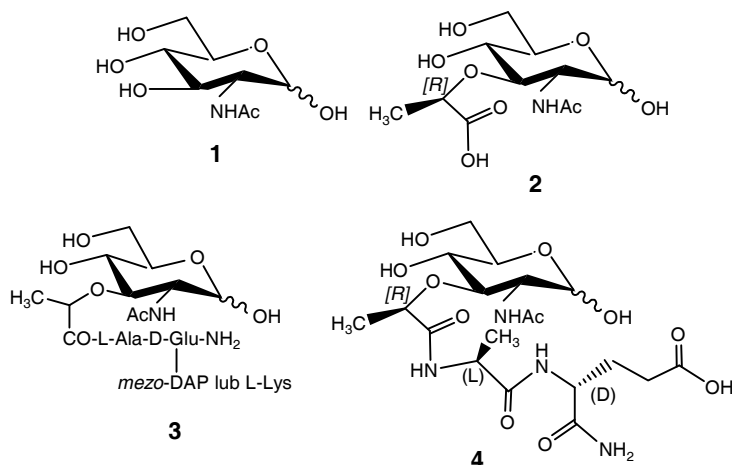
LK-508	– <i>N</i> -(5-ftalimidopentanoilo)- <i>D</i> -alanylo- <i>D</i> -izoglutamina
LK-511	– <i>N</i> -[(4-ftalimidobutylo)metylofosfonylo]- <i>L</i> -alanylo- <i>D</i> -izoglutamina
LK-512	– kwas 4-dietylofosfonylo-2-{{(5-ftalimidopentanoilo)- <i>L</i> -alanylo]amino}butanowy
LK-517	– (2 <i>S</i> , <i>R</i>)-2-([(2 <i>S</i>)-2-([5-(1-adamantylokarbonylo)amino]pentanoilo)amino]propanoilo)amino]4-(dietoksyfosforylo)butanolan
LPS	– lipopolisacharydy bakterii Gram(-)
M-CSF	– czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów
MDP	– <i>N</i> -acetylo-muramylo- <i>L</i> -alanylo- <i>D</i> -izoglutamina, muramylodipeptyd
MDP-Lys(L-18)	– <i>N</i> ² -[<i>N</i> -(acetylomuramylo)- <i>L</i> -alanylo- <i>D</i> -isoglutaminylo]- <i>N</i> ⁶ -stearoilo- <i>L</i> -lizyna
MDP[Thr]	– <i>N</i> -acetylo-muramylo- <i>L</i> -treonylo- <i>D</i> -izoglutamina
MeOH	– metanol
MTP-PE	– <i>N</i> -acetylo-muramylo- <i>L</i> -alanylo- <i>D</i> -izoglutaminylo- <i>L</i> -alanylo-2-(1',2'-dipalmitoilo- <i>sn</i> -glicerolo-3'-hydroksyfosforyloksy)etyloamid
murabutyd	– ester α - <i>n</i> -butylowy <i>N</i> -acetylo-muramylo- <i>L</i> -alanylo- <i>D</i> -glutaminy
NK	– naturalne komórki zabójcze (ang. <i>natural killer cells</i>)
NOD	– rodzina receptorów wewnątrzkomórkowych (ang. <i>nucleotide-oligomerization domain</i>)
nor-MDP	– <i>N</i> -acetylo-nor-muramylo- <i>L</i> -alanylo- <i>D</i> -izoglutamina
Novozym 435	– lipaza z <i>Candida antarctica B</i>
P-388	– mysie komórki białaczki limfatycznej
PDC	– dichromian pirydyny
pimelautide	– laurylo-alanylo- γ - <i>D</i> -glutaminylo- <i>L</i> -diaminopimeliloamidoglicyna
PGN	– peptydoglikan
PGRP	– peptydoglikan rozpoznający białko LE i LC
PMA	– octan mirystoilo-forbolu
SAF	– emulsja O/W zawierająca 5% skwalenu, 0.2% detergentu <i>Tween 80</i> i 2,5% <i>Pluronic L121</i> ; w niektórych wersjach zawiera on syntetyczną, niepirogenną pochodną MDP (MDP[Thr]), (ang. <i>Syntex adjuvant formulation</i>)
TCT	– cytotoksyna tchawicza [GlcNAc-(β 1-4)-(anhydro)MurNAc- <i>L</i> -Ala- γ - <i>D</i> -Glu- <i>mezo</i> -DAP- <i>D</i> -Ala]
TEA	– trietyloamina
THF	– tetrahydrofuran
TLR	– receptory Toll podobne (<i>Toll-like receptors</i>)

TMSCHN ₂	– trimetylosililodiazometan
TNF α	– czynnik martwicy nowotworu (ang. <i>tumor necrosis factor alfa</i>)
Z	– benzyloksykarbonyl

WPROWADZENIE

Skomplikowana patogeneza chorób nowotworowych oraz ciężkich zakażeń bakteryjnych znacznie utrudnia skuteczne leczenie pacjentów. Istnieje zatem potrzeba opracowania nowych strategii leczenia. Od kilkunastu lat coraz większym zainteresowaniem cieszy się immunoterapia, polegająca na wzmacnianiu naturalnych sił obronnych organizmu za pomocą immunostymulatorów. Jest to szczególnie ważne w przypadku chorób przebiegających z obniżonym poziomem odporności, takich jak różnego rodzaju (trudne do wyleczenia) infekcje, choroby nowotworowe, AIDS lub terapie hormonalne. Immunostymulatory stosowane w terapii możemy podzielić na: bakteryjne i izolowane z grzybów (np. LPS, BCG, lentinan, krestin, lewan), naturalne (np. cytokiny: IL-2, IL-12, IL-18, interferony, TNF, hormony grasicze, poliwalentne preparaty immunoglobulin, tuftsyna) oraz syntetyczne (MDP i jego analogi, bestatyna, polinukleotydy, lewamizol, imutiol, cymetydyna, retinoidy) [1]. Skoro ewolucja układu odpornościowego przebiega w bezustannej konfrontacji ze światem mikroorganizmów, dlatego to właśnie drobnoustroje, a w szczególności ich ściany komórkowe, są bogatym źródłem struktur stymulujących układ immunologiczny, takich jak: lipopolisacharydy, lipopeptydy, proteoglikany, peptydoglikany oraz ich fragmenty. Z tej szerokiej gamy związków na szczególną uwagę zasługują muramylopeptydy (MDP) i desmuramylopeptydy (DMPs), będące produktami powstającymi z peptydoglikanu (PGN) bakterii Gram ujemnych G(–) i Gram dodatnich G(+), uwalnianymi w czasie wzrostu i podziału bakteryjnego przez lizozym i amidazę [2, 3]. Peptydoglikan, zwany też mureiną, stanowi podstawową strukturę ściany komórkowej niemal wszystkich bakterii (wyjątek stanowią bakterie z rodzaju *Planctomyces*, *Pirellula*, *Mycoplasma* i *Anaplasma*) [4]. Jest on heteropolimerem zbudowanym z łańcuchów polisacharydowych usieciowanych poprzecznie mostkami peptydowymi [5, 6, 8]. W skład łańcucha polisacharydowego wchodzi na przemian ułożone reszty *N*-acetyloglukozaminy **1** (GlcNAc) i kwasu *N*-acetylmuraminowego **2** (MurNAc) (Rys. 1), połączone wiązaniami $\beta(1\rightarrow4)$ glikozydowymi. Składnikami mostków peptydowych mureiny (w zależności od szczepu bakterii) są reszty *L*-alaniny, kwasu *D*-glutaminowego, kwasu diaminopimelinowego (*mezo*, LL) lub *L*-lizyny oraz *D*-alaniny [7–9]. Kwasy DAP oraz *L*-Lys spełniają ważną rolę w powstawaniu usieciowanej struktury mureiny, ich grupy aminowe biorą udział w tworzeniu wiązań peptydowych, łącząc ze sobą dwa heteropolimeryczne łańcuchy. Zamiast kwasu DAP lub lizyny, może występować ornityna, lantionina, kwas diaminomasłowy albo hydroksypochoodne tych aminokwasów [10]. Najmniejszym fragmentem, jaki można otrzymać w wyniku enzymatycznej hydrolizy ściany komórkowej bakterii, jest muramylotripeptyd (MTP) **3** (Rys. 1). W 1974 roku zidentyfikowano [11], a w 1976 roku opisano syntezę muramylodipeptydu (MDP) **4** (Rys. 1) [12], który działał podobnie jak muramylotripeptyd (MTP). Jest więc on najmniejszym immunoaktywnym, syntetycznym związkiem, otrzymanym na wzór fragmentu ściany komórkowej *Mycobacterii* [rodzaj G+ pałeczek o specyficznej budowie ściany komórkowej, np. prątki gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), bakteria

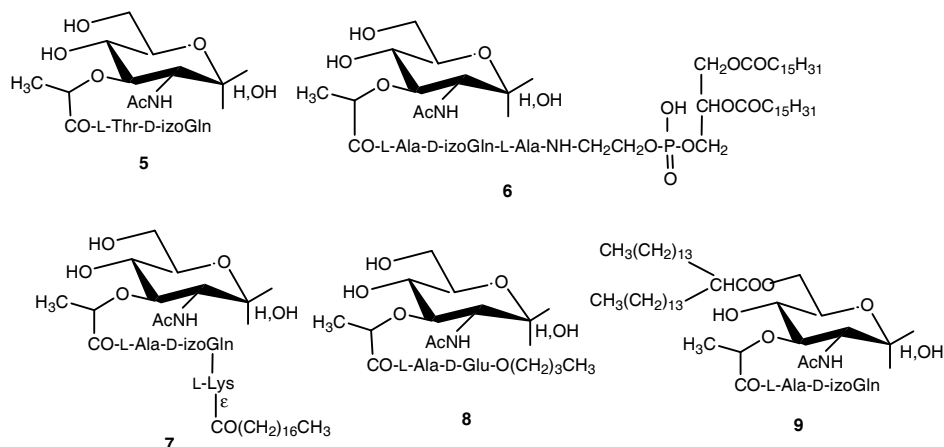
trądu (*Mycobacterium leprae*) oraz prątki atypowe (np. prątek wywołujący przewlekłą chorobę płuc lub bakteria odpowiedzialna za przewlekłe stany zapalne skóry).



Rysunek 1. Struktura GlcNAc **1**, MurNAc **2**, MTP **3** i MDP **4**

Figure 1. Structure of GlcNAc **1**, MurNAc **2**, MTP **3** and MDP **4**

Muramylopeptydy stymulują nie tylko funkcje makrofagów, ale wykazują również aktywność przeciwbakteryjną, przeciwnowotworową, oraz wzmacniają niespecyficzną, czyli naturalną odporność organizmu na różnego rodzaju infekcje [2, 3]. Zsyntetyzowano wiele pochodnych i analogów MDP, w celu określenia ich adiuwantowych i immunostymulacyjnych właściwości. Niektóre z nich znajdują się na etapie zaawansowanych badań klinicznych lub są stosowane w terapii, np. MDP[Thr] **5** (testowany, jako składnik jednego z najbardziej obiecujących adiuwantów SAF, w szczepionkach, np. HBV, EBV, HSV oraz przeciw wirusowi grypy), MTP-PE **6** (fosforowa pochodna, która silnie aktywuje makrofagi, wykazuje aktywność przeciwnowotworową i przeciwwirusową, jest testowana klinicznie w immunoterapii nowotworów), MDP-Lys(L-18) **7** (stymuluje odporność niespecyficzną, indukuje produkcję M-CSF, jest testowany jako adiuwant w szczepionkach oraz stosowany klinicznie, w celu skrócenia okresu leukopenii po chemioterapii), murabutyd **8** (skuteczny adiuwant, niepirogenny, testowany jako składnik szczepionek, np. w szczepionce przeciw opryszczce zwykłej) oraz B30-MDP **9** (aktywny adiuwant, mniej pirogeny od MDP, testowany jako składnik szczepionek, np. w szczepionce przeciw grypowej, wykazuje również silną aktywność przeciwnowotworową) (Rys. 2) [2, 3, 7, 8, 13–16].



Rysunek 2. Analogi MDP poddane badaniom klinicznym: MDP[Thr] 5, MTP-PE 6, MDP-Lys(L-18) (romurtid) 7, murabutyd 8 i B30-MDP 9 [2, 3]

Figure 2. Analogues of MDP in clinical trials: MDP[Thr] 5, MTP-PE 6, MDP-Lys(L-18) (romurtide) 7, murabutide 8 and B30-MDP 9 [2, 3]

Wśród innych fragmentów bakteryjnych ścian komórkowych, które wzbudzają duże zainteresowanie, są tak zwane desmuramylopeptydy (DMPs). Są to cząsteczki nie zawierające reszty kwasu muraminowego. Migliore-Samour i in. [17] jako pierwsi wykazali, że fragmenty mureiny pozbawione kwasu muraminowego posiadają aktywność immunologiczną. Wyizolowali oni ze *Streptomyces stimulosus* tetrapeptyd (L-Ala-D-izoGln-LL-DAP ← Gly) i połączyli go z kwasem laurynowym, otrzymując związek LTP (*N*-[*N*-lauroilo-L-Ala]- γ -D-Glu]-*N*-Gly-DD,LL-2,6-DAP), który powodował opóźnioną nadwrażliwość na owalbuminy i chronił myszy przeciw infekcji *Listeria monocytogenes*. Właściwości MDP i LTP były porównywalne [18], z tym tylko, że MDP bardziej uwydatniał odpowiedź przeciwciał, a LTP okazał się skuteczniejszy w indukowaniu reakcji nadwrażliwości typu późniejszego (DTH).

W niniejszym artykule poświęcono uwagę desmuramylopeptydom, które z uwagi na swoje właściwości farmakologiczne, takie jak stymulowanie niespecyficznej odporności przeciwbakteryjnej, aktywność przeciwwirusową (w tym przeciw retrowirusom) i przeciwnowotworową oraz synergistyczne oddziaływanie z innymi chemoterapeutykami, stanowią interesującą grupę związków.

1. ANALOGI DESMURAMYLOPEPTYDÓW – ZALEŻNOŚĆ STRUKTURA–AKTYWNOŚĆ (SAR)

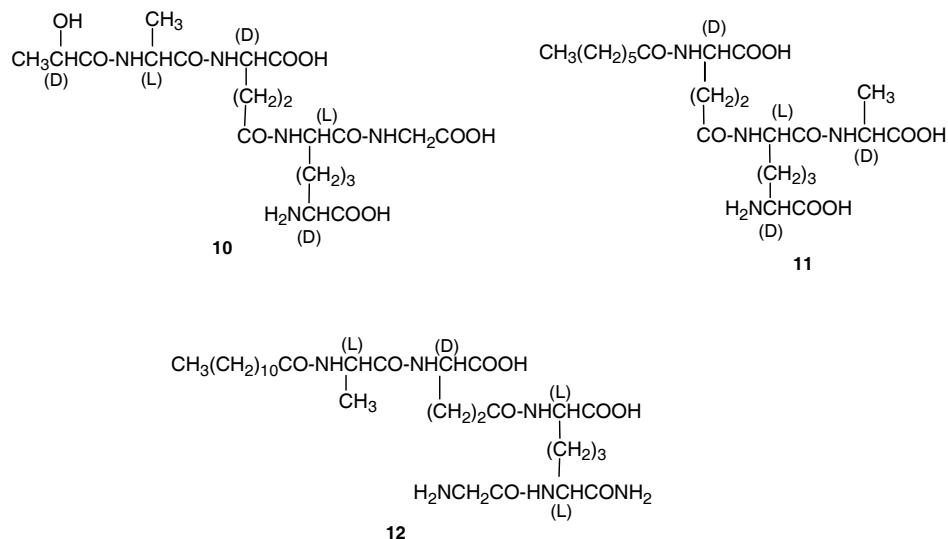
Badania zależności struktura–aktywność potwierdziły hipotezę, że część peptydowa muramylopeptydów odpowiada za aktywność immunomodulacyjną, podczas gdy część *N*-acetylo-muramylova może być zastąpiona przez inne ugrupowania [2], np. L-Ala-D-izoGln-L-Ala-OCH₂CHOHCH₂O–mykolan pozbawiony kwasu murami-

nowego, podobnie jak MurNAc **2** (Rys. 1), stymulował niespecyficzną aktywność przeciwbakteryjną [18]. Stwierdzono również, że można rozdzielić efekty immunomodulujące od pirogennych, np. murabutyd **8** (Rys. 2) [19, 20] wykazuje aktywność immunostymulującą, z jednoczesnym ograniczeniem właściwości pirogennych. Modyfikacje desmuramylopeptydów stwarzają możliwość znalezienia analogów o silnych właściwościach przeciwnowotworowych lub/i przeciwwirusowych, w tym anty-HIV, oraz o lepszych własnościach farmakologicznych. Okazało się, że obecność kwasu DAP jest niezbędna do zachowania przeciwbakteryjnej aktywności, np. dipeptyd D-Glu-*mezo*-DAP, i jego kaproilo- i stearoilo-pochodne były tak samo aktywne jak naturalny DMPs, FK-156 **10** (Rys. 3). Stearoilowa pochodna, chociaż bez wpływu na reakcje DTH u świnek morskich, wykazywała silniejszy efekt hamujący przeciw *Meth-A fibrosarcoma* u myszy [18].

Badania zależności struktura–aktywność (SAR) wykazały, że modyfikacje w części acylującej kwas diaminopimelinowy, zastąpienie reszty *mezo*-DAP kwasem LL-DAP lub L-Lys czy innymi aminokwasami, oraz wydłużenie łańcucha peptydowego o fragmenty występujące w ścianie komórkowej lub inne, znacznie wpływają na aktywność biologiczną DMPs.

1.1. FK-156 I JEGO POCHODNE

W latach osiemdziesiątych XX wieku wyizolowano z przesączu hodowli *Streptomyces olivaceogriseus* i *Streptomyces violaceus* immunoaktywny peptyd FK-156 **10**, a później otrzymano jego lipofilowe analogi FK-565 **11** i pimelautyd **12** (Rys. 3) [3, 21, 22].

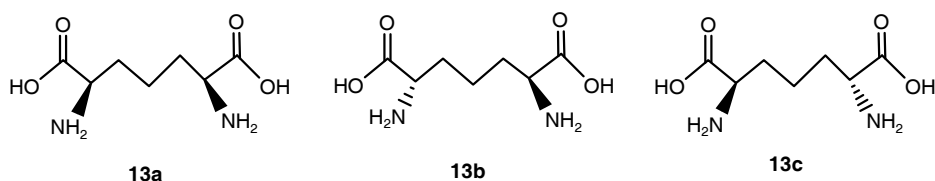


Rysunek 3. Desmuramylopeptydy: FK-156 **10**, FK-565 **11** i pimelautyd **12**

Figure 3. Desmuramylopeptides: FK-156 **10**, FK-565 **11** and pimelautide **12** [2, 3]

FK-156 **10** okazał się nie tylko silnym adiuwantem, ale stymulował również fagocytarne funkcje układu siateczkowo-śródbłonkowego u zwierząt, odpowiedzialnego za mechanizmy obronne skierowane przeciw infekcjom bakteryjnym, np. *E. coli*. [18]. FK-156 i niektóre jego analogi, np. FK-565 wykazują także aktywność przeciwnowotworową, np. hamują wzrost guza P388 w syngeneicznych DBA/2 myszach [23]. FK-565 **11** wykazuje również aktywność w stosunku do złośliwych nowotworów krwi, w tym białaczki oraz chłoniaka [3]. FK-156 **10** jak i FK-565 **11** podawany myszom zdrowym i z zaaplikowanym środkiem immunosupresyjnym, zwiększają liczbę fagocytów zarówno we krwi obwodowej, jak i w jamie otrzewnowej. Wspomagają one proces fagocytozy i inne funkcje makrofagów, produkcję O_2 , zwiększają intensywność endocytozy, aktywność lizosomów oraz retikulum endoplazmatycznego [24–27].

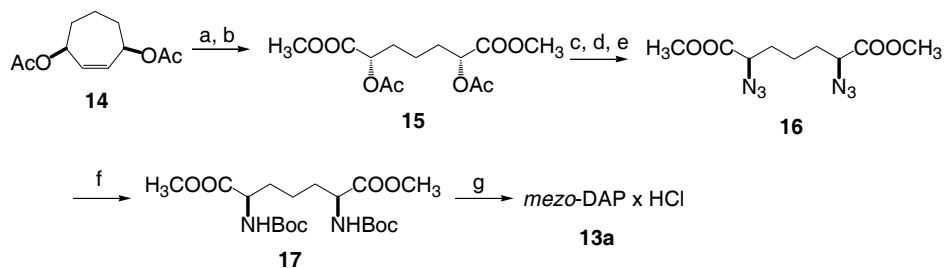
Po zidentyfikowaniu struktury FK-156 **10** przystąpiono do opracowania syntezy tego desmuramylopeptydu i jego analogów, w której najwięcej trudności sprawia otrzymywanie kwasu *mezo*-DAP, chronionego w sposób umożliwiający przeprowadzenie reakcji na dowolnie wybranej grupie funkcyjnej [3]. Kwas 2,6-diaminopimelinowy (DAP) **13a–c** (Rys. 4) jest symetrycznym α,α' -diaminodikarboksylowym kwasem, występującym w trzech stereoisomerycznych formach: *mezo*- **13a**, (*S,S*)- **13b** i (*R,R*)-DAP **13c**. *mezo*-DAP i (*S,S*)-DAP są prekursorami w biosyntezie L-Lys u bakterii i wyższych roślin, *mezo*-DAP jest także głównym składnikiem peptydoglikanów większości patogennych bakterii [28]. Substrat ten był przez długi czas otrzymywany bądź przez rozdział jego diastereoizomerycznych pochodnych, bądź enzymatycznie. Metoda enzymatyczna polegała na hydrolizie ugrupowania Boc-hydrazydowego przy centrum *S* z wykorzystaniem nerkowej leucyno-aminopeptydazy lub aminopeptydazy izolowanej ze *Streptomyces sapporonensis* [29, 30]. Takie samo ugrupowanie, pozostające przy centrum *R*, stwarza znaczne trudności przy deprotekcji produktu końcowego, ponieważ nie jest typową osłoną peptydową. Kołodziejczyk i in. [31] zaproponowali metodę, w której wykorzystano proteazę z *Bacillus licheniformis*, enzym stereoselektywnie hydrolizujący ugrupowania estrowe przy centrum *S*, używane jako typowe osłony peptydowe.



Rysunek 4. Struktura *mezo*-DAP **13a**, (*S,S*)-DAP **13b** i (*R,R*)-DAP **13c**
 Figure 4. Structure of *mezo*-DAP **13a**, (*S,S*)-DAP **13b** and (*R,R*)-DAP **13c**

Inne metody syntezy DAP zostały szczegółowo opisane przez Dzierzbicką [28]. W tym miejscu omówimy ostatnio opublikowane. Saito i in. [32] opracowali stereoselektywną syntezę kwasu *mezo*-, (*S,S*)- i (*R,R*)-DAP, wykorzystującą *cis*-1,4-diace-

toksycyklohepta-2-en. *mezo*-DAP otrzymano w wyniku utleniającego rozszczepienia pierścienia *cis*-1,4-diacetoksy-cyklohepta-2-enu **14**, katalizowanego RuCl_3 , w obecności NaIO_4 (Schemat 1). Tak otrzymany kwas dikarboksylowy, poddany działaniu TMSCHN_2 , daje ester dimetylowy **15**. Po chemoselektywnej hydrolizie 0.1 M NaOMe/MeOH i przekształceniu w diazydki **16** oraz hydrogenolizie katalizowanej Pd(OH)_2 w obecności Boc_2O , otrzymano *N*-Boc-DAP **17**, który po deprotekcji 6N HCl daje *mezo*-DAP **13a** w postaci chlorowodorku.



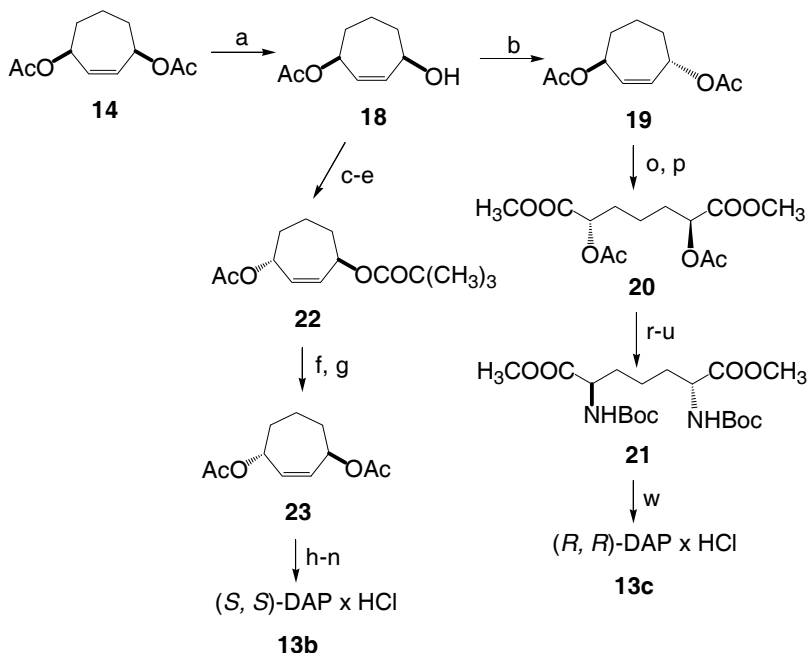
- a: kat. RuCl_3 , NaIO_4 , $\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$
 b: TMSCHN_2 , CH_3OH
 c: 0.1 M NaOCH_3 , CH_3OH
 d: $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, pirydyna, CH_2Cl_2
 e: NaN_3 , DMF
 f: H_2 , kat. Pd(OH)_2 , Boc_2O , CH_3OH
 g: 6N HCl

Schemat 1. Synteza *mezo*-DAP opisana przez Saito i in. [32]

Scheme 1. Synthesis of *mezo*-DAP described by Saito et al. [32]

Natomiast do syntezy (*S,S*)- i (*R,R*)-DAP wykorzystano chiralny monoocetan **18**, otrzymany z *mezo*-dioctanu **14**, w wyniku enzymatycznej asymetryzacji *Novozymem* 435 w buforze fosforanowym (Schemat 2) [32].

W 2008 roku Kawasaki i in. [33] opisali inną drogę otrzymywania selektywnie chronionego *mezo*-DAP, który następnie wykorzystano do syntezy fragmentów PGN **24a–d** oraz cytotoksyny tchawiczej (TCT) **25** i jej fragmentów **26a–c** (Rys. 5).

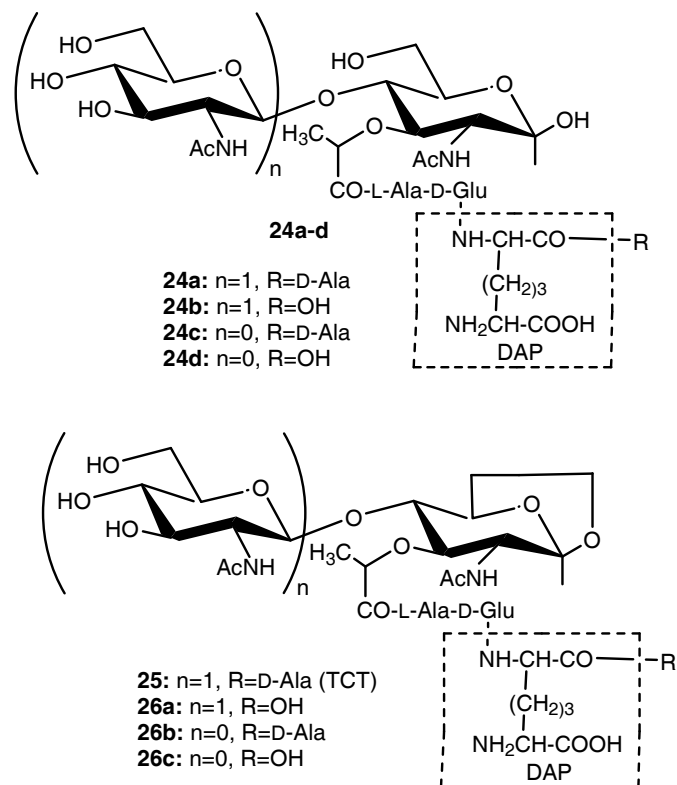


a: *Novozym 435*, bufor fosforanowy
 c: $(\text{CH}_3)_3\text{CCOCl}$, pirydyna
 d: 0.1 M, NaOCH_3 , CH_3OH
 e: AcOH , PPh_3 , $i\text{Pr}_2\text{OOCN}=\text{NCOO}i\text{Pr}_2$, THF
 f: LiAlH_4 , THF
 g: Ac_2O , pirydyna
 h: kat. RuCl_3 , NaIO_4 , $\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$
 i: TMSCHN_2 , CH_3OH
 j: 0.1 M, NaOCH_3 , CH_3OH
 k: $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, pirydyna, CH_2Cl_2
 l: NaN_3 , DMF
 m: H_2 , kat. $\text{Pd}(\text{OH})_2$, Boc_2O , CH_3OH
 n: 6N HCl

b: AcOH , PPh_3 , $i\text{Pr}_2\text{OOCN}=\text{NCOO}i\text{Pr}_2$, THF
 o: kat. RuCl_3 , NaIO_4 , $\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$
 p: TMSCHN_2 , CH_3OH
 r: 0.1 M, NaOCH_3 , CH_3OH
 s: $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, pirydyna, CH_2Cl_2
 t: NaN_3 , DMF
 u: H_2 , kat. $\text{Pd}(\text{OH})_2$, Boc_2O , CH_3OH
 w: 6N HCl

Schemat 2. Synteza (*S,S*)-DAP i (*R,R*)-DAP opisana przez Saito i in. [32]

Scheme 2. Synthesis of (*S,S*)-DAP and (*R,R*)-DAP described by Saito et al. [32]

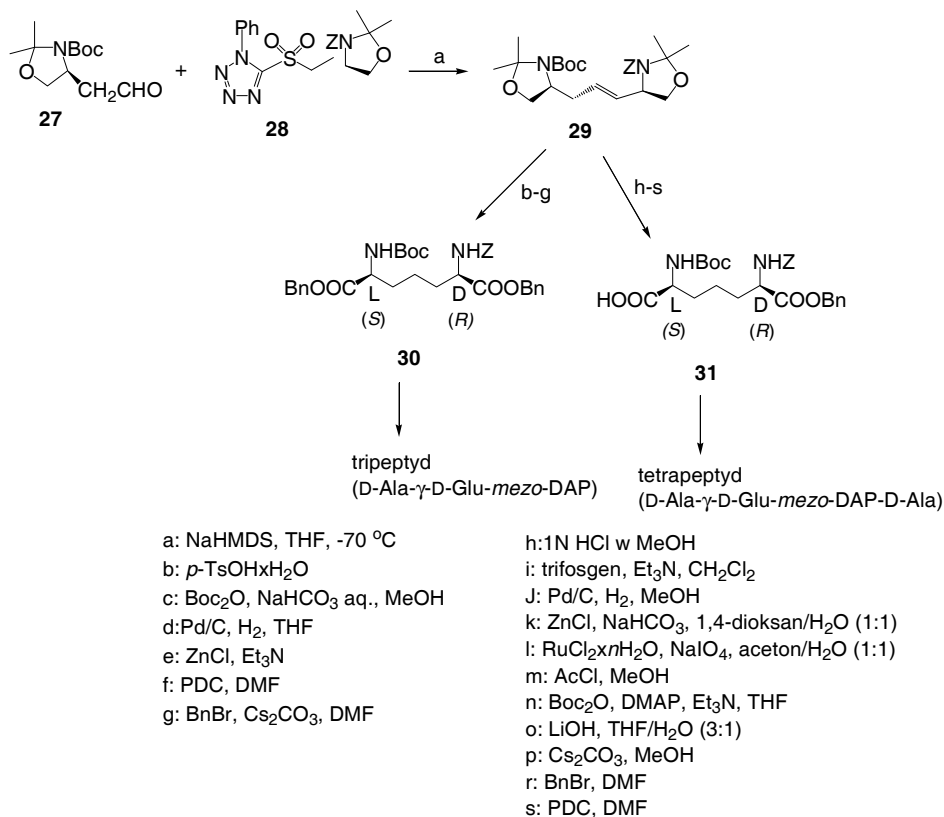


Rysunek 5. Fragmenty PGN **24a-d**, cytotoksyna tchawicza **25** oraz jej fragmenty **26a-c** [33]
 Figure 5. Fragments of PGN **24a-d**, tracheal cytotoxin **25** and its fragments **26a-c** [33]

Zastosowali oni zmodyfikowaną metodę Blakemore i in. [34], wykorzystując aldehyd **27** i sulfon **28**, będące pochodnymi D-seryny (Schemat 3). Reakcja zachodziła bez epimeryzacji, dając kluczowy intermediat **29**, który przekształcano w chroiony *mezo*-DAP **30** i **31**. Związek **30** wykorzystano do syntezy tripeptydu (D-Ala- γ -D-Glu-*mezo*-DAP), a **31** – tetrapeptydu (D-Ala- γ -D-Glu-*mezo*-DAP-D-Ala), stosując EDCI jako odczynnik sprzęgający w obecności HOBt i TEA. Tak otrzymane peptydy łączono z fragmentami cukrowymi i wykorzystano do badania mechanizmów oddziaływania PGN na system immunologiczny.

Zsyntetyzowano i opisano aktywność immunologiczną serii acylo-pochodnych DMPs, zawierających połączenia D-Glu z DAP lub L-Lys [18, 35–37]. Najciekawsze okazały się związki FK-565 **11**, FR-46758 **32**, FR-48217 **33**, FR-46091 **34** oraz FR-47920 **35** (Tab. 1), które w dawkach od 10 do 100 μg , inhibitowały 25–50% wzrost komórek nowotworowych P388, jednak bez wpływu na wydłużenie czasu przeżycia myszy [35]. Natomiast FR-46091 **34** oraz FR-47920 **35** były nieaktywne. Zbadano także efektywność terapii w zależności od wielokrotności stosowanych dawek (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 i 10 dniu). Okazało się, że jedynie FK-565 **11** inhibitował wzrost komórek nowotworowych, powodując znaczną utratę wagi myszy.

Podobnym testom poddano FK-156 **10** i FR-46758 **32** zwiększając wielkość użytych dawek z 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 25 mg/kg . Najbardziej aktywną pochodną we wszystkich eksperymentach okazał się FK-156 **10**.



Schemat 3. Synteza *meso*-DAP opisana przez Fujimoto i in. [33]

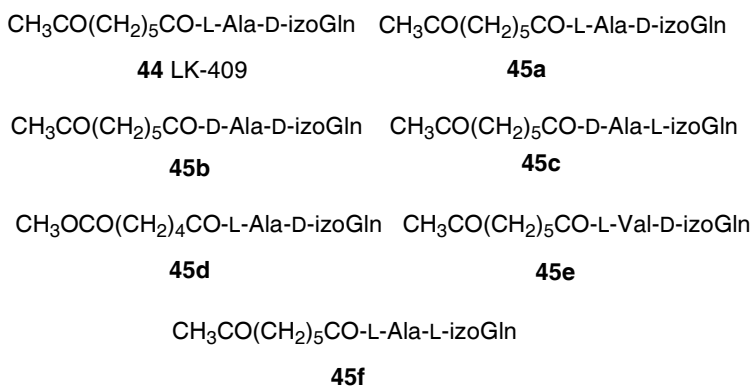
Scheme 3. Synthesis of *meso*-DAP described by Fujimoto et al. [33]

Acylo-DMPs stymulowały aktywność przeciwnowotworową makrofagów [36]. Pochodne FR-39868 **36**, FR-41571 **37**, FR-42148 **38** i FR-47920 **35**, zamknięte w liposomach w 800-krotnie mniejszych stężeniach, wykazywały aktywność przeciwnowotworową, w porównaniu z niekapsułkowanymi związkami. Zbadano również ich właściwości synergistyczne z IFN γ w aktywowaniu ludzkich monocytów [37]. Okazało się, że tylko FR-42148 **38** i FR-42149 **39** znacząco stymulowały aktywność przeciwnowotworową ludzkich monocytów w stężeniach przewyższających 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [37].

Tabela 1. Syntetyczne acylo-MDPs poddane badaniom biologicznym [35–37]
 Table 1. Synthetic acyl-MDPs used in biological study [35–37]

Nr zw.	SKRÓT	STRUKTURA CHEMICZNA
4	FK-565	Heptanoilo- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH
32	FR-46758	Heptanoilo- γ -D-Glu-(L)-(ω -hydroksymetylo)Lys-D-Ala-OH
33	FR-48217	Behenoilo-L-Ala- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH
34	FR-46091	Stearoilo- γ -D-Glu-L-Lys-D-Ala-OH
35	FR-47920	Stearoilo- γ -D-Glu- <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP
36	FR-39868	Heptanoilo-L-Ala- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-Gly-OH
37	FR-41571	Lauroilo- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH
38	FR-42148	Stearoilo-L-Ala- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH
39	FK-42149	Stearoilo- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH
40	FR-53476	Heptanoilo- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH
41	FR-49741	Heptanoilo- γ -D-Glu- <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP
42	FR-41377	Heptanoilo- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-Gly-OH
43	FR-42774	Laktoilo- γ -D-Glu-(L) <i>mezo</i> - α , ϵ -DAP(L)-D-Ala-OH

Ponieważ mniejsze cząsteczki, takie jak np. *N*-acylo-L-Ala-D-izoGln [38], również wpływają na system immunologiczny, zsyntetyzowano też *N*-acylodipeptydy. Najbardziej obiecującym związkiem okazał się LK-409 **44** (Rys. 6), wyraźnie aktywny przeciwnowotworowo [39]. W 1993 roku opublikowano dane na temat jego właściwości immunomodulacyjnych [40]. Przeprowadzono testy *in vivo*, w których oznaczano liczbę śledzionowych limfocytów T i B, otrzewnowych makrofagów, blastogeniczną odpowiedź limfocytów T, stymulowanych konkanawaliną A (ConA), oraz odpowiedź otrzewnowych makrofagów, a także właściwości pirogenne. Wyniki badań nie wykazały istotnej różnicy aktywności LK-409 w stosunku do związku kontrolnego, jakim był MDP [40]. W 2006 roku Dolenc i in. [41] opisali wpływ analogów LK-409 **45a–f** (Rys. 6) na produkcję cytokin. Wszystkie badane związki modulowały odpowiedź cytokinową Th1/Th2 komórek śledziony myszy aktywowanych ConA i PMA. Badania są kontynuowane.

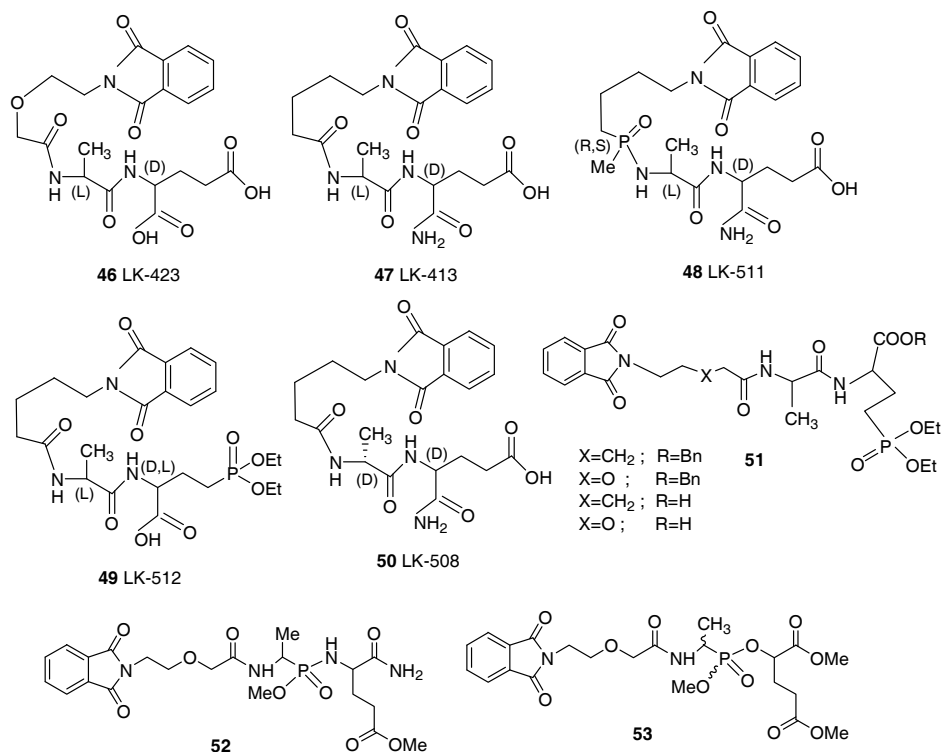


Rysunek 6. LK-409 **44** i jego analogi **45a–f** [41]

Figure 6. LK-409 **44** and its analogues **45a–f** [41]

1.2. FTALIMIDO-DMPS

Większość obiecujących analogów desmuramylopeptydów to ftalimido-DMPs [42–49]. W tego typu związkach resztę kwasu *N*-acetylo-muraminowego zastąpiono różnymi *N*-ftaloilo-aminokwasami oraz kwasem aminoetoksyoctowym, dając acykliczne analogi MDP, takie jak LK-423 **46** (Rys. 7), który został wyselekcjonowany do dalszych badań jako potencjalny czynnik przeciwzapalny [50]. Gobec i Urleb zsyntetyzowali różne analogi LK-423, m.in.: LK-413 **47**, LK-511 **48**, LK-512 **49** oraz LK-508 **50** (Rys. 7) [42, 47–49]. Modyfikowali część peptydową ftalimido-DMPs poprzez wprowadzanie cząsteczek zawierających fosfor. Otrzymany związek **29** został wykorzystany jako substrat do syntezy nowych ftalimido-DMPs **51** (Rys. 7) zawierających resztę dietylofosfonową na grupie ω -karboksylowej Glu [48]. Związki te w badaniach *in vitro* wpływały na modulowanie produkcji cytokin, np. syntezę IL-12, IL-2, IFN γ (wyjątek stanowi LK-512), a także IL-4 oraz IL-10 (przez LK-508 i LK-512). Natomiast nie wykazały one znaczącej aktywności cytotoksycznej w badaniach *in vitro* przeciw trzem liniom ludzkich komórek nowotworowych: raka piersi (MDA-MB 231), płuc (103H) i raka wątroby (Hep G2) [49]. Autorzy opisali także syntezę peptydów, w których wiązanie amidowe pomiędzy L-Ala i D-Glu zastąpiono grupą fosfonoamidową lub fosfonową **52**, **53** (Rys. 7) [43].

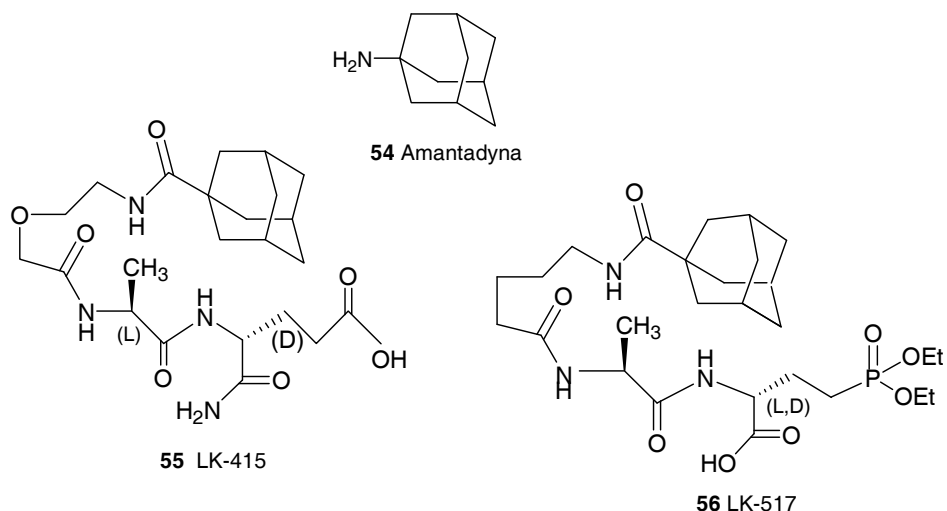


Rysunek 7. Ftalimido-DMPs 46–53 [42–49]

Figure 7. Phthalimido-DMPs 46–53 [42–49]

1.3. ADAMANTYLO-DMPS I INNE

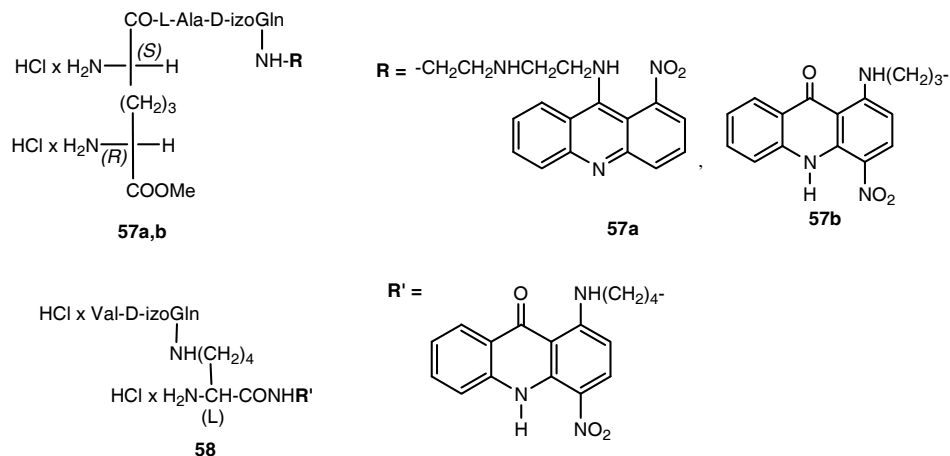
Amantadyna **54** (aminoadamantan) (Rys. 8) była jednym z pierwszych leków stosowanych w profilaktyce i leczeniu chorób o podłożu wirusowym, np. grypy typu A u dorosłych, a także w chorobie Parkinsona. Reszta adamantylowa, połączona z fragmentem dipeptydowym (L-Ala-D-izoGln) MDP, daje adamantyloamido-L-alanylo-D-izoglutaminę (AdDP), która wykazuje aktywność zarówno przeciwwirusową, jak i immunomodulacyjną, prowadząc do uwydatniania silnej humoralnej i komórkowej odpowiedzi na poziomie systemowym i śluzówkowym [51]. Becker i in. [52] opisali zdolność AdDP do stymulowania odpowiedzi komórkowej, charakteryzowanej uwalnianiem IFN γ przez limfocyty T CD8⁺, które *in vivo* są odpowiedzialne za odporność komórkową, co czyni ten związek obiecującym adiuwantem, mającym potencjalne zastosowanie w projektowaniu szczepionek. Szczepionki budowane na bazie rekombinowanego AdDP z proteiną P6 działały protekcyjnie w przypadku infekcji płuc i ucha środkowego wywołanych przez *Haemophilus influenzae* [51–53].



Rysunek 8. Amantadyna **54** i adamantylo-DMPs **55**, **56** [54]
 Figure 8. Amantadine **54** and adamantlyl-DMPs **55**, **56** [54].

Gobec i in. [54] opisali syntezę analogów adamantylo-DMPs LK-415 **55** i LK-517 **56** (Rys. 8), w których *N*-acetyloglukozaminowy fragment w MDP został zastąpiony 1-adamantylo-karboksyamidowym. Ich skuteczność w stymulowaniu produkcji cytokin IL-12, TNF α , IFN γ , IL-4 i IL-10 była oznaczana *in vitro* w ludzkich mononuklearnych komórkach krwi obwodowej (PBMC), aktywowanych ionomycyną i PMA, wspólnie inkubowanych z testowanymi analogami. Rezultaty były porównywalne z aktywnością MDP. Wszystkie badane związki stymulowały syntezę IL-12 i IFN γ jednakowo dobrze. Wprowadzenie reszty dietylofosfonowej do cząsteczki LK-517 odgrywało ważną rolę w aktywowaniu komórek T do produkcji cytokin.

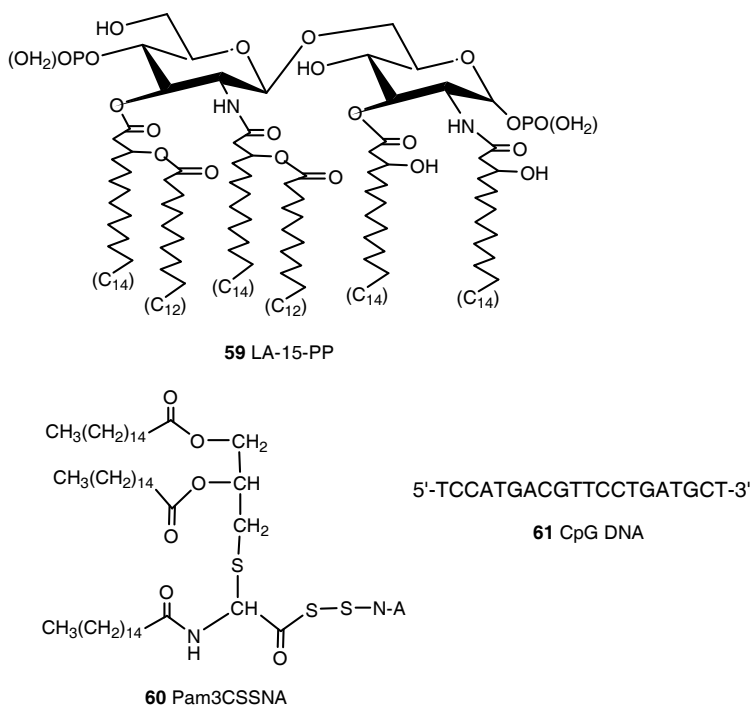
W 2001 roku Dzierzbicka i in. [55] otrzymali połączenia DMPs z pochodnymi amino-1-nitroakrydyny/4-nitroakrydonu (Rys. 9). Dwa z nich (**57a,b**) zawierały kwas *mezo*-DAP, a w trzecim (**58**) L-alaninę zastąpiono L-waliną zaś kwas *mezo*-DAP L-lizyną. W badaniach cytotoksyczności przeprowadzonych w Narodowym Instytucie Rakowym (NCI, Bethesda, USA) na 60 liniach ludzkich komórek nowotworowych wyprowadzonych z 9 typów nowotworów: leukemii, niemałokomórkowego nowotworu płucnego (NCI-H23), małokomórkowego nowotworu płucnego, okrężnicy (HCT-116, COLO 205, HCC-2998, HT29, KM12), mózgu, czerniaka (M14, SK-MEL-5, MALME-3M, SK-MEL-2, UACC-62), jajnikowego oraz nerkowego (786-O, RXF-393) związki te w badanym zakresie stężeń (10^{-4} – 10^{-8} M) nie wykazały znaczącej aktywności.

Rysunek 9. Analogi akrydyno- **57a,b** oraz akrydono-DMPs **58**Figure 9. Acridine- **57a,b** and acridone-DMPs **58**

PODSUMOWANIE

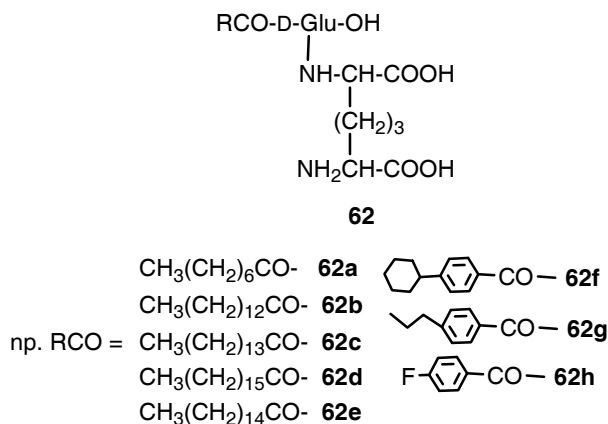
Do muramylopeptydów otrzymywanych na wzór naturalnych fragmentów ściany komórkowej bakterii zalicza się nie tylko związki, w których *N*-acylowany kwas muraminowy jest połączony z dipeptydem X-D-Glu (np. X = L-Ala, L-Val, Ser, Thr, itp.) lub peptydem o dłuższym łańcuchu, ale również cząsteczki, które są pozbawione części cukrowej; noszą one nazwę desmuramylopeptydów (DMPs). Przez długi czas poszukiwano receptorów komórkowych, przez które MDP i DMPs mogłyby wywierać swój efekt biologiczny. Stwierdzono, że związki te jako fragmenty ściany komórkowej bakterii aktywują monocyty i makrofagi, działając na receptory dla lipopolisacharydu (LPS) typu CD14 oraz rodzinę receptorów TLR. Pobudzenie tych receptorów wywołuje szereg aktywności komórek odpornościowych. Ostatnio opisano wewnątrzkomórkowe białka z rodziny NOD jako receptory dla MDP i DMPs [1, 8, 56]. Receptory te należą do dużej rodziny białek receptorowych – CATERPILLAR, z których najlepiej poznano NOD1 (CARD4) oraz NOD2 (CARD15). Obydwa receptory zbudowane są z trzech fragmentów strukturalnych: domeny C-końcowej, zawierającej liczne powtórzenia bogate w leucynę (ang. *leucine-rich repeats*, LRR) odpowiedzialną za rozpoznawanie cząstek bakteryjnych. W środkowej części receptora znajduje się miejsce wiążące nukleotydy (ang. *nucleotide binding site*, NBS) istotne w procesie autooligomeryzacji tej cząsteczki. Istnieje również *N*-terminalny motyw efektorowy, tzw. domeny CARD, jedna lub dwie, odpowiednio dla NOD1 i NOD2. Receptor NOD1 występujący w wielu tkankach rozpoznaje jedynie peptydoglikany zawierające kwas DAP. Struktura PGN, którą specyficznie rozpoznają receptory NOD1, to dipeptyd iE-DAP. Odróżnia on PGN

pochodzące z bakterii G– od pochodzących z bakterii G+. Natomiast receptor NOD2 jest obecny w monocytach, makrofagach, komórkach dendrytycznych oraz, w mniejszym stopniu, w limfocytach T. Ze względu na częste występowanie w mikroorganizmach liganda MDP, receptor NOD2 jest sensorem szerokiego spektrum bakterii G– i G+. Badania przeprowadzone na analogach MDP sugerują, iż NOD2 charakteryzuje stereoselektywne rozpoznawanie liganda, którego niezbędnym elementem jest fragment cukrowy – MurNAc **2** (Rys. 1) [1, 8, 56]. MDP przechodzi do wnętrza komórki dzięki działaniu transportera hPepT1. Pierwotnie transporter ten zidentyfikowano w nabłonku jelit. Późniejsze badania wykazały jego ekspresję w komórkach krwi obwodowej, w szczególności – makrofagach. Istnieją również doniesienia sugerujące kooperację tych białek z rodziną receptorów TLR w przeciwbakteryjnej odpowiedzi immunologicznej. Najlepiej poznаныmi receptorami tej rodziny są dwa receptory TLR2 i TLR4. Uważa się, że TLR4 bierze udział w rozpoznawaniu lipopolisacharydu (LPS), natomiast TLR2 – peptydoglikanu [8, 57, 58]. Uehara i in. [59] opisali wpływ NOD2 i NOD1 na efekty synergistyczne MDP i DMPs (FK-156 i FK-565) z agonistami TLR, takimi jak Pam3CSSNA **59**, LA-15-PP **60** i CpG DNA **61** (Rys. 10).



Rysunek 10. Chemiczna struktura agonistów receptorów TLR [59]
Figure 10. Chemical structure agonists of TLR receptor [59]

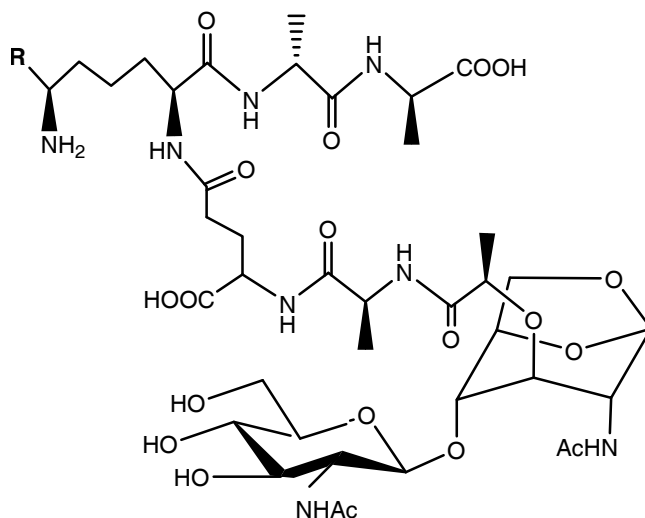
W 2007 roku Fujimoto i in. [60] zsyntetyzowali mono-, di-, tetra- i oktasacharydowe fragmenty PGN w celu zbadania ich własności immunostymulacyjnych, takich jak indukcja TNF α przez ludzkie monocyty, TLR2 i NOD2, w zależności od stosowanej transfekcji komórek HEK293. Wykazali, że otrzymane fragmenty peptydoglikanów nie stymulowały TLR2 natomiast te, które zawierały MDP, były rozpoznawane przez NOD2. Otrzymali także różne acylowe pochodne iE-DAP **62a–h** (Rys. 11), będące silnymi agonistami NOD1. *N*-Mirystoilo- (**62b**), *N*-penta-dekanoilo- (**62c**) i *N*-palmitoilo-iE-DAP (**62e**) wykazywały stukrotnie silniejszą aktywność w porównaniu z naturalnym iE-DAP.



Rysunek 11. *N*-Acylowe pochodne iE-DAP **62a–h** [60]

Figure 11. *N*-Acyl iE-DAP derivatives **62a–h** [60]

Ostatnio opisano syntezę *N*-acetyloglukozamino-1,6-anhydro-*N*-acetylo-muramylopentapeptydu **63** i **64** (Rys. 12), cząsteczek powstających w wyniku działania transglikozylazy na ścianę komórkową bakterii G⁻ **63** i G⁺ **64**. Związek **63** jest substratem AmpD, enzymu bakterii G⁻ *Escherichia coli* odpowiedzialnego za usuwanie peptydu z rusztowania disacharydowego we wczesnej cytoplazmatycznej fazie metabolizmu ściany komórkowej [61].

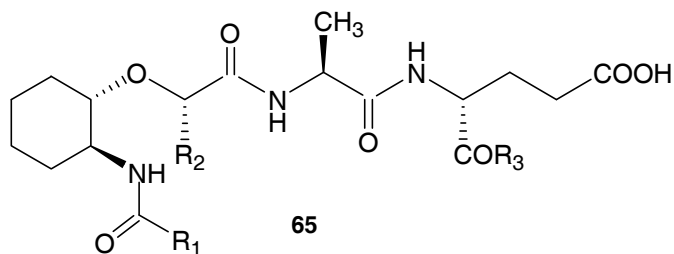


63. R = COOH

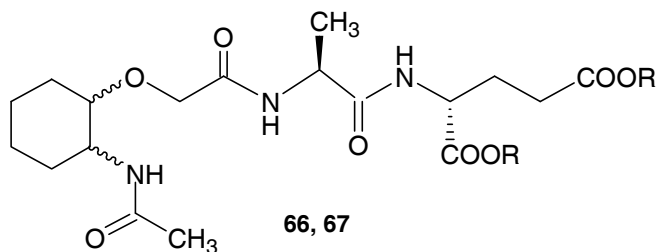
64. R = H

Rysunek 12. Struktura *N*-acetylglukozamino-1,6-anhydro-*N*-acetylo-muramylopentapeptydów **63** i **64** [61]
 Figure 12. Structure of *N*-acetylglucosamine-1,6-anhydro-*N*-acetyl-muramylpentapeptide **63** and **64** [61]

Wielostronna możliwość modyfikacji zarówno cząsteczki MDP, jak i DMPs stwarza potencjalne szanse znalezienia analogów o lepszych właściwościach farmakologicznych. Do tej pory najbardziej znanymi i aktywnymi desmuramylopeptydami były związki: FK-156 **10** i jego syntetyczny analog FK-565 **11** (Rys. 3) o silniejszym działaniu immunostymulacyjnym. FK-565 zwiększa aktywność przeciwo-wotworową makrofagów, sekrecję TNF α , IL-1 i aktywność komórek NK [2, 3]. Oceniano go również w badaniach klinicznych jako preparat odbudowujący zniszczony system immunologiczny pacjenta [3]. W ostatnim czasie popularne stało się projektowanie i synteza DMPs, które zawierają różne ugrupowania, np. niepirogenne karbocykliczne analogi DMPs **65–67** (Rys. 13) [62], fosfonoftalimido-, fosfono-amido- i fosfono-DMPs (Rys. 7) oraz adamantylo-DMPs **54–56** [50–54] (Rys. 8). Na uwagę zasługują również właściwości synergistyczne MDP oraz DMPs w stosunku do różnych substancji biologicznie czynnych, nie tylko pochodzenia bakteryjnego (np. LPS) lub zwierzęcego (np. IFN γ), ale także innych, np. AZT, leku stosowanego w terapii AIDS [3, 30].



$R_1 = \text{alkyl}, R_2 = \text{H}, \text{CH}_3, R_3 = \text{OH}, \text{NH}_2$



66 trans: $R = \text{CH}_2\text{Ph}$

67 trans: $R = \text{H}$

Rysunek 13. Karbocykliczne analogi DMPs [62]

Figure 13. Carbocyclic analogues of MDPs [62]

PODZIĘKOWANIE

Praca powstała w ramach realizacji projektu badawczego N N405 181135 finansowanego przez MNiSzW.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J. Gołąb, M. Jakóbsiak, W. Lasek, *Immunologia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2005.
- [2] K. Dzierzbicka, A.M. Kołodziejczyk, *Pol. J. Chem.*, 2003, **77**, 373.
- [3] K. Dzierzbicka, *Zeszyty Naukowe Politechniki Gdańskiej*, 2004, **52**.
- [4] M. Karaś, W. Drożański, R. Russa, *Post. Mikrobiol.*, 2006, **45**, 27.
- [5] W. Weidel, H. Pelzer, *adv. Enzymol. RAMB*, 1964, **26**, 193.
- [6] E.M. Creagh, L.A. O'Neill, *Trends Immunol.*, 2006, **27**, 352.
- [7] A.M. Kołodziejczyk, A.S. Kołodziejczyk, *Post. Biochem.*, 1987, **33**, 203.
- [8] S. Traub, S. von Aulock, T. Hartung, C. Hermann, *J. Endotoxin Res.*, 2006, **12**, 69.
- [9] Y. Fujimoto, Y. Konishi, O. Kubo, M. Hasegawa, N. Inohara, K. Fukase, *Tetrahedron Lett.*, 2009, **50**, 3631.
- [10] T. Jędrzejczyk, *Scientific Bulletin of the Technical University of Lodz, Food Chemistry and Biotechnology*, 2008, **72**, 105.

- [11] F. Ellouz, A. Adam, R. Ciorbaru, E. Lederer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974, **59**, 1317.
- [12] P. Lefrancier, J. Choay, M. Derrien, I. Lederman, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1977, **9**, 249.
- [13] G. Baschang, *Tetrahedron*, 1989, **45**, 6331.
- [14] P. Romanowski, K. Dzierzbicka, A. Myśliwski, A.K. Kołodziejczyk, *Post. Biochem.*, 1991, **37**, 159.
- [15] G.M. Bahr, L. Chedid, *Fed. Proc.*, 1986, **45**, 2541.
- [16] K. Mašek, *Meth. Exp. Clin. Pharmacol.*, 1986, **8**, 97.
- [17] D. Migliore-Samour, J. Bouchaudon, F. Floc'h, A. Zerial, L. Ninet, G. Werner, P. Jolles, *Life Sci.*, 1980, **26**, 883.
- [18] A. Adam, E. Lederer, *Med. Res. Rev.*, 1984, **4**, 111.
- [19] E. Telzak, E.M. Wolff, A. Dinarello, *J. Infect. Dis.*, 1986, **153**, 628.
- [20] G.J. Riveau, B.G. Brunel-Riveau, F.M. Audibert, *Cell. Immunol.*, 1991, **134**, 147.
- [21] Y. Kitara, O. Nakaguchi, H. Takeno, S. Okada, S. Yonishi, K. Hemmi, J. Mori, H. Senoh, Y. Mine, M. Hashimoto, *J. Med. Chem.*, 1982, **25**, 335.
- [22] T. Gotoh, K. Nakahara, T. Nishiura, M. Hashimoto, T. Kino, Y. Kuroda, M. Okuhara, M. Kohsaka, H. Aoki, H. Imanaka, *J. Antibiotics*, 1982, **35**, 1282.
- [23] S. Izumi, K. Nakahara, T. Gotoh, S. Hashimoto, T. Kino, M. Okuhara, H. Aoki, H. Imanaka, *J. Antibiotics*, 1983, **36**, 566.
- [24] Y. Mine, Y. Yokota, Y. Wakai, S. Fukada, M. Nishida, S. Goto, S. Kuwahara, *J. Antibiotics*, 1983, **36**, 1045.
- [25] Y. Yokota, Y. Mine, Y. Wakai, Y. Watanabe, M. Nishida, S. Goto, S. Kuwahara, *J. Antibiotics*, 1983, **36**, 1051.
- [26] Y. Mine, Y. Watanabe, S. Tawara, Y. Yokota, M. Nishida, *J. Antibiotics*, 1983, **36**, 1059.
- [27] Y. Watanabe, S. Tawara, Y. Mine, H. Kikuchi, *J. Antibiotics*, 1985, **38**, 1781.
- [28] K. Dzierzbicka, *Pol. J. Chem.*, 2007, **81**, 455.
- [29] P. Dezelee, E. Bricas, *Biochemistry*, 1970, **9**, 823.
- [30] Y. Yokota, Y. Wakai, Y. Watanabe, Y. Mine, *J. Antibiotics*, 1988, **41**, 1479.
- [31] A.M. Kołodziejczyk, A.S. Kołodziejczyk, S. Stoev, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1992, **39**, 382.
- [32] Y. Saito, T. Shinkai, Y. Yoshimura, H. Takahata, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 5894.
- [33] A. Kawasaki, Y. Karasudani, Y. Otsuka, M. Hasegara, N. Inohara, Y. Fujimoto, K. Fukase, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 10318.
- [34] P.R. Blakemore, W.J. Cole, P.J. Kociński, A. Morley, *Synlett*, 1998, 26.
- [35] S. Izumi, K. Nakahara, T. Gotoh, S. Hashimoto, T. Kino, M. Okuhara, H. Aoki, H. Imanaka, *J. Antibiotics*, 1983, **36**, 566.
- [36] S. Sone, S. Matsuura, M. Ogawara, T. Utsugi, E. Tsubura, *Cancer Immunol. Immunother.*, 1984, **18**, 169.
- [37] S. Sone, A. Okubo, N. Inamaru, N. Akihiko, T. Ogura, *Cancer Immunol. Immunother.*, 1988, **27**, 33.
- [38] J. Danklmaier, H. Hönig, *Leibigs Ann. Chem.*, 1990, **145**.
- [39] G. Serša, S. Novakovič, A. Štalc, *Mol. Biotherapy*, 1992, **4**, 188.
- [40] M. Sollner, V. Kotnik, S. Pečar, A. Štalc, S. Šimčič, L. Povšič, B. Herzog-Wraber, L. Klampfer, A. Ihan, P. Grosman, *Agents Actions*, 1993, **38**.
- [41] M.S. Dolenc, J. Cmosija, S. Simcic, B. Draber, S. Pecar, *Pharmazie*, 2006, **61**, 866.
- [42] U. Urleb, A. Krbavčič, M. Sollner, D. Kikelj, S. Pečar, *Arch. Pharm.*, 1995, **328**, 113.
- [43] S. Gobec, U. Urleb, *Molecules*, 2002, **7**, 394.
- [44] M. Moriguchi, K. Urabe, N. Norisada, C. Ochi, A. Štalc, U. Urleb, S. Muraoka, *Drug Res.*, 1999, **49**, 184.
- [45] S. Šimčič, B. Wraber, M. Sollner, U. Urleb, S. Gobec, *Pflug. Arch. Eur. J. Phy.*, 2000, 440-R66.

- [46] U. Urleb, S. Gobec, D. Prelog, *Lett. Pept. Sci.*, 1995, **2**, 193.
- [47] S. Gobec, U. Urleb, *Lett. Pept. Sci.*, 1998, **5**, 109.
- [48] S. Gobec, U. Urleb, *Silicon Relat. Ele.*, 2000, **156**, 125.
- [49] S. Gobec, M. Sollner-Dolenc, U. Urleb, B. Draber, S. Simčič, M. Filipič, *II Farmaco*, 2004, **59**, 345.
- [50] M. Moriguchi, K. Urabe, N. Norisada, C. Ochi, A. Stalc, U. Urleb, S. Muraoka, *Arzneimittel-Forschung*, 1999, **49**, 184.
- [51] P.D. Becker, R.S. Corral, C.A. Guzman, S. Grinstein, *Vaccine*, 2001, **19**, 4603.
- [52] P.D. Becker, M. Norder, C.A. Guzmán, S. Grinstein, *Clin. Vaccine Immunology*, 2007, **14**, 538.
- [53] G.M. Bertot, P.D. Becker, A. Guzman, S. Grinstein, *J. Infect. Dis.*, 2004, **189**, 1304.
- [54] S. Gobec, U. Urleb, S. Simčič, B. Wraber, *Pharmazie*, 2001, **7**, 523.
- [55] K. Dzierzbicka, A. Kołodziejczyk, B. Wysocka-Skrzela, A. Myśliwski, D. Sosnowska, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 3606.
- [56] J. Uehri, K. Fukase, T. Akazawa, S. Uematsu, S. Akira, K. Funami, M. Shingai, M. Matsumoto, I. Azuma, K. Toyoshima, S. Kusumoto, T. Seya, *J. Immunol.*, 2005, 7096.
- [57] J.H. Fritz, S.E. Girardin, C. Fitting, C. Werts, D. Mengin-Lecreux, M. Caroff, J-M. Cavallon, D.J. Philpott, M. Adib-Conquy, *Eur. J. Immunol.*, 2005, **35**, 2459.
- [58] A. Uehara, Y. Fujimoto, A. Kawasami, S. Kusumoto, K. Fukase, H. Takada, *J. Immunol.*, 2006, **177**, 1796.
- [59] A. Uehara, S. Yang, Y. Fujimoto, K. Fukase, S. Kusumoto, K. Shibata, S. Sugawara, H. Takada, *Cell. Microbiol.*, 2005, **7**, 53.
- [60] Y. Fujimoto, S. Inamura, A. Kawasami, Z. Shiokawa, A. Shimoyama, T. Hashimoto, S. Kusumoto, K. Fukase, *J. Endotoxin Res.*, 2007, **13**, 189.
- [61] D. Heseck, M. Lee, W. Zhang, B.C. Noll, S. Mobashery, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 5187.
- [62] D. Kikelj, S. Pecar, V. Kotnik, A. Stalc, B. Wraber-Herzog, S. Simcic, A. Ihan, L. Klamfer, L. Povsic, R. Grahek, E. Suhadolc, M. Hocevar, H. Honig, R. Rogi-Kohlenprath, *J. Med. Chem.*, 1998, **41**, 530.

Praca wpłynęła do Redakcji 30 września 2009

***O*-AMINOFENOL I POLI(*O*-AMINOFENOL) WŁAŚCIWOŚCI I ZASTOSOWANIE**

***O*-AMINOPHENOL AND POLY(*O*-AMINOPHENOL) PROPERTIES AND APPLICATION**

Barbara Marczevska, Marek Przegaliński

*Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej, Wydział Chemii UMCS
Plac Marii Curie Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin*

Abstract

Wstęp

1. *O*-aminofenol (oAP); 1.1. Utlenianie oAP; 1.1.1. Chemiczne utlenianie oAP; 1.1.2. Elektrochemiczne utlenianie oAP; 1.2. Właściwości biochemiczne oAP; 1.2.1. Mechanizm metabolizmu oAP w ludzkich erytrocytach; 1.2.2. Uszkodzenia DNA powodowane przez oAP; 1.2.3. Inne właściwości biochemiczne oAP; 1.3. Przykłady zastosowań oAP; 1.3.1. Wytwarzanie ekstrahentów metali poprzez modyfikację żywicy Amberlite XAD-2 oAP; 1.3.2. Pochodna oAP jako prekursor do wytwarzania aktynomycyny D
2. Poli(*o*-aminofenol) (PoAP); 2.1. Właściwości i budowa filmu polimero-
wego; 2.1.1. Właściwości elektrochromowe; 2.1.2. Struktura filmu; 2.1.3. Potencjałowy zakres przewodnictwa elektrycznego; 2.1.4. Transport przez elektrody zmodyfikowane PoAP; 2.1.5. Elektroosadzanie metali na elektrodach zmodyfikowanych PoAP; 2.2. Przykłady zastosowań PoAP; 2.2.1. Zastosowania analityczne PoAP; 2.2.2. Film PoAP jako powłoka antykorozyjna miedzi

Zakończenie

Piśmiennictwo cytowane



Dr hab. Barbara Marczevska ukończyła studia chemiczne na Wydziale Mat.-Fiz.-Chem. UMCS w Lublinie. Stopień dr hab. uzyskała w roku 1999. Pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej Wydziału Chemii UMCS w Lublinie. Jej główne zainteresowania naukowe obejmują problemy związane z analityką substancji bioaktywnych oraz z kinetyką i mechanizmem procesów elektrodowych.

Dr Marek Przegaliński ukończył studia chemiczne na Wydziale Mat.-Fiz.-Chem. UMCS w Lublinie. Stopień dr uzyskał w roku 1978. Pracuje na stanowisku starszego wykładowcy w Zakładzie Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej Wydziału Chemii UMCS w Lublinie. Jego główne zainteresowania naukowe obejmują problemy związane z elektrodami modyfikowanymi polimerami przewodzącymi.

ABSTRACT

From the chemical and electrochemical points of view aminophenol isomers are a group of compounds which can exhibit the properties typical of both the amines and/or phenols [1–5]. The position of the amine group and hydroxyl group in the aromatic ring is decisive to determine different properties of particular isomers. As concerns the chemical properties, including the ability to form electroactive films, out of the ortho, meta [6, 7] and para [6, 8, 9] isomers of aminophenol the *o*-aminophenol (oAP) seems to be the most important. The paper presents the process of chemical [12–16] and electrochemical [20–32] oxidation of oAP based on literature data. The products of chemical oxidation are: 2-aminophenoxasin-3-one of quinone diimine and quinones. As a result of the process of electrochemical oxidation of oAP many products were obtained, depending on conditions in which the process was carried out. For the oAP polymer were proposed: the ladder network structure of closed type, the structure with partially open ring, or simultaneous co-existence of both these structures.

The preparation of polymer film from poly(*o*-aminophenol) (PoAP) as well as its structure and properties were also described. The preparation of PoAP film of determined structure depends largely on conditions in which the electropolymerization process is performed and also on the purity of oAP used as initial substrate [62, 63]. The electrochromic properties of the film depend on the potential applied in the course of electrode process, pH, and the kind of electrolyte anions [27, 58]. The potential range of electrical conductivity was also discussed, as well as transport across modified PoAP electrodes [71–74] and electrodeposition of metals on modified PoAP electrodes [75–77].

The paper presents some applications of oAP and PoAP, such as the modification of Amberlite XAD-2 resin [51], production of actinomycin D [52–57], or possibilities of their application in electrodes [80–86] and as anti-corrosion coating [88].

oAP is an important organic compound also in view of its impact on a living organism. Therefore some biochemical properties of oAP such as the metabolism of oAP in human erythrocytes [36–40] or the damage of DNA due to oAP [41–45] could not be omitted.

Keywords: *o*-aminophenol, poly(*o*-aminophenol), electroactive polimer film

Słowa kluczowe: *o*-aminofenol, poli(*o*-aminofenol), elektroaktywne filmy polimerowe

WSTĘP

Izomery aminofenolu z chemicznego i elektrochemicznego punktu widzenia stanowią grupę związków, które mogą wykazywać zachowanie typowe zarówno dla amin, jak i/lub fenoli [1–5]. Położenie grup aminowej i hydroksylowej w aromatycznym pierścieniu, ma swoje odbicie w różnych właściwościach poszczególnych izomerów pozycyjnych. Spośród izomerów *orto*, *meta* [6,7] i *para* [6, 8, 9] aminofenolu, ze względu na możliwość tworzenia elektroaktywnego polimeru podczas chemicznego i elektrochemicznego utleniania [10–13], aktywność biologiczną oraz praktyczne wykorzystanie, największe zainteresowanie wzbudził *orto*-aminofenol (oAP).

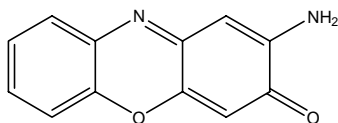
W niniejszej pracy starano się, na podstawie danych literaturowych, przybliżyć te ważne zagadnienia

1. O- AMINOFENOL (oAP)

1.1. UTLENIANIE oAP

1.1.1. Chemiczne utlenianie oAP

Procesem chemicznego utleniania oAP zajmowano się już na początku lat 70. Harmalker i in. [14] stwierdzili (Rys.1), że podczas utleniania chemicznego, oAP dimeryzuje do 2-aminofenoksazy-3 (APZ).



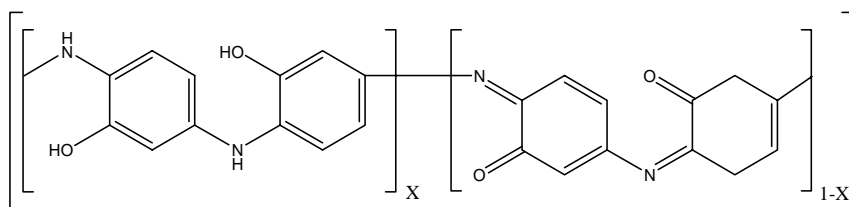
Rysunek 1. Wzór 2-aminofenoksazy-3 (APZ)

Figure 1. Molecular structure of 2-aminophenoxazin-3-one (APZ)

Również Goncalves i in. [15] podali, że głównym produktem chemicznego utleniania oAP jest APZ. Swoje badania oparli na porównaniu widm UV-Vis otrzymanych dla roztworu oAP po elektrolizie przy kontrolowanym potencjale (850 mV wzg. elektrody wodorowej), dla tego roztworu poddanemu procesowi starzenia, a także roztworu z otrzymanego chemicznie APZ [15]. Podobieństwo budowy chemicznie otrzymanego APZ oraz produktu, który powstaje po elektrolizie roztworu oAP, zostało potwierdzone pomiarami wykonanymi przy użyciu spektroskopii ¹H-NMR oraz IR [16]. Ich tożsamość strukturalną opisali również Srivastava i in. [16], którzy jako pierwsi otrzymali APZ chemicznie utleniając oAP za pomocą

Ba(MnO₄)₂. Innymi produktami powstającymi podczas utleniania chemicznego mogą być chinony i diiminy chinonu.

Odmienny przebieg reakcji utlenienia oAP postulowali Kaneko i in. [17]. Według nich, przebiegający proces w obecności kompleksów chelatowych żelaza w atmosferze tlenu prowadzi do powstania poli-(*o*-aminofenolu) (PoAP). W oparciu o badania z wykorzystaniem spektroskopii UV-Vis [18], zaproponowali [12] jako produkt procesu chemicznego utleniania oAP polimer o budowie podobnej do polianiliny, składający się z postaci utlenionych (pierścieni chinoidowych) i zredukowanych (*N*-fenylo-*p*-fenylenodiaminowych) (Rys. 2). Zawartość poszczególnych postaci jest uzależniona od stopnia utlenienia (zredukowania) polimeru.



Rysunek 2. Wzór polimeru z jednostkami utlenionymi i zredukowanymi

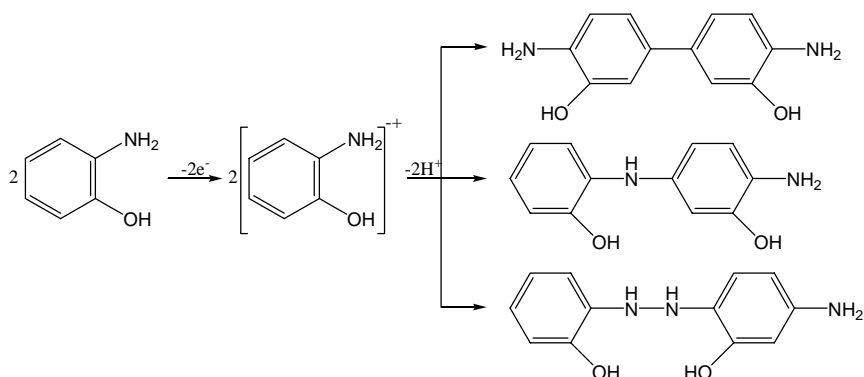
Figure 2. Structure of polymer with oxidized and reduced units

Zhang i in. [12] i Goncalves i in. [15], dla produktów chemicznego utleniania oAP, otrzymali podobne widma UV-Vis, jednak przypisywali je zupełnie innym produktom. W pracy [12] wzrastanie piku przy 410 nm wiązano z tworzeniem się liniowego polimeru PoAP, natomiast Goncalves [15] uważał, że pasmo to odpowiada tworzącym się chinonom. Twierdził, że w tych warunkach nie ma możliwości tworzenia polimeru oAP, co udowodnił badając roztwór APZ, stosując woltamperometrię cykliczną.

Podczas chemicznego utleniania oAP w środowisku kwaśnym inna koncepcja zakłada, że oprócz APZ, powstaje polimer o nieznannej strukturze [19].

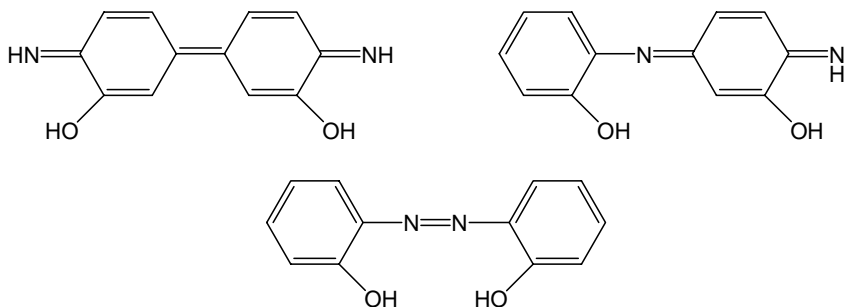
1.1.2. Elektrochemiczne utlenianie oAP

W większości przypadków reakcje polimeryzacji lub oligomeryzacji wielu części organicznych są inicjowane przez utlenianie odpowiednich monomerów do kationorodników [20, 21]. Podobnie jak inne aminy aromatyczne [22], kationorodnik oAP może dimeryzować poprzez sprzęganie C-C, C-N lub N-N, co ilustruje Schemat 1.



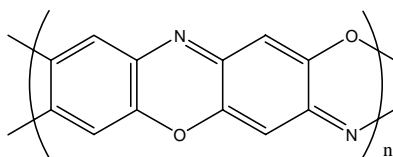
Schemat 1. Prawdopodobny przebieg dimeryzacji kationorodnika oAP
Scheme 1. Probable dimerization course of oAP radical cation

Każdy z powstających dimerów może ulegać dwuelektronowemu utlenianiu do poniżej przedstawionych postaci [23] (Rys. 3).



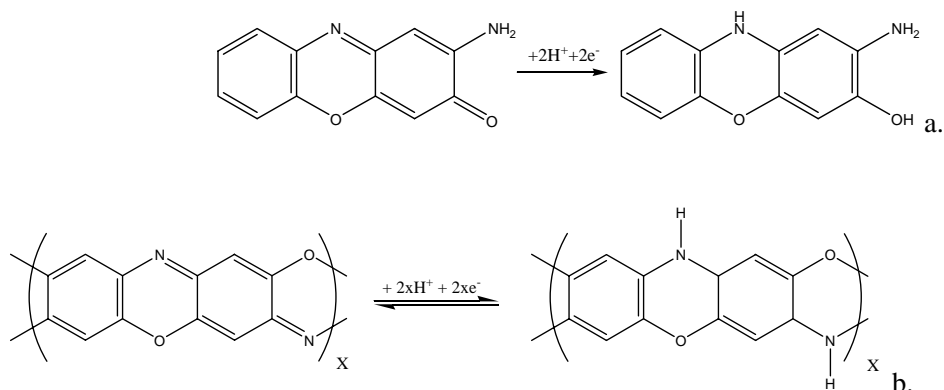
Rysunek 3. Produkty utleniania dimerów przedstawionych na Schemacie 1
Figure 3. Products of dimers oxidation from Scheme 1

oAP w przeciwieństwie do aniliny [24–26] może również dimeryzować poprzez węgiel *para* z grupą aminową drugiej cząsteczki (węgiel *para* z grupą OH) [11]. Mechanizm ten, związany z reakcją cyklizacji, jest prawdopodobnie odpowiedzialny za wytwarzanie cyklicznego dimeru, APZ. Dalsze utlenianie tego dimeru prowadzi do wytworzenia polimeru o drabinkowej fenoksazynopodobnej strukturze (Rys. 4).



Rysunek 4. Polimer o drabinkowej fenoksazynopodobnej strukturze
Figure 4. Polymer ladder phenoxazin like structure

Elektrochemicznym procesem utleniania oAP zajmowali się też Barbero i in. [11]. Prowadzili anodowe utlenianie oAP w kwaśnym środowisku na elektrodach wykonanych z różnych materiałów (m.in. platynowej i węglowej szklistej – GCE). Opierając się na wynikach chemicznego utleniania oAP [19] i badaniach elektrochemicznych [27] zaproponowali, że para pierwszych pojawiających się pików na woltamperogramie cyklicznym jest wynikiem reakcji redoks zachodzących zarówno dla APZ, jak i jego polimeru (Schemat 2).

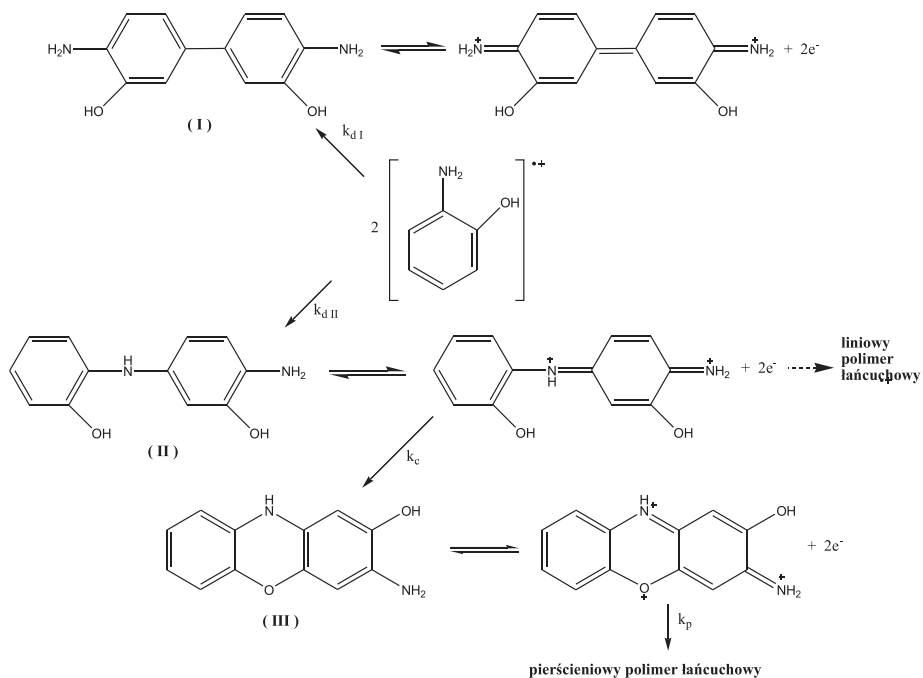


Schemat 2. Reakcje redoks dla a) APZ, b) polimeru
Scheme 2. Redox reactions for a) APZ and for b) polymer

Opierając się na uzyskanych wynikach i rozważając ogólny mechanizm anodowego utleniania dla aniliny w roztworach wodnych [21], Barbero zaproponował dla powstających kationorodników oAP (oAP^{*+}) drogi przemian przedstawione na Schemacie 3.

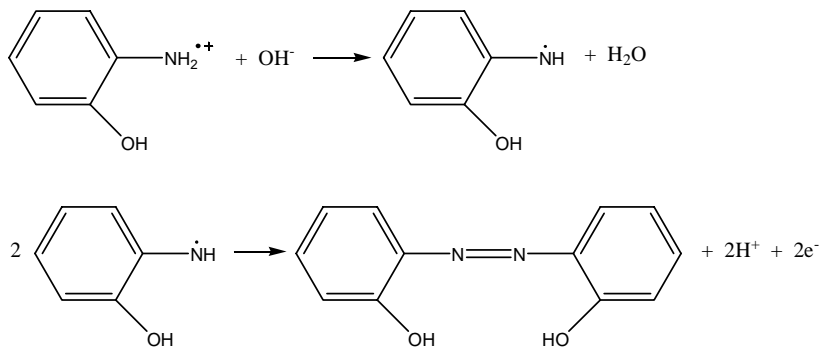
Kationorodnik może dimeryzować poprzez sprzężenie C-C (I) i C-N (II). Dimery utleniają się do odpowiednich dikationów przy potencjałach niższych niż potencjał utleniania oAP. Utleniony dimer II ulega reakcji cyklizacji, dając ostateczny produkt APZ (III), który ulega przemianom redoks. Autor nie wyklucza też, że polimeryzacji może ulegać dikation związku II. Można więc otrzymać kompozyt dwóch różnych polimerów: jednego o liniowej strukturze łańcuchowej, podobnej do polianiliny (Rys. 2), i drugiego z fenoksazyńską strukturą łańcuchową (Schemat 2b). Ten drugi typ struktury Barbero podaje jako dominujący.

Badania elektROUTLENIANIA oAP prowadzono również w innych środowiskach (obojętnym i alkalicznym) oraz w roztworach nitrobenzenu [23, 28]. Wyniki pomiarów woltamperometrycznych prowadzą do wniosku, że w badanych środowiskach utlenianie oAP prowadzi do wytwarzania związków azowych. W tych warunkach, po utlenieniu oAP do oAP^{*+} , ma miejsce dimeryzacja poprzez sprzężenie typu N-N. Przebieg tej reakcji zaproponowano, opierając się na reakcji tworzenia się azobenzenu z cząsteczek aniliny [29] (Schemat 4).



Schemat 3. Prawdopodobne drogi reakcji dla oAP

Scheme 3. Probable course of reaction for oAP



Schemat 4. Mechanizm elektrochemicznego utleniania oAP w środowisku obojętnym i alkalicznym

Scheme 4. Mechanism of oAP electrochemical oxidation in aqueous neutral and basic medium

O filmie powstającym podczas elektrootleniania oAP w środowisku alkalicznym pisze Guenbour i in. [30]. Utlenianie prowadzono w alkoholowym (30% obj. metanol) roztworze NaOH o pH = 12,7. Woltamperogramy cykliczne rejestrowano stosując trzy elektrody: z węgla szklanego, platyny oraz miedzi.

W przypadku węgla szklistego i platyny, prąd pikowy po przejściu przez maksimum powoli zmniejsza się. Na podstawie cyklu powrotnego o bardzo niskim zarejestrowanym prądzie uznano, że na powierzchni tych elektrod tworzy się film o właściwościach izolacyjnych. Dla miedzi przy potencjale 765 mV pojawia się drugi pik przypisywany utlenianiu miedzi i powiązany z istnieniem porów w narastającej powłoce. W celu sprawdzenia tego przypuszczenia, polaryzację kończono w obszarze, w którym nie było jeszcze drugiego pików. Przebieg cyklu powrotnego wskazuje na obecność powłoki ochronnej, natomiast przebieg krzywej voltamperometrycznej uzyskanej przy potencjale polaryzacji ok. 1600 mV wskazuje, że nie jest wytwarzane pokrycie o takich właściwościach. Uzyskane filmy były żółte i mocno przylegające do elektrody. Powłoki otrzymane na miedzi przy szerszym zakresie potencjału były słabo przylegające, prawdopodobnie z powodu utleniania produktów substratu (miedzi) zawartych w filmie polimerowym.

Fizyczne właściwości filmu były również mocno zależne od wartości R stosunku stężeń elektrolitu (NaOH)/monomer oAP. Wyniki uzyskane w roztworach 0,3 M NaOH i 0,1 M oAP ($R = 3$) wskazują, że filmy są homogeniczne i bardzo dobrze przylegające, dla wartości $R = 1$ filmy nie były przylegające, miały duże pory i pęknięcia.

Otrzymane powłoki badano za pomocą technik spektralnych (IR i XPS). Widmo IR dla filmu uzyskanego na miedzi nie wykazywało pasm przy 3375 cm^{-1} i 1268 cm^{-1} , które są charakterystyczne dla wiązań O–H w cząsteczce oAP [31, 32].

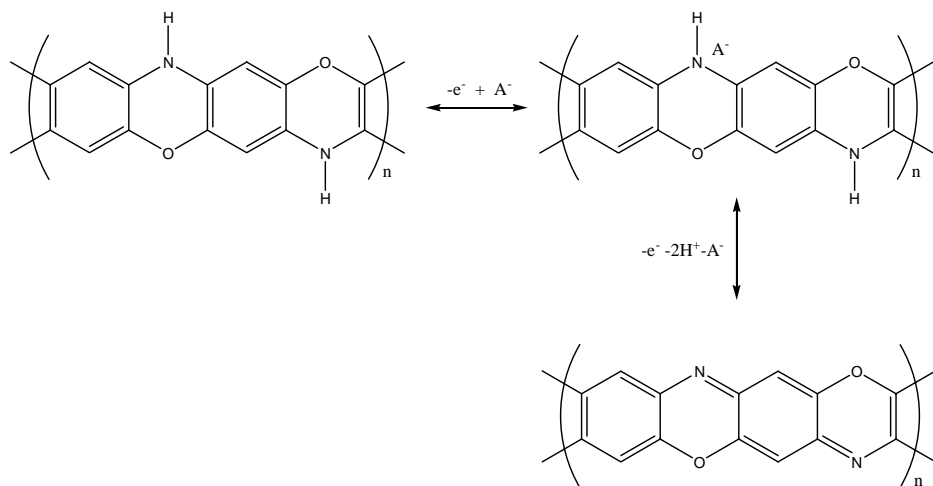
W widmie tym obserwowane jest nowe pasmo przy 1297,7 cm^{-1} (C–O–C). Nieobecne jest natomiast pasmo przy 1700 cm^{-1} , co wyklucza obecność ugrupowań C=O. W widmie pokrytej elektrody znaleziono silne pasma absorpcji charakterystyczne dla grup $-\text{NH}_2$, w zakresie 3000–3500 cm^{-1} [33] i 1590–1610 cm^{-1} [34], świadczące o obecności grup $-\text{NH}_2$ w strukturze tego polimeru, które dodatkowo mogą wiązać jony metali. Bardzo podobne wyniki, potwierdzające dodatkowo obecność utlenionych form miedzi, uzyskano stosując spektrometrię XPS.

Guenbour [30] sugeruje, że sam proces obejmuje deprotonizację cząsteczki oAP, która przed utlenianiem i polimeryzacją jest chemisorbowana na powierzchni metalu. Sam proces polimeryzacji następuje poprzez wiązanie C–O–C, podczas gdy grupy $-\text{NH}_2$ nie uczestniczą w reakcji.

Podsumowując można stwierdzić, że dla procesu elektrotleniania oAP proponowanych jest wiele produktów, których powstawanie jest uzależnione od warunków prowadzenia procesu. Dla samego polimeru oAP proponowane są aż trzy struktury. W środowisku alkalicznym PoAP powstaje przez wiązania C–O–C. Dla filmów polimerowych otrzymywanych w środowisku kwaśnym proponowane są dwie kolejne struktury: jedna z pierścieniem otwartym i druga z pierścieniem zamkniętym.

oAP może być polimeryzowany i osadzany potencjostatycznie w postaci cienkiego filmu na złotej oraz na szklanej elektrodzie, pokrytej indem i tlenkiem cyny. Pomiary voltamperometryczne zsyntetyzowanego PoAP filmu przy $E_{\text{SCE}} = 0,7$ i 0,8 V wskazują na przebieg dwóch, a nie jednego procesu redoks, jak podaje literatura dla

potencjodynamicznie syntetyzowanego PoAP z roztworów kwaśnych. Pomiarzy ramanowskie sugerują również powstawanie pośrednich form podczas utleniania zredukowanego polimeru [35] (Schemat 5).



Schemat 5. Utlenianie PoAP w kwaśnym środowisku
Scheme 5. Oxidation of the PoAP in acidic medium

Właściwości i budowę filmu polimerowego zbudowanego z PoAP opisano szerzej w rozdziale 2.

1.2. WŁAŚCIWOŚCI BIOCHEMICZNE oAP

oAP jest substancją toksyczną, która może oddziaływać bezpośrednio na organizm ludzki. Może również wnikać do organizmu z pożywieniem w postaci metabolitów procesów wzrostowych grzybów lub powstawać podczas infekcji bakteryjnych.

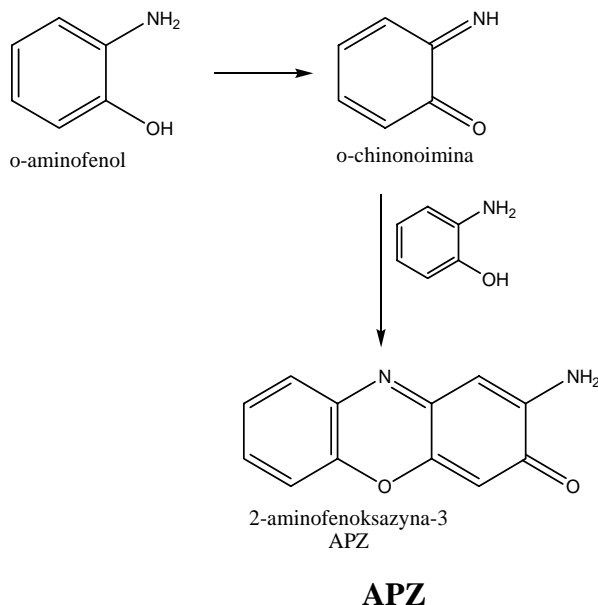
1.2.1. Mechanizm metabolizmu oAP w ludzkich erytrocytach

oAP utlenia wewnątrz komórkową hemoglobinę ludzkich erytrocytów do methemoglobiny [36] Również *in vitro* oAP utlenia oksyhemoglobinę do methemoglobiny [37].

Mechanizm metabolizmu oAP pod wpływem hemoglobiny badano stosując oksyhemoglobinę i methemoglobinę oraz ludzkie erytrocyty [38]. Wykazano, że zarówno oxyhemoglobina, jak i methemoglobina metabolizują oAP do 2-aminofenoksazyne-jeden. Ten sam przebieg reakcji zaobserwowany w ludzkich erytrocy-

tach wskazuje, że zawarta w erytrocytach hemoglobina pełni ważną rolę w metabolizmie oAP w komórkach. Fakt ten potwierdza hamowanie metabolizmu oAP w obecności karboksyhemoglobiny.

W celu przedstawienia przebiegu metabolizmu oAP w erytrocytach, posłużono się jednym z metabolitów tryptofanu – kwasem 3-hydroksy-antranilowym. Związek ten ma strukturę analogiczną do oAP. Ulega on w erytrocytach dimeryzacji do kwasu cynobrowego [39,40]. Na podstawie tej zależności zaproponowano następujący mechanizm metabolizmu oAP w ludzkich erytrocytach (Schemat 6):



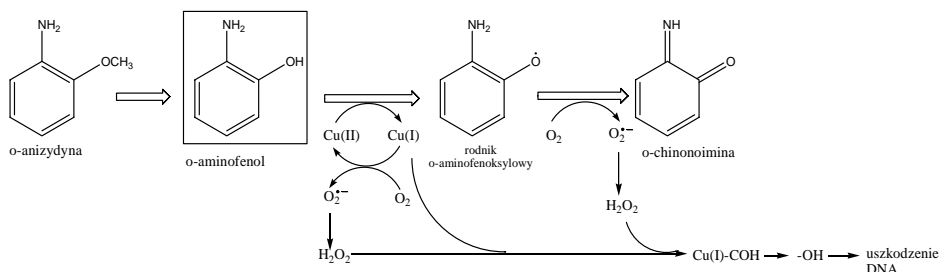
Schemat 6. Metabolizm oAP w ludzkiej hemoglobinie

Scheme 6. Metabolism of oAP in human hemoglobin

1.2.2. Uszkodzenia DNA powodowane przez oAP

oAP jest metabolitem kancerogennej *o*-anizydyny [41], aminy aromatycznej, używanej przy produkcji barwników i farmaceutyków. Pierwsza praca o kancerogenności *o*-anizydyny pojawiła w roku 1998 [42]. Schmidt i in. [41] stwierdzili, że enzymy mikrosomów szczura powodują dealkilację *o*-anizydyny do związku, który oznaczono jako oAP. Ohkuma i Kawanishi [43] zbadali, że metabolit anizydyny oAP sam nie powoduje uszkodzeń DNA. Pojawiają się one tylko w obecności Cu(II). oAP wywołuje specyficzne, miejscowe zmiany w DNA, najczęściej przy kolejnych resztach guaninowych, co świadczy, że rodniki musiałyby powstawać tuż przy miejscach uszkodzeń i przy jednoczesnym udziale Cu(II). Zaproponowali oni [43] mecha-

nizm powstawania uszkodzeń DNA indukowanych przez oAP (jako metabolitu *o*-anizydyny) w obecności miedzi(II) (Schemat 7).



Schemat 7. Mechanizm uszkodzenia DNA powodowany przez oAP w obecności Cu(II)

Scheme 7. Mechanism of DNA damage introduced by oAP in the presence of Cu(II)

Proces ten prowadzi do wytworzenia kompleksu DNA-Cu(I)- H_2O_2 [44]. H_2O_2 reagując z Cu(I) tworzy reaktywne związki, zdolne do uszkodzeń DNA. Zaobserwowano, że oAP powoduje uszkodzenie DNA wskutek reakcji z miedzią i powstawania reaktywnego tlenu [43, 45].

Uszkodzenia DNA mogą powstawać również w obecności tylko jonów miedzi, które mają zdolność przyłączania się do białek niehistonowych. Jednak z przedstawionych badań wynika, że są one dużo mniejsze niż w sumie z oAP jako metabolitem anizydyny.

1.2.3. Inne właściwości biochemiczne oAP

Aulinger i in. [46] wyizolowali z owocników grzybów *Lepiota americana* dwa metabolity *orto*-aminofenolu: 2-aminofenoksazyne-3 (APZ) oraz nową pochodną amino-1,4-benzochinonu (lepiotachinon). W celu wytworzenia tych związków w warunkach laboratoryjnych, jako substratów użyto oAP i amino-1,4-benzochinonu. Uzyskanie APZ i lepiotochinonu *in vitro* świadczy, o możliwości wytworzenia *o*-aminofenolu przez organizmy żywe.

O-aminofenol wytwarzany jest przez bakterie *Pseudomonas pseudoalcaligenes* [47]. W bakteriach tych występuje specyficzny enzym mutaza hydroksyloaminobenzenu, przekształcająca hydroksyloaminobenzen w oAP. Bakterie te mają możliwość rozwijania się w organizmie ludzkim (szczególnie w płucach dzieci chorych na mukowiscydozę), co świadczy że oAP może mieć w organizmie ludzkim również pochodzenie bakteryjne.

Praca [48] podaje reakcję sprzęgania *o*-aminofenolu przez mikrosomalną glukozylotransferazę, natomiast enzym syntaza izofenoksazyne, należąca do oksydoreduktaz, przekształca oAP w izofenoksazyne. Reakcja z jej udziałem przebiega następująco:



Podane informacje świadczą, że toksyczny oAP może dostawać się do organizmu nie tylko drogą zatruc przez odczynniki, ale może być zawarty w pożywieniu w postaci metabolitów procesów życiowych grzybów lub bakterii.

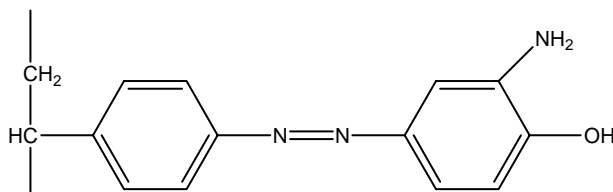
O obecności oAP w środowisku świadczy wytworzenie przez organizmy mechanizmów obronnych, takich jak sprzężanie w mikrosomach i obecność specyficznych enzymów metabolizujących ten związek.

1.3. PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ oAP

1.3.1. Wytwarzanie ekstrahentów metali poprzez modyfikację żywicy Amberlite XAD-2 oAP

Selektywna separacja śladowych ilości jonów metali ze skomplikowanych matryc przed ich oznaczeniem jest ciągle ważnym problemem chemii analitycznej. Dlatego prowadzone są badania nad syntezą nierozpuszczalnych polimerów, które charakteryzowałyby się dobrą stabilnością, wysoką zdolnością sorpcji jonów metali i odpornością na zmianę warunków pracy. Spośród wielu otrzymanych żywic, dobrymi właściwościami chelatującymi wykazywały się żywice z serii Amberlite XAD [43, 49].

Jedną z nich, będącą sorbentem polistyrenowym, jest Amberlit XAD-2. Funkcyjność nadano jej przez wbudowywanie w strukturę cząsteczek kwasu salicylowego [50]. Kumar i in. [51] uaktywnili funkcyjność żywicy Amberlite XAD-2 poprzez wbudowanie w jej strukturę oAP. oAP przyłączany był przez wiązanie $-\text{N}=\text{N}-$, co przedstawiono na Rysunku 5.



Rysunek 5. Struktura żywicy Amberlite XAD-2-oAP

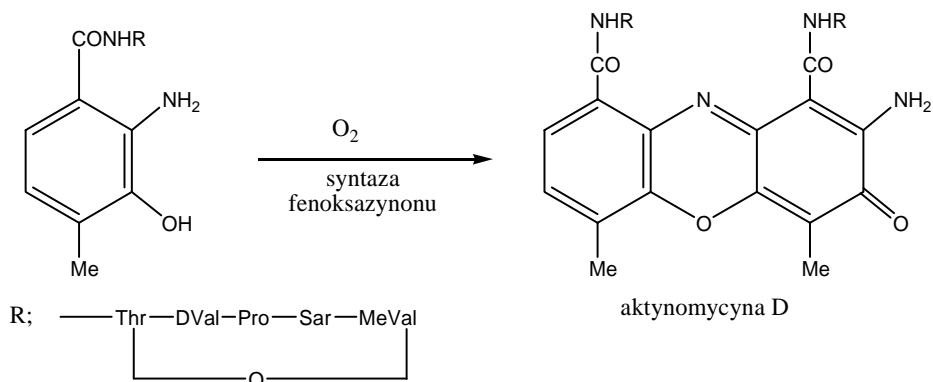
Figure 5. Structure of Amberlite XAD-2-oAP resin

Analiza żywicy wykazała, że na jedną jednostkę polimeru przypadają dwie cząsteczki oAP. Sprawdzenie zdolności adsorpcyjnych Amberlitu XAD-2-oAP przeprowadzono dla jonów Cu, Cd, Co, Ni, Zn i Pb, stosując do pomiarów ASA. Przebieg procesu sorpcji jonów zbadano w zależności od pH i czasu zateżnienia. Maksymalny poziom zateżnienia osiągnęto dla wszystkich kationów po około 30 minutach. Anali-

zowano także stabilność sorbentu wraz z prowadzeniem kolejnych załadunków. Uzyskane wyniki sugerują, że żywica jest trwała i nie traci swych właściwości po kolejnych cyklach sorpcji-desorpcji. oAP nadaje żywicy Amberlit XAD-2 wyjątkowo dobre zdolności adsorbujące. Otrzymany adsorbent wykorzystano do oznaczeń niskich stężeń jonów metali z próbek środowiskowych.

1.3.2. Pochodna oAP jako prekursor do wytwarzania aktynomycyny D

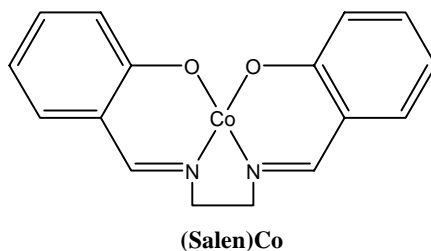
Aktynomycyna D jest znanym antybiotykiem oraz substancją stosowaną w leczeniu nowotworowym. Związek ten jest wytwarzany z prekursora będącego pochodną oAP. Ostatni etap biosyntezy aktynomycyn obejmuje oksydacyjne sprzęganie, związane z sześcieelektronowym utlenianiem pochodnych oAP [52]. Aktualnie aktynomycyna syntezowana jest przez katalityczne utlenianie pochodnej oAP, w obecności syntazy fenoksazyonu [53] (Schemat 8).



Schemat 8. Biosynteza aktynomycyny D
Scheme 8. Biosynthesis of actinomycin D

Biosyntezę aktynomycyn omówiono również jako reakcję utleniania oAP katalizowanej przez kompleksy kobaltu [54, 55].

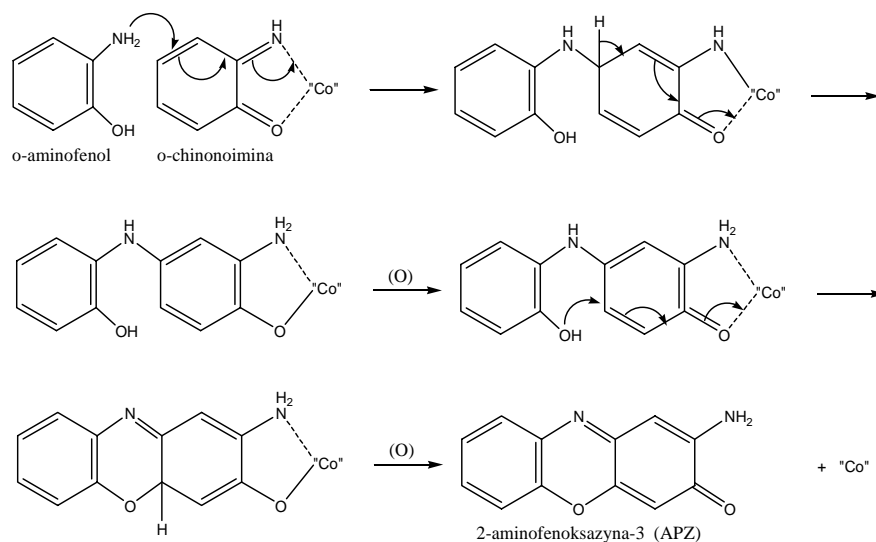
Selektywność tych reakcji jest jednak zbyt niska. Maruyama i in. [56] stwierdzili, że (salen)Co(III) (Rys. 22) może katalizować utlenianie oAP w obecności tlenu i metanolu, w pokojowej temperaturze do 2-aminofenoksazy-3, a nie do 2,2'-dihydroksyazobenzenu, jak twierdził wcześniej Benedini [57].



Rysunek 6. Wzór – (salen)Co

Figure 6. Structure of (salen)Co

Reakcja ta jest bardzo selektywna i zachodzi z niemal maksymalną wydajnością (94%). Specyficzne tworzenie się APZ można wytłumaczyć, zakładając sprzężoną addycję grup aminowych do *o*-chinonoiminy przykoordynowanej do centrum (salenu)Co(III) (Schemat 9).



Schemat 9. Katalizowane przez (salen)Co utlenianie oAP

Scheme 9. Catalyzed by (salen)Co oxidation of oAP

Grupa aminowa w oAP jest bardziej nukleofilowa, a w *o*-chinonoimynie jest silniejszym donorem niż grupa tlenowa. Można więc wnioskować, że specyficzne tworzenie się APZ w tej reakcji jest powodowane przez specyficzną addycję grup aminowych z oAP względem pozycji 4 *o*-chinonoiminy. Proces katalizowany przez (salen)Co(III) badano również dla pochodnych oAP. Wyniki uzależnione były od ułożenia podstawników przyłączonych do oAP. Niestety, w doświadczeniu nie sprawdzono działania (salenu)Co(III) na przebieg reakcji prekursora prowadzącego do

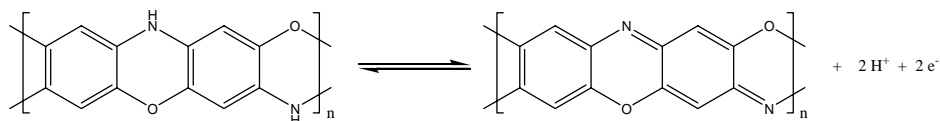
wytworzenia aktywnymocyny D. Możliwa jest więc wysoce selektywna reakcja prowadząca do wytworzenia tego ważnego leku.

2. POLI(*O*-AMINOFENOL) (PoAP)

2.1. WŁAŚCIWOŚCI I BUDOWA FILMU POLIMEROWEGO

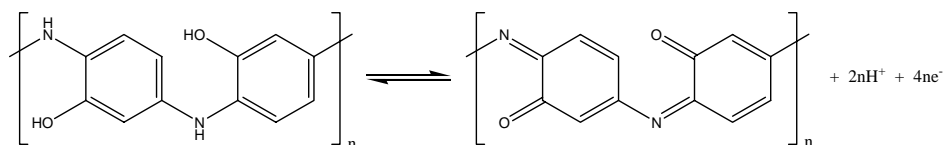
2.1.1. Właściwości elektrochromowe

Zmiany barwy filmu poli(*o*-aminofenolu) (PoAP), osadzonego na elektrodzie platynowej, w zależności od przyłożonego potencjału, zaobserwowali Barbero i in. [27, 58]. Elektrochromowe właściwości polimeru zależą również od pH elektrolitu, rodzaju anionów oraz grubości osadzonego filmu. Czynniki te wpływają na szybkość procesu utleniania/redukcji polimeru, którego przebieg przedstawiono na Schemacie 10. Film zmienia barwę z ciemnobrązowej – w stanie utlenionym na lekko żółtą – w stanie zredukowanym.



Schemat 10. Schemat reakcji utleniania (redukcji) filmu PoAP (struktura zamknięta).
Scheme 10. Scheme reaction for oxidation-reduction of PoAP film (ring closed)

Zhang i in. [12] dla filmu PoAP przedstawili strukturę z półotwartymi pierścieniami. Zaproponowany przez nich przebieg reakcji redoks przedstawia Schemat 11.



Schemat 11. Schemat reakcji utlenienia-redukcji filmu PoAP (struktura otwarta).
Scheme 11. Scheme reaction for oxidation-reduction of PoAP film (ring open)

Film PoAP otrzymywano chronowoltamperometrycznie na elektrodzie z węgla szklatego (GCE), stosując szybkość polaryzacji $V = 100$ mV/s, w zakresie potencjału polaryzacji elektrody od -250 do 800 V (względem SCE). Polimeryzację oAP ($0,05$ M) prowadzono w środowisku kwaśnym (1 M HClO_4 + $0,5$ M Na_2SO_4). Stwierdzono, że polimer musi mieć budowę podobną do polianiliny (Rys. 2).

Wartość $x = 1$ (liczba moli jednostek zredukowanych) obrazuje stan polimeru po całkowitym utlenieniu, natomiast $x = 0$ polimer jest całkowicie utleniony. Reakcja redoks polimeru PoAP jest więc wewnętrzną przemianą pomiędzy formami utlenionymi i zredukowanymi (Schemat 9). Polaryzacja elektrody z osadzonym polimerem do potencjałów wyższych niż 0,1 V powoduje w przeważającym stopniu przekształcanie polimeru w formę chinoidową. Postaci zredukowane występują w przewodzie przy potencjałach ujemnych. Wzrost potencjału zwiększa stopień utlenienia, ale nie prowadzi do całkowitego utlenienia nawet przy 500–600 mV.

Proces redoks elektroaktywnego polimeru obejmuje zarówno heterogeniczne procesy przeniesienia ładunku na granicy faz polimer/elektrolit, jak i homogeniczne procesy przeniesienia elektronów wewnątrz polimeru i/lub transport jonowy wewnątrz elektrolitu. W przypadku PoAP, proces heterogeniczny wydaje się być odpowiedzialny za szybkość reakcji redoks. Wyznaczenie współczynników przeniesienia ładunku dla heterogenicznych procesów utleniania i redukcji PoAP opisali Oshaka i in. [59]. Wartość współczynnika przeniesienia elektronu dla procesu anodowego (0,75) okazała się trzykrotnie wyższa niż dla procesu katodowego (0,21). Wskazuje to, że redukcja PoAP jest z kinetycznego punktu widzenia znacznie wolniejsza. Barbero i in. [60] również podają trudności na etapie redukcji. Reakcję redukcji ogranicza mała wartość współczynnika dyfuzji przeciwjonów w matrycy polimerowej ($D = (1-6) \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$) [59], który jest wartością dwa rzędy wielkości mniejszą od współczynnika dyfuzji dla poli(*o*-fenylenodiaminy).

2.1.2. Struktura filmu

W literaturze istnieje wiele rozbieżnych informacji na temat struktury tworzącego się polimeru PoAP. Barbero i in. [58, 60] oraz Goncalves i in. [15] przyjęli dla PoAP strukturę drabinkową zamkniętą (Schemat 8), zbudowaną z powtarzających się jednostek fenoksazyny, natomiast Zhang i in. [12] zaproponowali strukturę z częściowo otwartym pierścieniem, podobną do polianiliny (PAN) (Rys. 2). Wyniki pomiarów dla PoAP techniką spektrometrii IR [59] godzą obie koncepcje, gdyż świadczą o możliwości współistnienia obu struktur, czyli powstawaniu swego rodzaju kopolimeru. Możliwości takiej nie wykluczyła również Jackowska i in. [28]. Film PoAP, film APZ i elektrochemicznie otrzymane APZ przebadano stosując spektrometrię ramanowską. Na podstawie uzyskanych widm oraz stosunku intensywności pasma 1235 cm^{-1} względem pasma 1460 cm^{-1} dla obydwu filmów stwierdzono, że zmiany w tym stosunku mogą być spowodowane nieznaczną obecnością formy otwartej. Udowodniono również, że struktura częściowo otwarta może być przekształcana w strukturę fenoksazyno-podobną przez zastosowanie wysokich potencjałów lub przez działanie kationów metali przejściowych [61].

Otrzymywanie całkowicie zamkniętej struktury przewiduje się przy niskich stężeniach monomeru i wysokich potencjałach polaryzacji [62]. W pracy [63] za czyn-

nik mający bardzo duży wpływ na produkt elektropolimeryzacji, oprócz przebiegu samej procedury doświadczalnej, podano czystość użytego monomeru oAP. Użycie monomeru bez wcześniejszego oczyszczania, zawierającego produkty jego utleniania w powietrzu prowadzi do otrzymania produktu elektrochemicznej polimeryzacji jako kompozytu obu struktur polimerowych. Otrzymywanie PoAP o określonej strukturze zależy więc w dużej mierze od warunków prowadzenia elektropolimeryzacji i czystości użytego oAP.

2.1.3. Potencjałowy zakres przewodnictwa elektrycznego

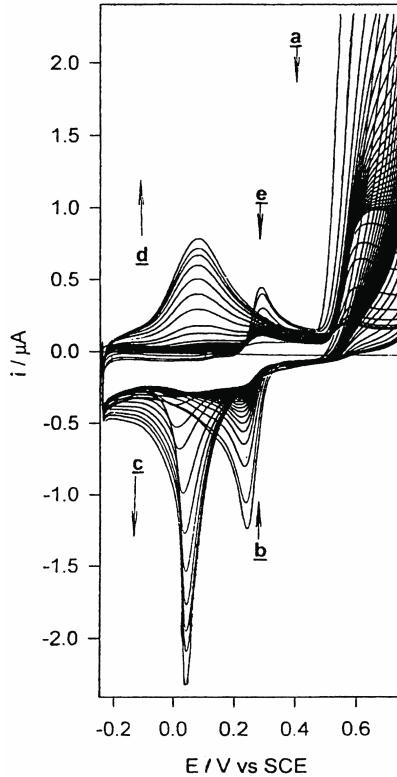
Film PoAP jest elektroaktywny zarówno w wodnych, jak i bezwodnych roztworach, zawierających protony aż do wartości $\text{pH} = 7$. Gdy pH roztworu maleje, piki prądowe (dla reakcji redoks) rosną z jednoczesnym przesuwaniem się w kierunku potencjałów bardziej ujemnych [64]. Reakcja redoks uważana jest za połączenie procesu eliminacji protonów z procesem odwracalnego przeniesienia ładunku [59, 64].

Wyznaczone wartości przewodnictwa elektrycznego dla filmu PoAP w stanie suchym są bardzo niskie i wynoszą $4 \times 10^{-7} \text{ S/cm}$ [65]. Parametr ten, mierzony podczas zwiększania się grubości filmu [65] w oparciu o zmiany w przebiegu *quasi*-odwracalnej reakcji redoks utleniania $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, wynosi $1,34 \times 10^{-4} \text{ S/cm}^{-1}$.

Wyznaczeniem zakresu potencjałowego, w którym film jest przewodzący, zajął się Ortega [63]. Przedstawione wnioski oparł na wynikach badań filmu stosując woltamperometrię cykliczną oraz spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR).

Elektrochemiczne utlenianie oAP ($1 \times 10^{-2} \text{ M}$) na elektrodzie platynowej w roztworze $0,4 \text{ M NaClO}_4$ prowadzono przy polaryzacji 100 mV/s , w zakresie $-0,25\text{V}$ do $0,75\text{V}$ (względem SCE). W pierwszym cyklu autor omawia tylko jeden pik anodowy (przy $0,65 \text{ V}$), który przypisuje utlenianiu monomeru do kationorodnika (pik 'a') (Rys. 7).

Nie zaobserwowano dla piku 'a' komplementarnego piku redukcji, podczas gdy w drugim cyklu wykształca się nowy pik anodowy 'b' (przy $0,23 \text{ V}$) z komplementarnym pikiem katodowym 'e' przy $0,29 \text{ V}$. Układ ten odpowiada prawdopodobnie reakcjom redoks dimeru. Podczas kolejnych cykli wysokość pików 'b' i 'e' zmniejsza się. Po 8–10 minutach prowadzenia procesu, w zakresie $0,00$ – $0,20 \text{ V}$ pojawia się dość wyraźny sygnał prądowy, przypisany polimerowi i APZ (piki c i d). Po kolejnych cyklach piki te stale rosną, co świadczy o ciągłym powstawaniu na powierzchni elektrody elektroaktywnego polimeru.



Rysunek 7. Voltamperogramy cykliczne oAP przy pH = 9 w roztworze zawierającym 0,4 M NaClO₄; $\nu_{\text{polar}} = 100 \text{ mVs}^{-1}$. Powierzchnia elektrody pracującej $1,9 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$. Strzałka wskazuje zmiany w wysokości pików podczas elektropolimeryzacji.

Figure 7. Cyclic voltammograms of oAP at pH = 9 in a solution containing 0.4 M NaClO₄, $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$. Area of the working electrode $1.9 \times 10^{-3} \text{ cm}^2$. Arrows indicate the changes in the peak height as electropolymerization is taking place.
(Reprint from publication [63] with permission (2247550207714) from Elsevier).

Ani polimer, ani dimer (piki 'b' i 'e') nie tworzą się, gdy końcowy zakres potencjału nie przekracza 650 mV. Podobne efekty obserwowano, gdy elektrootlenianie oAP odbywa się podczas ciągłego przepuszczania przez roztwór azotu. W warunkach mieszania roztworu produkty pośrednie, odpowiadające pikom 'b' i 'e', nie docierają do powierzchni elektrody i ich dalsze przekształcanie w polimer jest znacznie utrudnione. Wniosek ten jest zgodny z badaniami Barbero [58], który zaproponował, że polimer otrzymywany jest przez powolną reakcję cyklizacji dimeru do 3 APZ, który z kolei ulega polimeryzacji do PoAP. Piki 'c' i 'd' odpowiadają więc zarówno reakcjom redoks polimeru, jak i APZ.

Rejestrowany dla dimeru prąd anodowy I_p ('e') jest mniejszy niż pik katodowy ('b'). Spadek ten może być skutkiem zużywania się dimeru w reakcji cyklizacji podczas każdego cyklu voltamperometrycznego. Wydaje się, że zjawisko to nie jest

spowodowane przez szybką dyfuzję dimeru do roztworu. Przeprowadzone badania na dyskowej elektrodzie platynowej świadczą, że jest to związane z powolną reakcją chemiczną, prowadzącą do wykształcania się pików 'b' i 'e', a nie przez szybką dyfuzję dimeru od elektrody. Zużywanie cząsteczek dimeru podczas reakcji chemicznej prowadzi do zmniejszenia się komplementarnego pików 'e'. Przy wyższych szybkościach polaryzacji stężenie tworzącego się dimeru jest niskie, tak więc część z nich, która jest przekształcana do 3APZ, względnie się zmniejsza.

Wydłużanie się łańcucha zachodzi powoli. Ostatnia krzywa przedstawiona na Rysunku 7 odpowiada 180 cyklowi. Po 2–3 godzinach prowadzenia procesu elektrodowego nie zachodzą już zmiany w przebiegu krzywej, co świadczy o braku narastania polimeru na elektrodzie. Sytuacja taka ma miejsce, gdyż cząsteczki oAP, aby dotrzeć do elektrody i utlenić się do kationorodników, muszą przedyfundować przez film. Powoduje to ciągle zmniejszanie się wysokości pików 'a', 'b' i 'e' wraz z upływem czasu. Powstający film jest prawdopodobnie nieprzewodzący w dodatnich potencjałach. Fakt, że wzrost polimeru następuje po pewnym czasie indukcji, długo po tym jak piki odpowiadające kationorodnikowi oAP i dimerom stają się już bardzo małe, świadczy, że proces obejmuje późniejsze utlenianie i sprzęganie 3APZ. Podobne zachowanie podczas pierwszych cykli podczas elektrodulenia 3APZ [58] jest przypisywane elektrodowo osadzonej substancji oraz wzrostowi prądu pików podczas prowadzenia procesu. Potencjały pików dla monomeru i dla polimeru APZ były takie same i odpowiadały dokładnie potencjałom pików 'c' i 'd' z Rysunku 7. Wydaje się, że procesem prowadzącym do wydłużania polimeru jest przyłączanie się kolejnych jednostek 3APZ.

Kolejne badanie właściwości filmu dotyczyło jego sygnału redoks przy różnych szybkościach polaryzacji. Polimer przy 0,0 V wykazuje szeroki i niski pik utlenienia oraz ostry i wysoki pik redukcji. Różne przebiegi krzywych voltamperometrycznych zostały jakościowo zinterpretowane w oparciu o zjawisko zmiennej aktywności redukcji i utlenienia, powodowanej przez pęcznienie filmu. Pojawienie się znacznego spęcznienia polimeru powoduje zmniejszenie liczby miejsc aktywnych przypadających na jednostkę objętości. Badania metodą impedancji [66] wskazują, że masa, lepkość i sprężystość filmu polimerowego rosną, gdy potencjał staje się coraz bardziej ujemny, potwierdzając obecność polaronów w zakresie potencjału $-0,25-0,00$ V. Dla zachowania elektroobojętności filmu konieczne jest wejście anionów i pewnej ilości wody. Pozwala to również wyjaśnić spęczniały stan polimeru oraz obecność rozszerzonego pików anodowego. Powinowactwo filmu względem poszczególnych rozpuszczalników zależy od natury rozpuszczalnika i od samego filmu. Jako przykład może służyć poliwinylferrocen, badany w roztworach wodnych [67], który wykazuje podobne, lecz odwrócone względem PoAP, ułożenie pików z ostrym i wysokim pikiem utlenienia. Przy zastosowaniu jako rozpuszczalnika acetonitrylu, zarejestrowane na voltamperogramie piki były bardziej symetryczne i szersze. Rozszerzenie potencjałowe pików przypisywano również wzajemnym oddziaływaniom odpychającym miejsc aktywnych lub różnicom w ich roz-

łożeniu przestrzennym [68, 69]. Woltamperogramy cykliczne zarejestrowane dla PoAP przy różnych szybkościach polaryzacji wskazują, że potencjał pików anodowego nie zmienia się wraz ze zmianą szybkości, podczas gdy w tej samej sytuacji potencjał pików katodowego przesuwają się w kierunku potencjałów ujemnych. Według Ortegi, fakt, że pik katodowy jest zależny od zmiany szybkości polaryzacji oraz że podczas powrotnego anodowego cyklu obserwowane są bardzo małe prądy pików, sugeruje, że polimer w utlenionej formie jest nieprzewodzący.

Jedną z metod badania przewodnictwa w układach elektrochemicznych jest użycie modyfikowanej elektrody, jako elektrody pracującej w roztworach zawierających układy o znanym przebiegu procesu redoks [70]. Substancje te, charakteryzujące się niższymi potencjałami redoks niż potencjał formalny filmu, mogą być zredukowane na zmodyfikowanej elektrodzie, dlatego oczekiwane jest pojawienie się pików zarówno dla polimeru przewodzącego, jak i pary redoks. Metodę tę można również zastosować dla związków z potencjałem redoks wyższym niż potencjał formalny filmu.

Podsumowując swoje badania, Ortega stwierdza, że PoAP wykazuje właściwości przewodzące przy potencjałach polaryzacji niższych niż potencjał formalny filmu. Za przewodzącą naturę filmu w tym zakresie potencjału odpowiedzialne są polarony. Przy polaryzacji potencjału do wyższych wartości, w wyniku łączenia się polaronów, powstają bipolarony. Wydaje się jednak, że dikationy nie są znaczącymi nośnikami ładunku. Powstawanie nieprzewodzących, utlenionych form PoAP w różnych odcinkach polimeru ma znaczący wpływ na zmniejszenie jego przewodnictwa, gdyż prowadzi do izolowania polaronów i bipolaronów wzdłuż łańcuchów.

2.1.4. Transport przez elektrody zmodyfikowane PoAP

Transportem substancji przez elektrody zmodyfikowane filmem PoAP zajmował się Bonfranceschi i in. [71]. Badał on elektroaktywne substancje, takie jak $(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{4-}/(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-}$, hydrochinon/benzochinon (HQ/Q), $\text{Sn}^{2+}/\text{Sn}^{4+}$, które mogą dyfundować przez polimer. Do pomiarów zastosował wirującą elektrodę dyskową. Dyfuzję związków elektroaktywnych przez polimer zinterpretowano na podstawie teorii dyfuzji membranowej dla wirującej elektrody dyskowej [72].

W celu uzyskania stałej transportu elektronów, wykorzystano model przejścia elektronowego [73,74]. Zarówno proces transportu elektroaktywnych związków, jak i ruch elektronów w filmie badano w zależności od grubości polimeru.

Transport elektroaktywnych cząstek przez film, reprezentowany przez parametr $\kappa D_{sp} = (c_p/c) D_{sp}$ (gdzie c_p stężenie substancji w polimerze, c w roztworze na granicy faz polimer roztwór, D_{sp} współczynnik dyfuzji substancji aktywnej w polimerze), zmniejsza się wraz ze zwiększaniem się grubości filmu. Wpływ grubości pokrywającego elektrodę polimeru PoAP na procesy przenikania, oprócz zwiększania oporności, tłumaczono zmianami morfologii filmu, w zależności od jego średnicy, nadając mu różne właściwości fizyczne. Otwarta, globularna struktura charakterystycz-

na dla filmu o małej średnicy (< 60 nm) zawiera dość duże pory, w które może wnikać roztwór elektrolitu. Ułatwia to dyfuzję elektroaktywnych cząstek przez film. Przy większych grubościach PoAP, jego struktura staje się bardziej zwarta, uniemożliwiająca wnikanie elektrolitu do matrycy polimeru. Uzyskane wartości κD_{sp} są niższe niż dla otwartych struktur, a autorzy uznają je za rzeczywiste, gdyż nie pojawia się efekt wnikania elektrolitu do wnętrza polimeru.

Badano [71] również przenikanie naładowanych i nienaładowanych składników roztworu przez film. Dla filmu o dużej grubości (> 60 nm) w roztworze o $\text{pH} = 1$, szybkość transportu cząstek badanych substancji przedstawia się w następującej kolejności: $\kappa D_{sp}(\text{Sn}^{2+}/\text{Sn}^{4+}) < \kappa D_{sp}(\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}) < \kappa D_{sp}(\text{HQ}/\text{Q})$. Pojawiające się różnice tłumaczono odmiennymi interakcjami, zachodzącymi pomiędzy tymi cząstkami a polimerem (procesy powstawania par jonowych, kompleksów koordynacyjnych, tworzenie się wiązań wodorowych). Oddziaływania te znacznie zmieniają charakter transportu badanych substancji przez film PoAP. Szybkość przenikania badanych cząstek przez film PoAP zwiększa się, gdy zmniejsza się pH roztworu. Autor wyjaśnia to zwiększaniem się szybkości reakcji utleniania polimeru, przez co pogłębia się efekt jego pęcznienia.

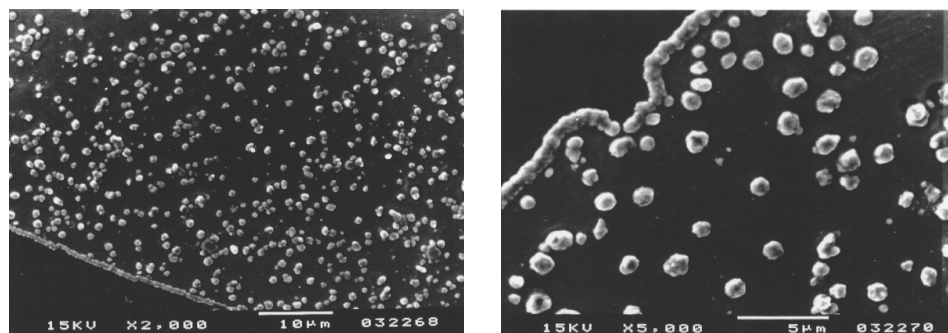
2.1.5. Elektroosadzanie metali na elektrodach zmodyfikowanych PoAP

Badanie procesu elektroosadzania srebra na zmodyfikowanej PoAP elektrodzie platynowej opisuje Hernández i in. [75]. Badania prowadzono z wykorzystaniem technik woltamperometrycznych. Na woltamperogramach cyklicznych, przedstawiających proces elektroosadzania srebra na czystej elektrodzie platynowej oraz zmodyfikowanej PoAP, w zależności od pH roztworu, wykształcają się piki zarówno dla polimeru, jak i srebra. Potencjały pików redukcji i utlenienia srebra nieznacznie przemieszczają się w kierunku potencjałów ujemnych. Autor tłumaczy to zwiększeniem się oporności filmu przy potencjałach wyższych niż potencjał formalny polimeru [66]. Prądy pików dla reakcji redoks srebra maleją również, w porównaniu z niepokrytą elektrodą. Ponieważ polimer w obszarze potencjałów, gdzie pojawiają się piki srebra, jest nieprzewodzący autor sugeruje, że osadzanie się metalu musi mieć miejsce na granicy faz elektroda platynowa/polimer PoAP. Zmniejszanie się prądów tłumaczy faktem, że jony metaliczne muszą przedyfundować przez pory w polimerze, aby dotrzeć do powierzchni elektrody Pt i zredukować się. Podwyższenie pH powoduje znaczącą zmianę aktywności PoAP, podczas gdy prądy pików dla reakcji redoks srebra pozostają bez większych zmian. Według Hernández, jest to dowód, że aktywna jest granica faz elektroda/polimer, a sam polimer PoAP ma niewielki udział w procesie elektroosadzania srebra. Badano również procesy odpowiadające redukcji srebra na filmach PoAP przy różnych nadpotencjałach i wartościach pH. Elektrokryształizacja srebra następuje po bardzo szybkim wytworzeniu się zarodków kryształizacji i ich trójwymiarowym wzroście, kontrolowanym przez dyfu-

zję. Model ten zaproponował wcześniej Scharifker i in. [76]. Przedstawione przez niego zdjęcia z mikroskopu skaningowego wskazują, że przy $\text{pH} = 5$ powstają kompleksy srebra z polimerem poprzez grupy aminowe, co powoduje zmianę właściwości elektrochemicznych tego układu i morfologii depozytów srebra. O ile przy elektroosadzaniu srebra z roztworów o niższych pH depozyty są kulistego kształtu, to przy $\text{pH} = 5$, przy którym polimer jest nieaktywny, powstają bardziej skomplikowane struktury. Autor sugeruje również możliwość wykorzystania zmodyfikowanej PoAP elektrody platynowej jako czujników dla jonów srebra.

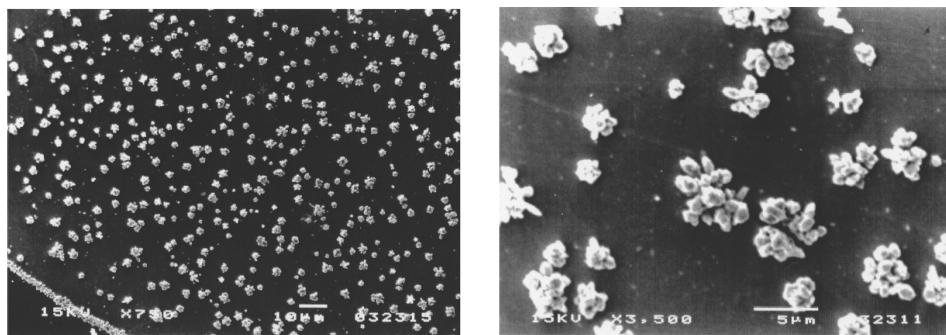
Badania procesu elektroosadzania metali na zmodyfikowanej PoAP elektrodzie platynowej prowadził również Ortega [77].

Proces elektrokryształizacji badał na przykładzie osadzania miedzi przy zmianie wartości przykładanego napięcia końcowego. Gdy proces kończono ograniczeniem potencjału przy wartościach wyższych niż -90 mV, zarodki krystaliczne przekształcały się w pojedyncze depozyty o kulistych i regularnych kształtach. Podczas elektrokryształizacji z zatrzymaniem przyłożonego potencjału przy niższych wartościach (-240 mV) powstało o dwa rzędy wielkości więcej zarodków, zgrupowanych w formie gron (Rys. 8, 9).



Rysunek 8. Zdjęcia z mikroskopu skaningowego elektroosadzania miedzi na elektrodzie zmodyfikowanej PoAP o grubości filmu 40 nm. Potencjał przykładano w zakresie od 279 do -90 mV (SCE) i utrzymywano wartość końcowego potencjału przez 18,5 s. Powierzchnia elektrody $1,9 \times 10^{-3}$ cm². Pokrycie $2,0 \times 10^7$ cząsteczek/cm²

Figure 8. Set of SEM photographs corresponding to the electrodeposition of copper on 40-nm thick PoAP modified electrode. Potential was stepped from 279 to -90 mV SCE and held at the latter value for 18.5 s. Electrode area 1.9×10^{-3} cm². Density number 2.0×10^7 particles/cm². (Reprint from publication [77] with permission (2247550399073) from Elsevier)



Rysunek 9. Zdjęcia z mikroskopu skaningowego elektroosadzania miedzi na elektrodzie zmodyfikowanej PoAP o grubości filmu 42 nm. Potencjał przykładano w zakresie od 279 do -240 mV (SCE) i utrzymywano wartość końcowego potencjału przez 18 s. Powierzchnia elektrody $1,9 \times 10^{-3}$ cm². Pokrycie $2,0 \times 10^7$ cząsteczek/cm²

Figure 9. Set of SEM photographs corresponding to the electrodeposition of copper on 42-nm thick PoAP modified electrode. Potential was stepped from 279 to -240 mV SCE and held at the latter value for 18 s. Electrode area 1.9×10^{-3} cm². Density number 2.0×10^7 particles/cm².

(Reprint from publication [77] with permission (2247550399073) from Elsevier)

Tworzenie się wielu centrów wzrostu podczas elektrokryształizacji miedzi przy niższych potencjałach autor tłumaczy obecnością przewodzących żyłek w nieprzewodzącej matrycy polimeru. Przewodzącymi łańcuchami są te, które prawdopodobnie zawierają niską zawartość jednostek otwartych. Liczba miejsc aktywnych zależy więc będzie od przyłożonego potencjału końcowego. Tworzenie się zarodków krystalizacji zachodzi prawdopodobnie na łańcuchach przewodzących, które mają kontakt z powierzchnią elektrody. Przy wyższych potencjałach zredukowane łańcuchy przewodzące są mniej rozwinięte, przez co wzrost ma miejsce na małej liczbie zarodków, a samo tworzenie się zarodków jest natychmiastowe. Przy niższych potencjałach, gdzie łańcuchy są bardziej zredukowane, liczba miejsc aktywnych wzrasta, ale tylko w tych miejscach, gdzie obecne są przewodzące „żyłki”.

2.2. PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ PoAP

2.2.1. Zastosowania analityczne PoAP

Jednym z wielu metabolitów analizowanych w płynach ustrojowych człowieka jest kwas moczowy (2,6,8-trihydroksypuryna). Jego identyfikacja i oznaczenie ilościowe ma bardzo duże znaczenie w diagnostyce i terapii pacjentów.

Oznaczeniom tego związku, które opierały się na selektywnej reakcji utleniania kwasu moczowego, katalizowanej przez oksydazę moczanową lub urykazę, towarzyszyły problemy z oznaczaniem kwasu moczowego w obecności interferentów, takich jak kwas askorbinowy czy bilirubina. Eliminację tych interferencji opisali

Kulys i in. [78] oraz Tatsuma i in. [79], którzy modyfikując powierzchnię elektrody dwuwarstwą oksydazy kwasu moczowego uzyskali amperometryczny biosensor dla kwasu moczowego, bazujący na oznaczaniu enzymatycznie wytwarzanego H_2O_2 . Elektroda ta jednak dość szybko ulegała procesowi starzenia.

Opracowaniem nowego, dwuenzymowego biosensora do pośredniego oznaczania kwasu moczowego przez wytwarzany biokatalitycznie H_2O_2 opisał Miland i in. [80]. Immobilizacja rykazy i peroksydazy chrzanowej w paście węglowej, połączona z elektropolimeryzacją oAP na powierzchni elektrody, doprowadziły do wytworzenia biosensora o lepszych parametrach analitycznych. Przy zastosowanym potencjale 50 mV (Ag/AgCl) czujnik ten wykazywał liniową odpowiedź do stężenia 1×10^{-4} M z limitem detekcji 3×10^{-6} M. Czas odpowiedzi wyniósł 37 s, co umożliwiło zastosowanie go w pomiarach FIA. Warstwa PoAP znacznie przedłuża czas życia tej elektrody i zmniejszenie wpływów interferujących kwasu askorbinowego i bilirubiny. Wiarygodność wyników pochodzących z amperometrycznych pomiarów próbek naturalnych z użyciem zmodyfikowanego PoAP bioczujnika dla kwasu moczowego sprawdzono, porównując go z danymi uzyskanymi z pomiarów spektrofotometrycznych, które okazały się zadawalające.

PoAP znalazł również zastosowanie przy ulepszeniu charakterystyki bioczujnika dla glukozy. Pan i in. [81], opierając się na powszechnie stosowanym oznaczaniu glukozy z wykorzystaniem immobilizowanej oksydazy glukozy (GOD), doprowadzili do wytworzenia czujnika o ulepszonych właściwościach. GOD katalizuje utlenianie glukozy z jednoczesnym wytwarzaniem nadtlenu wodoru. Elektrode platynową pokryto warstwą błękitu pruskiego (PB), który w swej zredukowanej postaci zdolny jest do katalizowania redukcji H_2O_2 przy zastosowaniu niskich potencjałów, nawet w obecności tlenu cząsteczkowego [82]. Do immobilizacji GOD wykorzystano elektroosadzany film PoAP na zmodyfikowanej PB elektrodzie platynowej. Wytworzony w ten sposób czujnik wykazywał znacznie lepsze parametry analityczne. Przy zastosowanym potencjale (0 V vs Ag/AgCl) amperometryczny czujnik glukozy wykazywał względnie niski limit detekcji (0,01 mM), krótki czas odpowiedzi (około 5 s), dużą gęstość prądową (0,28 mA/cm²) i wysoką czułość (24 mA⁻¹ cm⁻²). W porównaniu z modyfikacją powierzchni elektrody platynowej samym filmem PB, biosensor Pt/PB/PoAP/GOD charakteryzuje się lepszą stabilnością w środowisku obojętnym. W próbkach fizjologicznych nie ulega interferencjom przez kwas askorbinowy, kwas moczowy i acetaminofenon.

Innym biosensorem do oznaczania glukozy jest biosensor bazujący na immobilizacji oksydazy glukozy w filmie PoAP na kompozycie polypiroł–platyna modyfikującej węglową elektrodę szklistą. Daje on dobrą odpowiedź w stosunku do glukozy w zakresie stężeń $1,5 \times 10^{-6}$ do $1,3 \times 10^{-2}$ M, z limitem detekcji $4,5 \times 10^{-7}$ M. Stężenie glukozy nie ulega interferencjom w obecności kwasu askorbinowego, moczowego i *p*-acetyloaminofenolu [83].

Do oznaczania glukozy w pełnej krwi stosowano z powodzeniem amperometryczny biosensor, bazujący na elektrodzie modyfikowanej nanorurkami węglowymi

zawierającymi bor [84]. Nanorurki (BCNTs) zawierające bor otrzymywano przez reakcję węglowych nanorurek z pyłem B_2O_3 . Elektrode z węgla szklistego pokrywano warstwą borowych nanorurek, a następnie na elektrodę GC/BCNTs immobilizowano GOD przez elektro kopolimeryzację GOD i oAP. Jako wynik otrzymano elektrodę GC/BCNTs/PoAP-GOD.

Przy potencjale $+0,6$ V i $pH = 7$ biosensor ma dobrą charakterystykę: wysoką czułość ($171,2$ nA mM^{-1}), niski limit detekcji $-3,6$ μM , krótki czas odpowiedzi 6 s oraz właściwości antyinterferencyjne i dobrą stabilność.

Znane jest również zastosowanie zmodyfikowanej filmem PoAP elektrody przy oznaczaniu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH) [85]. Osadzony na elektrodzie film wykazuje efekt katalityczny dla procesu elektrootleniania NADH. Pokrycie elektrody PoAP powoduje, że amperometryczna odpowiedź elektrody ma liniowy przebieg aż do $1,5 \times 10^{-6}$ M, z limitem detekcji $3,1 \times 10^{-8}$. Czas odpowiedzi jest niższy niż 15 s. Ciekawe właściwości, które wykazuje film PoAP osadzony na tlenkowej elektrodzie indowo-cynowej (ITO), zaobserwował Yano i in. [86]. Powołując się na pracę Zhanga i in. [87] o zdolności przyłączania jonów metali przez film zauważył, że zmodyfikowana PoA elektroda ITO ma zdolność wychwytywania jonów Fe^{3+} . Yano zaobserwował, że film nie tylko przyłącza rozpuszczone jony, ale również co najmniej częściowo redukuje je do jonów Fe^{2+} . W wyniku tego elektroda filmowa wykazuje nernstowską odpowiedź względem jonów Fe^{3+} , z powodu wymiany elektronowej pomiędzy jonami Fe^{2+} w filmie i obecnymi w roztworze jonami Fe^{3+} . Tłumacząc takie zachowanie filmu autor opiera się na strukturze filmu zaproponowanej przez Zhanga i in. [87], czyli strukturze 1,4-podstawionej. W strukturze tej w polimerowym szkielecie występują jednocześnie grupy hydroksylowe i aminowe, których wolne pary elektronowe zdolne są skoordynować jony metali.

Potencjał redukcji filmu jest o około 0,6 V niższy niż jonów Fe^{3+} , przez co schwyte jony Fe^{3+} są przynajmniej częściowo zredukowane przez film. Odpowiedź potencjałowa polega na transferze elektronów pomiędzy jonami Fe^{2+} w filmie i obecnymi jonami Fe^{3+} w roztworze. Zmodyfikowana PoAP elektroda tlenkowa wykazała nernstowską odpowiedź dla jonów Fe^{3+} , z nachyleniem charakterystyki -57 mV/ $\log[Fe^{3+}]$. Czas odpowiedzi był niższy niż 10 s, a odpowiedź obserwowano do stężenia $Fe^{3+} = 10^{-4}$ M.

Zmodyfikowana PoAP elektroda ITO nie wykazuje nernstowskiej odpowiedzi dla innych badanych jonów. Dzieje się tak, gdyż odpowiadające tym kationom zredukowane formy (Ni, Cu, Zn) są nieobecne w filmie.

2.2.2. Film PoAP jako powłoka antykorozyjna miedzi

Badanie właściwości antykorozyjnych powłok PoAP opisuje Guenbour i in. [88]. Zgodnie z jego wcześniejszymi badaniami, elektropolimeryzacja oAP z mocno alkalicznego roztworu ($pH = 12$) prowadzi do otrzymania homogenicznego i dobrze przylegającego filmu [30]. Te bardzo ciekawe właściwości postanowił wykorzystać

do wytworzenia antykorozyjnych powłok dla miedzi. Zachowanie antykorozyjne w 0,5 M roztworze NaCl badano z wykorzystaniem elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej oraz pomiarów grawimetrycznych. Szybkość korozji mierzona była na podstawie pomiarów zawartości miedzi w roztworze, z wykorzystaniem spektroskopii absorpcyjnej. Badanie korozji prowadzono równolegle dla miedzi z pokryciem powłoki PoAP i bez niej. Zauważono, że miedź bez pokrycia PoAP w ciągu 12 godzin ekspozycji zmniejszyła swoją masę o około 600 mg, podczas gdy z powłoką polimerową 54 mg/cm³. Współczynnik inhibicji korozji wyniósł więc ok. 97%. Krzywa zależności szybkości korozji od czasu kontaktu z roztworem NaCl wskazuje na wzrost szybkości korozji w pierwszych godzinach prowadzenia tego procesu, aż do osiągnięcia pewnej równowagi po ok. 40 h. Autor tłumaczy to zjawisko hydratacją i pęcznieniem polimeru, przez co zmieniają się elektrochemiczne właściwości powłoki. Znaczne zmniejszenie szybkości korozji potwierdzono również pomiarami impedancyjnymi. Polimer PoAP daje więc możliwość użycia go do produkcji powłok antykorozyjnych.

ZAKOŃCZENIE

oAP i jego elektroaktywne polimery, są aktualnym tematem badań wielu grup naukowych. Badania skupiają się na mechanizmie tworzenia filmów przewodzących oraz możliwości wykorzystania przede wszystkim w analityce, co zostało krótko przedstawione w niniejszej pracy.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H. Yang, A.J. Bard, *J. Electroanal. Chem.*, 1992, **339**, 423.
- [2] N. Yamada, K. Teshima, N. Kobayashi, R. Hirohashi, *J. Electroanal. Chem.*, 1995, **394**, 71.
- [3] J. Chiang, A.G. MacDiarmid, *Synthetic Met.*, 1986, **13**, 193.
- [4] M. Gattrell, D.W. Kirk, *J. Electrochem. Soc.*, 1992, **139**, 2736.
- [5] R. Lapuente, F. Cases, P. Garcés, E. Morallón, J.L. Vázquez, *J. Electroanal. Chem.*, 1998, **451**, 163.
- [6] H.J. Salavagione, J. Arias, P. Garcés, E. Morallon, C. Barbero, J.L. Vázquez, *J. Electroanal. Chem.*, 2004, **565**, 375.
- [7] O.I. Konopelnik, O.I. Aksimientyeva, M.Y. Grytsiv, *Mater. Sci.*, 2002, **20**, 49.
- [8] W. Sun, K. Jiao, S. Zhang, C. Zhang, Z. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, 2001, **434**, 43.
- [9] Sh. Taj, M.F. Ahmed, S. Sankarapavinasam, *J. Electroanal. Chem.*, 1992, **338**, 347.
- [10] F. Gopal, K. Malek, M.G. Mahjani, M. Jafarian, V. Safarnavadeh, *Synh. Met.*, 2000, **108**, 15.
- [11] C. Barbero, J.J. Silber, L. Sereno, *J. Electroanal. Chem.*, 1989, **263**, 333.
- [12] A.Q. Zhang, C.Q. Cui, Y.Z. Chen, J.Y. Lee, *J. Electroanal. Chem.*, 1994, **373**, 115.
- [13] R.I. Tuceru, *J. Electroanal. Chem.*, 2004, **562**, 173.
- [14] S.P. Harmalkar, D.T. Sawyer, *J. Org. Chem.*, 1984, **49**, 3579.
- [15] D.Gonçalves, R.C. Faria, M. Yonashiro, L.O.S. Bulhões, *J. Electroanal. Chem.*, 2000, **487**, 90.
- [16] R.G. Srivastava, R.L. Pandey, P.S. Venkataramani, *Indian J. Chem.*, 1981, **20B**, 995.

- [17] M. Kaneko, K.S. Choi, E. Tsuchida, I. Shinohara, *Kogyo Kagaku Zashi*, 1969, **72**, 2634.
- [18] S. Kunitamura, T. Ohsaka, N. Oyama, *Macromolecules*, 1998, **21**, 894.
- [19] T. Nogami, T. Hishida, M. Yamada, H. Mikawa, Y. Shirota, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1975, **48**, 3709.
- [20] A.F. Díaz, J.L. Castillo, J.A. Logan, W.Y. Lee, *J. Electroanal. Chem.*, 1981, **129**, 115.
- [21] T. Kobayashi, H. Yoneyama, H. Tamura, *J. Electroanal. Chem.*, 1984, **177**, 281.
- [22] P. Gao, D. Gosztla, M.J. Weaver, *J. Phys. Chem.*, 1989, **93** 3753.
- [23] K. Jackowska, J. Bukowska, A. Kudelski, *J. Electroanal. Chem.*, 1993, **350**, 115.
- [24] E.M. Genies, M. Lapkowski, *J. Electroanal. Chem.*, 1987, **236**, 189.
- [25] E.M. Genies, M. Lapkowski, *Synth. Met.*, 1988, **24**, 61.
- [26] D.E. Stilwell, Su-Moon Park, *J. Electrochem. Soc.*, 1988, **135**, 2254.
- [27] C. Barbero, J. Zerbino, L. Sereno, D. Posadas, *Electrochim. Acta*, 1987, **32**, 693.
- [28] K. Jackowska, J. Bukowska, A. Kudelski, *Polish J. Chem.*, 1994, **68**, 141.
- [29] P.G. Desideri, L. Lepri, D. Heimler, *J. Electroanal. Chem.*, 1971, **32**, 225.
- [30] A. Guenbour, A. Kacemi, A. Benbachir, L. Aries, *Prog. Org. Coating.*, 2000, **38**, 121.
- [31] A.D. Cross, R.A. Jones, *An Introduction to Practical Infrared Spectra*, Butterworths, London.
- [32] M.C. Pham, P.C. Lacaze, J.E. Dubois, *Bull. Soc. Chim. France*, 1986 **124**, 162.
- [33] M.C. Pham, P.C. Lacaze, J.E. Dubois, *Bull. Soc. Chim. France*, 1986 **124**, 102.
- [34] D.H. Williams, I. Flening, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, McGraw-Hill, London, 1992.
- [35] A.A. Shah, R. Holze, *J. Electroanal. Chem.*, 2006, **597**, 195.
- [36] W. Huebner, R. Meier, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 1923, **100**, 137.
- [37] M. Wind, *A. Stern, Experientia*, 1977, **33**, 1500.
- [38] A. Tomoda, J. Yamaguchi, H. Kojima, H. Amemiya, Y. Yoneyama, *FEBS Lett*, 1986, **196**, 44..
- [39] A. Tomoda, E. Shirasawa, S. Nagao, M. Minami, Y. Yoneyama, *Biochem. J.* 1984, **222**, 755.
- [40] R. Hiramatsu, T. Hara, H. Akimoto, O. Takikawa, T. Kawabe, K. Izobe, F. Nagase, *J. Cell. Biochem.*, 2007, **103**, 42.
- [41] H.L. Schmidt, R. Moller, N. Weber, *Biochem. Pharmacol.* 1973, **22**, 2989.
- [42] F. Sasaki, E. Nishidate, Y.Q. Su, N. Matsusuka, S. Tsuda, N. Susa, Y. Furukawa, S. Ueno, *Mutat. Res.*, 1998, **412**, 155.
- [43] Y. Ohkuma, S. Kawanishi, *Archiv. of Biochem. and Biophys.*, 2001, **398**, 49.
- [44] K. Yamamoto, S. Kawanishi, *J. Biol. Chem.*, 1989, **264**, 15435.
- [45] R. Liang, S. Senturker, X. Shi, W. Bal, M. Dizdaroglu, K.S. Kasprzak, *Carcinogenesis*, 1999, **20**, 893.
- [46] K. Aulinger, N. Arnold, W. Steglich, *Z. Naturforsch.*, 2000, **55c**, 481
- [47] F. Nishino, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**, 2520.
- [48] G.J. Wishart, G.J. Dutton, *Biochem. J.*, 1977, **168**, 507.
- [49] J. Brennan, R.H. Schiestl, *Mutagenesis.*, 1997, **12**, 220.
- [50] R. Saxena, A.K. Singh, D.P.S. Rathore, *Analyst*, 1995, **120** 403.
- [51] M. Kumar, D.P.S. Rathore, A. Singh, *Talanta*, 2000, **51**, 1187.
- [52] E. Katz, H. Weissbach, *J. Biol. Chem.*, 1962, **237** 882.
- [53] E. Barry, P.G. Nayar, T.P. Begley, *J. Am. Chem. Soc.* 1988, **110**, 3333.
- [54] Z. Szeverenyi, E.R. Milaeva L.I. Simandi, *J. Mol. Catal.*, 1991, **67**, 251.
- [55] L. Prati, M. Rossi, N. Ravasio, *J. Mol. Catal.*, 1992, **75**, 347.
- [56] K. Murayama, T. Moriguchi, T. Mashino, A. Nishinaga, *Chem. Lett.*, 1996, **819**, 63.
- [57] F. Benedini, G. Galliani, M. Nali, B. Rindone, S. Tollari, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1985, **2**, 1963.
- [58] C. Barbero, J.J. Silber, L. Syreno, *J. Electroanal. Chem.*, 1989, **263**, 333.
- [59] T. Ohsaka, S. Kunitamura, N. Oyama, *Electrochim. Acta*, 1988, **33**, 639.

- [60] C. Barbero, J.L. Silber, L. Sereno, *J. Electroanal. Chem.*, 1990, **291**, 81.
- [61] Y.Z. Chen, A.Q. Zhang, Z.W. Tian, *Chem. J. Chin. Univ.*, 1991, **12**, 519.
- [62] E.M. Genies, M. Lapkowski, J.F. Penneau, *J. Electroanal. Chem.*, 1988, **249**, 97.
- [63] J.M. Ortega, *Thin Solid Films*, 2000, **371**, 28.
- [64] C. Barbero, J.L. Silber, L. Sereno, *J. Electroanal. Chem.*, 1990, **291**, 874.
- [65] S. Kunimura, T. Ohsaka, N. Oyama, *Macromolecules*, 1998, **21**, 894.
- [66] J.M. Ortega, *Synthetic Metals.*, 1998, **97**, 81.
- [67] M.D. Ward, *J. Phys. Chem.*, 1988, **92**, 2049.
- [68] J.R. Lenhard, R.W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 7870.
- [69] F.B. Kaufman, E.M. Engler, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 547.
- [70] M. Skompska, L.M. Peter, *J. Electroanal. Chem.*, 1995, **383**, 79.
- [71] A. Bonfranceschi, A. Pérez Córdoba, S. Keunchkarin, S. Zapata, R. Tucceri, *J. Electroanal. Chem.*, 1999, **477**, 1.
- [72] T. Ikeda, R. Schmehl, P. Denisevich, K. Wilman, R.W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 1683.
- [73] C.P. Andrieux, J.M. Savéant, *J. Electroanal. Chem.*, 1980, **111**, 377.
- [74] E. Laviron, *J. Electroanal. Chem.*, 1980, **112**, 1.
- [75] N. Hernández, J.M. Ortega, M. Choy, R. Ortiz, *J. Electroanal. Chem.*, 2001, **515**, 123.
- [76] B. Sharifker, G. Hills, *Electrochim. Acta*, 1983, **28**, 879.
- [77] J.M. Ortega, *Thin Solid Films*, 2000, **360**, 159.
- [78] J.J. Kulys, V.S.A. Laurinavicius, M.V. Pesliakienė, U.V. Gureviciene, *Anal. Chim. Acta*, 1983, **141**, 13.
- [79] T. Tatsuma, T. Watanabe, *Anal. Chim. Acta*, 1991, **242**, 85.
- [80] E. Miland, A.J. Ordieres, P. Blanco, M.R. Smyth, C.Ó Fágáin, *Talanta*, 1996, **43**, 785.
- [81] D. Pan, J. Chen, L. Nie, W. Tao, S. FAO, *Anal. Biochem.*, 2004, **324**, 115.
- [82] K. Itaya, H. Akahoshi, S. Toshima, *J. Electrochem. Soc.*, 1982, **129**, 1498.
- [83] J. Li, X. Lin, *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, **22**, 2898.
- [84] X. Chen, J. Chen, Ch. Deng, Ch. Xiao, Y. Yang, Z. Nie, S. Yao, *Talanta*, 2008, **76**, 763.
- [85] M.J. Lobo, A.J. Miranda, J.M. López-Fonseca, P. Tunón, *J. Anal. Chim. Acta*, 1996, **325**, 33.
- [86] J. Yano, H. Kawakami, S. Yamasaki, Y. Kanno, *J. Electrochem. Soc.*, 2001, **148** E-61.
- [87] A.Q. Zhang, C.Q. Cui, J.Y. Lee, *J. Electroanal. Chem.*, 1996, **413**, 143.
- [88] A. Guenbour, A. Kacemi, A. Benbachir, *Progress in Organic Coatings*, 2000, **39**, 151.

Praca wpłynęła do Redakcji 28 września 2009

FELIETON NAUKOWY



OKRUCHY XIV.
O PRACACH CHEMICZNYCH
ALEKSANDRA HUMBOLDTA
I JEGO PODRÓŻY WARSZAWSKIEJ

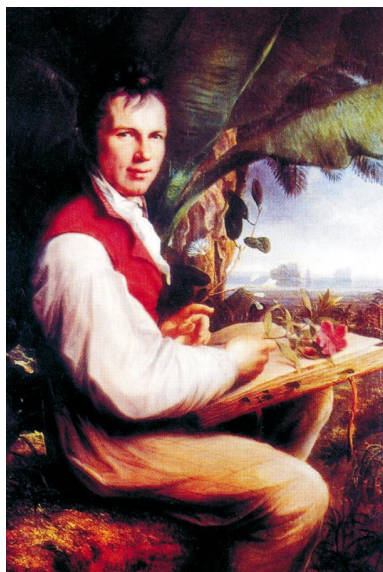
Ignacy Z. Siemion

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



Ignacy Z. Siemion, urodzony w 1932 r., ukończył studia chemiczne na Uniwersytecie Moskiewskim w 1955 r. Doktorat nauk technicznych na Politechnice Wrocławskiej – 1964. Doktor habilitowany nauk chemicznych – 1968. Profesor nadzwyczajny – 1974, profesor zwyczajny – 1981. Był kierownikiem Zakładu Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Własne zainteresowania badawcze: chemia i stereochemia peptydów i białek. Wypromował 23 doktorów chemii, z których trzech się habilitowało. Autor 8 książek, 275 prac oryginalnych i ponad 120 artykułów przeglądowych oraz dotyczących

historii nauki. W latach 1983–1994 Redaktor Naczelny „Wiadomości Chemicznych”. Obecnie opiekun Gabinetu Historii Chemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.



Rysunek 1. Aleksander Humboldt.
Portret pędzla F.G. Weltscha (1806)

badawcze: pięcioletnią (1799–1804) do Ameryki Południowej i blisko roczną, syberyjską (1829). Publikacja wyników ekspedycji do Ameryki zajęła mu szereg lat i objęła 34 tomy sprawozdań i opracowań. Pamięć o pierwszej jego wielkiej podróży zachowała się, między innymi, w nazwie zimnego prądu oceanicznego, omywającego wybrzeża Peru. Jest to właśnie Prąd Humboldta. Jego przewodnią ideą było uzyskanie pełnego fizycznego opisu Ziemi. Temu opisowi poświęcił swoje wielotomowe dzieło: „Kosmos”, którego pierwsze trzy tomy wydano również w przekładzie polskim.

Przyszły geograf i podróżnik dość długo szukał swej życiowej drogi. Najpierw we Frankfurcie nad Odrą studiował kameralistykę. Potem przeniósł się do Getyngi, gdzie nauczał wybitny filolog – Heyne, i znany fizyk i filozof Lichtenberg. Ale ważniejsze dla młodego Humboldta było spotkanie z Jerzym Forsterem (1754–1794). Ten, urodzony niedaleko Gdańska i mający polskie korzenie, młody jeszcze uczony, wslawił się uczestnictwem w podróży dookoła świata kapitana Cooka. Opisał ją w sławionej książce pt. „*A voyage toward South Pole and round the World In HM „Resolution”*” (1777). Forster był przez krótki czas profesorem historii naturalnej na uniwersytecie wileńskim (1784–1787). Skuszony propozycją carycy Katarzyny do uczestnictwa w przygotowywanej nowej podróży dookoła świata, porzucił tę pracę i został bibliotekarzem w Moguncji. Latem 1790 roku chciał Renem popłynąć do Holandii, a potem morzem do Anglii; towarzyszył mu Humboldt. Ta podróż w stałym towarzystwie wielkiego podróżnika i przyrodnika wywarła z pewnością ogromny wpływ na Humboldta, który Forstera uważał zresztą za swojego nauczyciela i zarazem przyjaciela. Stał się jakby kontynuatorem jego drogi życiowej.

Aleksander von Humboldt (1769–1859), sztandarowa postać nauki w krajach niemieckich, był gorliwym rzecznikiem i uczestnikiem międzynarodowej współpracy naukowej. Nic dziwnego, że jego właśnie wybrano na patrona fundacji wspierającej młodych badaczy poprzez organizowanie dla nich staży w naukowych placówkach Niemiec. Mijający rok to rok dwóch okrągłych rocznic humboldtowskich: 150-lecia zgonu i 240-lecia urodzin. Aleksander Humboldt był jednym z ostatnich już przyrodników Europy, którzy swoimi zainteresowaniami pokrywali całą przestrzeń ówczesnego przyrodznawstwa. Ale w historii nauki znany jest przede wszystkim jako twórca geografii fizycznej, gdzie stopił ze sobą wątki geologii, klimatologii i meteorologii, geografii roślin i geografii zwierząt. Geografia roślin to zresztą dziedzina, którą zapoczątkował własnym wysiłkiem. Był niestrudzonego podróżnikiem. Odbył dwie wielkie podróże

Przedsięwziętą podróż opisał Forster w trzytomowym dziele „*Ansichten von Niederrhein, von Brabant, Flandern, Holland und Frankreich, im Mai und Junius des Jahrganges 1790*” (Berlin 1791–1794). Dzieło to uważane jest za klasyczne w literaturze niemieckiej.

Rok 1791 zastał Humboldta w Hamburgu. Studiował tam na Akademii Handlowej, ale jeszcze w tym samym roku przeniósł się do Freibergu, do tamtejszej Akademii Górniczej. Słynęła ona w świecie nazwiskiem Abrahama Wenera, jednego z twórców nauki mineralogicznej. Humboldt poznawał tam mineralogię i petrologię oraz stratyografię i samodzielną – bo we Freibergu nie było wtedy samodzielnej katedry chemii – douczał się w nowych, płynących z Francji ideach chemicznych. W roku 1792 został asesorem w urzędzie górniczym w Berlinie. Z urzędem tym związany był przez siedem lat. W tym czasie ukazała się pierwsza większa praca Humboldta: *Flora subterranea Freibergensis et aphorismi ex physiologia chemica plantarum*. A więc z jednej strony paleontologia, a drugiej fizjologia chemiczna roślin – tak wyglądały wczesne zainteresowania badawcze Humboldta.

Jako urzędnik urzędu górniczego, odbył Humboldt szereg podróży, rzec by można, służbowych. Między innymi na tereny rozebranej Polski: do Krakowa, Wieliczki i Bochni (1792), oraz Ciechocinka i Inowrocławia (1794). Kierunki tych podróży zdradzają, że głównym problemem, jakim się zajmował Humboldt jako asesor górniczy, było wtedy kopalnictwo soli.

Latem 1798 roku znalazł się Humboldt w Paryżu, gdzie doszło do nawiązania bliskich kontaktów, przyjaźni i współpracy z uczonymi francuskimi. W maju miał Humboldt w Instytucie Francuskim wykład o tlenkach azotu. Kilka dni później o atmosferze ziemskiej. W czerwcu prowadził wraz z uczonymi francuskimi doświadczenia nad inklinacją magnetyczną. W październiku – znów w Instytucie – referował wyniki doświadczeń nad adsorpcją tlenu przez proste ziemie. Równocześnie przygotowywał swą wielką podróż. Wreszcie ruszył, na statku o nazwie – *nomen omen* – „Pizarro”. Tak więc słynny konkwistador miał patronować ekspedycji Humboldta.

Bazą wypadową przedsięwziętych wypraw stała się Kuba. Stąd wyprawiał się do krajów Ameryki Południowej i Środkowej, a wreszcie i do Północnej. Zbadał kolejno tereny Wenezueli, Kolumbii, Peru, Ekwadoru oraz Meksyku. Oczy całego świata zwróciła zwłaszcza próba wejścia, 23 czerwca 1802 roku, na wygasły wulkan, Chimborazo (6310 m). Ta najwyższa góra Ekwadoru uchodziła podówczas za najwyższą górę świata.

Po powrocie do Europy zatrzymał się Humboldt dłużej w Paryżu. W Instytucie Francuskim miał wykłady o wynikach swojej podróży, o głównych założeniach geografii zwierząt – nauki, którą właśnie zaczął tworzyć. W jego próbie opisu fizycznego świata nie mogło zabraknąć atmosfery ziemskiej. Na przełomie lat 1804/1805 rozpoczął więc wraz z francuskim młodym uczonym, J.L. Gay-Lussacem (1778–1850) (Rys. 2) doświadczenia nad określeniem składu chemicznego atmosfery. W tym zespole Humboldt musiał zapewne dominować, jako starszy o blisko

10 lat i już sławny uczony. Analiza chemiczna powietrza atmosferycznego była wtedy aktualnym i ważnym problemem analitycznym. Co więcej, uważano, że zawartość tlenu w powietrzu może być wskaźnikiem dobrej pogody. Dużo słońca, zwiększona asymilacja roślin, więcej tlenu w powietrzu. Aparaty do pomiaru zawartości tlenu w powietrzu nazwano więc eudiometrami, dosłownie – miernikami dobrej pogody. O eudiometrii pisałem w jednej ze swych wczesnych notatek [1], nie będę się więc powtarzał. Jednym z takich narzędzi był eudiometr Volty, dogodny w użyciu, ale dający, zdaniem krytyków, zaniżone wartości dla zawartości tlenu w powietrzu. Obaj uczeni podjęli więc próbę określenia dokładności pomiaru za pomocą tego instrumentu.

Samo urządzenie było bardzo proste. Oto jego opis, zaczerpnięty ze starego leksykonu fizyki i chemii: „Składa się on z mocnej, o długości około stopy, wykalibrowanej rurki szklanej, na około 2–6 linii szerokiej, z jednej strony zatopionej, a drugiej napełnionej rtęcią. W rurce umieszcza się odmierzoną objętość powietrza, a potem jeszcze połowę tej objętości czystego wodoru, i przeprowadza się reakcję zawartego w powietrzu tlenu z tym, wziętym w nadmiarze, wodorem. Reakcję stymuluje się iskrą elektryczną albo gąbką platynową. Jeżeli używa się iskry, to w górnej części eudiometru muszą być wtopione dwa krótkie druty, i to tak, żeby ich końce były od siebie odległe o 1–1,5 linii tak, aby iskra mogła przeskakiwać, kiedy się aparat połączy z maszyną elektryczną. Ponieważ zaś 1 objętość tlenu łączy się z 2 objętościami wodoru na wodę, to około 1/3 ubytku objętości gazów stanowi tlen” [2]. Dla ścisłości dodajmy, że długość 1 linii odpowiadała 1/12 cala, to jest około 2 mm.



Rysunek 2. Józef Ludwik Gay-Lussac

Wyniki swoich eksperymentów przedstawił Humboldt i Gay-Lussac w Instytucie Francuskim 21 stycznia 1805 roku. Tekst ich wspólnej publikacji ukazał się w 60 tomie *Journal de Physique*, a w następnym roku, w tłumaczeniu na język niemiecki, w *Annalen der Physik* (1805). Tłumaczenie to opublikował W. Ostwald w znanej serii wydawniczej „Klasyki Przyrodoznawstwa” [3], jako jej 43 tomik.

Jednym z celów pracy, jakie na wstępie publikacji podali autorzy, było dokładne ustalenie objętościowych proporcji, w jakich łączą się ze sobą tlen i wodór. Wynik okazał się bardzo ciekawy i ważny. Była to proporcja stała. „Sto części tlenu – stwierdzili badacze – potrzebuje do swego wysycenia około dwustu części wodoru” [4]. Był to, jak wiemy, wynik historyczny. W pierwszym rzędzie sugerował konieczność poprawienia systemu mas atomowych Daltona, dla cząsteczki wody przyjął on wzór HO , a nie H_2O , jak wynikało z doświadczeń Humboldta i Gay-Lussaca.

W dalszej kolejności prowadziły te doświadczenia do hipotezy Avogadro, wielkiego uogólnienia naukowego, ale w publikacji Humboldta i Gay-Lussaca nie znajdziemy takich, szerszych uogólnień. Celem ich prac było, jak już wiemy, sprawdzenie przydatności eudiometru Volty do oznaczania zawartości tlenu w powietrzu, dlatego w konkluzji wyników skupili uwagę na tej właśnie sprawie. „Wyniki – pisali – jakie daje eudiometr Volty, są bardzo powtarzalne, a granica błędu oznaczenia zawartości tlenu w powietrzu za pomocą tego eudiometru jest bliska 0,001” [5].

Czy w dyskusjach, jakie zapewne toczyli obaj badacze w trakcie swoich doświadczeń, pojawiały się jakieś szersze domysły? Nie można tego wykluczyć, skoro Gay-Lussac pozostał przy tematyce badania reakcji chemicznych gazów. Swoje wyniki ogłosił w 1808 roku w czasopiśmie wydawanym przez „Towarzystwo Arceueil”. Była to niezależna grupa wybitnych fizyków i chemików, która wydawała „Mémoires de physique et de chimie de la Société d’Arceueil”. Praca Gay-Lussaca ukazała się w drugim tomie tego wydawnictwa. Opisał tam trzy reakcje: reakcję amoniaku z trójfluorkiem boru, z dwutlenkiem węgla i chlorowodorem i stwierdził, że wszystkie te gazy reagują ze sobą w prostych stosunkach objętościowych. „W niniejszej pracy – konkludował badacz – pokazałem, że stosunki, w jakich łączą się ze sobą substancje gazowe, odpowiadają prostym objętościom, jedna łączy się z taką samą, podwójną lub co najwyżej potrójną objętością drugiej. Takich prostych stosunków nie obserwuje się w przypadku ciał stałych i ciekłych, i jeszcze mniej, jeśli uwzględnić stosunek ciężarów części składowych. Jest to dowód na to, że ciała tylko w stanach gazowych znajdują się w takich samych warunkach, że tylko w tym stanie reagują według prostych, stałych praw” [6].

Tak więc dopiero pracując w pojedynkę Gay-Lussac doszedł do swojego wielkiego uogólnienia – odkrycia prawa stosunków objętościowych w reakcjach gazów. Tym niemniej udział Humboldta w tym odkryciu jest także sam przez się oczywisty.

Międzynarodowa sława tego uczonego tymczasem rosła. Choć stał się on później osobą publiczną, bo król pruski mianował go szambelanem dworu i uczynił rodzajem mentora następcy tronu, nie przerywał intensywnej pracy naukowej. W maju 1830 roku towarzyszył następcy tronu w podróży do Warszawy. Pretekstem było uczestnictwo w otwarciu sesji Sejmu Królestwa Kongresowego, na które przybył także car Mikołaj I. Było to niezadługo po powrocie Humboldta z jego podróży syberyjskiej. W Warszawie spędził Humboldt dwa tygodnie, doznając owacyjnego przyjęcia ze strony uczonych Warszawy, a także miejscowego „wielkiego świata”. Szczególnie gorąco witali go członkowie Warszawskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk, którego Humboldt był członkiem honorowym. O tym pobycie w naszej stolicy pisał niedawno K. Zielnica [7], a kontakty z uczonymi polskimi badał w swoim czasie B. Olszewicz [8]. Wspomniane Towarzystwo Przyjaciół Nauk zorganizowało specjalne posiedzenie, a potem wydało uroczysty obiad. Humboldt zwiedził bogaty gabinet mineralogiczny Uniwersytetu i uczestniczył w posiedzeniu Wydziału Górniczego rządu Królestwa. Tutaj zresztą wypowiedział się jako ekspert. W Królestwie ciągle poszukiwano własnych zasobów soli. G.W. Becker na zlecenie rządu

szukał soli po lewej stronie Wisły, w okolicach Szerbakowa. Humboldt, opierając się na geognostycznych badaniach geologa Królestwa, J.B. Puscha, wydał negatywną opinię o tym przedsięwzięciu [9]. Nie było to bez korzyści dla finansów Królestwa.

Uczony odwiedził także wzorowo urządzoną wojskową szkołę inżynierską, znaną pod nazwą Szkoły Aplikacyjnej. Jej szefem był generał Klemens Kołaczkowski, który w pozostawionych pamiętnikach tak to zdarzenie opisał: „Tymczasem cesarz z cesarzową i z całym dworem stanęli w Warszawie pierwszych dni maja i sejm, pierwszy za panowania swego, dnia 13 maja zagaili. Na powitanie jego przybył z Berlina następca tronu pruski, książę Fryderyk Wilhelm, który w towarzystwie sławnego podróżnego, Aleksandra Humboldta, który co dopiero powrócił z wielkiej wycieczki do Środkowej Azji i Orenburga, i generała inżynierów, Raucha. Następowyły po sobie parady, rewie, przedstawienia, obiady, bale, na których z obowiązku musiałem być. Na jednym z nich, u prezesa senatu Zamoyskiego, W. Książę zaprezentował mnie Aleksandrowi Humboldtowi, z którym zajmującą o jego ostatniej podróży miałem rozmowę. Znalazłem w nim rzeńskiego starca, pamięcią nadzwyczajną obdarzonego, lecz wiele mówiącego o sobie, nad wszelką miarę. Szkołę Aplikacyjną spotkał w tym czasie zaszczyt odwiedzenia ze strony księcia pruskiego. Przybył do nas z Humboldem i z generałem Rauchem niespodzianie, o 9 godzinie z rana, i bawił dwie godziny, wypytując o wszystkie szczegóły kursów i niepospolitą okazując znajomość wszystkich nauk u nas dawanych. Ujął nas wszystkich rozumem i łagodnością. Pokazaliśmy mu modele nasze, rysunki uczniów, tak czas zeszedł do godziny 11, gdy zadyszani fligeladiutanci cesarscy, po długim szukaniu, znajdują nareszcie księcia i meldują, że cesarz i W. Książę z paradą na niego czekają. (...) Potem dowiedziałem się, iż Humboldt, przez cesarza o naszą szkołę zapytany, zachwalał ją, twierdząc, że znalazł w niej wszystkie nowe metody, używane w szkole politechnicznej paryskiej” [10].

Pobyt Humboldta w Warszawie poruszył, jak już powiedziałem, całe warszawskie towarzystwo. „Mamy tu – pisał do żony Leon Sapieha – *un fait de grands talents, Mr. de Humboldt et M-lle Zontag...*” [11]. To zestawienie: wielkiego uczonego i sławnej w owym czasie śpiewaczki, jest doprawdy rozbijające.

Podniecenie, jakie ogarnęło świat towarzyski Warszawy w związku z przybyciem Humboldta, odzwierciedliło się też na stronach pamiętnika Natalii Kickiej, żony bohaterskiego generała Powstania Listopadowego. „Poznałam – pisze Kicka – sławnego Aleksandra Humboldta. Powierzchność jego nie odpowiadała nastroszowi ducha do tego stopnia, że jakaś trzpiotowata młoda kobieta, patrząc na jego mundur prusko-szambelański do liberii zbliżający się, co tylko nie zażądała, żeby jej szklanek lemoniady przyniósł. Wzięła go za kamerdynera, musiałam ją za rękaw pociągnąć, szepcząc do ucha: „To Humboldt”. Zawstydzona zniknęła w tłumie. Pan Aleksander Humboldt wracał z Syberii i z gór Uralskich. Odkrył tam złoto i diamenty. W zeszłym roku zwiedził południową Amerykę, teraz Azję, aż do granic Chin. Twierdzi, że góra Himalaja większa jest od Chimborazza i unosi się nad

bogactwem traw na Syberii. Przyjechał w maju 1830 roku z królewiczem Karolem do Warszawy, przysłuchać się rozprawom sejmu naszego. Widząc, że wszyscy hołd wyższości Humboldta oddają, wielki książe Konstanty zaprosił go na obiad do Belwederu, rozpytywał się o jego podróż po Ameryce, ze zgrozą wyrażał o ludożercach i zastanawiał nad przyczynami, które popychały ludzi do uctowania kosztem bliźnich, najbliższych. Humboldt z zimną krwią tłumaczył, że „małpy pierwszym powodem stały się ludożerstwa, bo małpa pieczona bardzo jest smaczna i zupełnie do człowieka podobna”. Słyszac to Wielki Książę, srodze się lubujący w swoich małpach, zaczął z udanym przerażeniem prosić Humboldta, żeby się nie „rozsmakował w jego małpach”. „Niech się Wasza Książęca Mość nie boi – odrzekł Humboldt – wracam z Tobolska, w którym ucywilizowałem się”. Pani Wąsowiczowa, wiekiem wyłączona z tłumnych zgromadzeń, lecz żywością umysłu i ostrym dowcipem najmłodszym kobietom dorównująca, zajmowała się wówczas najdrobniejszymi wypadkami ówczesnego życia. Zapragnęła ugościć sławnego Humboldta w Mokotowie, w którym przez lato mieszkała, a w małej liczbie zaproszonych ciotkę Teresę i mnie dodała. Mokotów, strojnie przystrojony kwiatami, sprzętem bogatym, marmurami i kilku antykami dawnej Grecji, nie zachwyił Humboldta tak, jak miała tego nadzieję pani Wąsowiczowa. W podróżach po dworach królewskich, przyzwyczajony do najwspanialszych widoków przyrody i do przepychu otaczającego mocarzów świata, obojętne rzucił spojrzenie na otaczające go przedmioty. Świat objechał, nic go nie dziwiło, a pani Wąsowiczowa od kolebki do hołdów przyzwyczajona, obojętności pod żadnym względem znieść nie potrafiła. Humboldt nie chciał być widocznie wyzyskiwany kobiecą ciekawością, wziął się cały wieczór mówić o roślinności stepów syberyjskich wyłącznie. Gdyby przynajmniej był coś wspomniał o Himalaj, o Chimborazzo, rozkurczyłyby się zmarszczone brwi pani Wąsowiczowej. Ale Humboldt patrzył na kwiaty, pośród których siedziała, i sądził może, że widok ich wystarczył jej, lecz grubo się omylił” [12].



Rysunek 3. Aleksander Humboldt –
Podróżnik. Karykatura Herberta Königa
(1853)

Jeszcze inny ślad wizyty Humboldta w Warszawie zachował się w pamiątkach Eugeniusza Skrodzkiego, syna profesora fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, Karola. Humboldt zapowiedział, że odwiedzi profesora w domu. Rodzina była o tym uprzedzona. Tymczasem w domu zjawił się nieznany rodzinie piwowar Krantz z Berlina. Wzięto go za Humboldta i został przez panią domu gościnnie podjęty przysmakami i piwem. Dopiero powrót do domu ojca położył kres temu nieporozumieniu. „Dopiero około godziny piątej z wieczora stanęła przed naszym domem – zapisał Eugeniusz Skrodzki – z wygalonowanym suto lokajem dworskim, karetą mieszczącą prawdziwego Aleksandra Humboldta, wracającego z obiadu w Zamku. Na pierwszą

o tym wiadomość zbiegł natychmiast na dół pan X. i sześćdziesięcioletniemu, przyjemnej powierzchowności weteranowi nauki oświadczył, iż jakkolwiek za wysoki zaszczyt sobie uważa jego odwiedziny, nie pozwoli przez wzgląd na jego wiek, aby miał się fatygować po niewygodnych schodach mieszkania. Humboldt, spostrzegłszy, że profesor X. wypadł ze swego mieszkania bez kapelusza, natychmiast zdjął swoje nakrycie głowy i tak przez cały czas zostawał; kilkunastominutowa rozmowa toczyła się najwięcej o zasługach na polu nauki, zdolności i pracach młodego naówczas Wilhelma Zeuschnera, którego tak niedawno zbrodnicza ręka, z wielką szkodą dla nas, życia pozbawiła” [13].

Humboldt przebywał w Warszawie w czasie, gdy tam w podglebiu dojrzewało powstanie. Nie wiemy, czy Humboldt potrafił wyczuć te nastroje. Świadomy był jednak politycznych problemów Polaków. Zetknął się z nimi choćby w czasie podróży syberyjskiej. Spotykał tam wielu polskich zesłańców. Za kilkoma wstawił się skutecznie u cara. Byli to Wiktor Iwaszkiewicz, Alojzy Pieślak, Jan Witkiewicz i Tomasz Zan. Interesujące są okoliczności spotkania Witkiewicza, który jeszcze jako uczeń szkoły średniej został skazany na dożywotnią służbę wojskową, bez prawa na awans. Otóż, w Orenburgu natknął się Humboldt na swoją książkę. Był to trzeci tom dzieła „*Essai politique sur le Royaume de Nouvelle Espagne*”. Zainteresowany zapytał, skąd się tu wzięła. Wtedy przyprowadzono doń Witkiewicza, który tę książkę dla siebie sprowadził. W Orenburgu spotkał uczony także Tomasza Zana, przyjaciela Mickiewicza i przywódcę Filaretów. Wydarzenie to znalazło oddźwięk w dziennikach Zana. „Dnia 13-go (października, I.S.) zajaśniało niebo i słońce po błękitnem niebie wesołe. Czynił więc (Humboldt, I.S.) obserwacje z chronometrem, kwadranssem małym na szkłe wyrysowanym igłą magnetyczną. Nie śmiałem ku niemu podejść, dlatego, że nie umiem się wytłumaczyć uczciwie ani po niemiecku, ani po francusku. Po południu oglądał za dworem (...) zebranych Kirgizów, ich borbę, muzykę, pieśni, naczynia do kumysu, skaczkę (...). Mocno żalowałem, że tego nie widział. Wieczorem był z wizytą u generała dywizji, gdzie go ostatni raz miał szczęście oglądać. Wczoraj był u Hoffmana i Halmersena, gdzie i ja się znajdowałem, rekomendowany mu jako Polak. Ciągłe mówił, i w różnych tonach, zajmujący i życzliwy. Mówił po niemiecku z niezwykłą jasnością. Wszystkiego nie pojąłem. Zganił Parrota „Opisanie fizyczne ziemi”. Zdaje się być za systematem ogniowym Bufona, mówił o systemacie kompensacji w naturze z pewnym żartem. Odwróciwszy się później do mnie powiedział po francusku: „Dotąd uważaliśmy ziemię polską jako skałę napływową i mało geologów obchodzącą, lecz teraz, karta pana Puscha kopalni i gór, za pośrednictwem karty wojennej z rozkazu cesarzewicza zrobionej, uczyniła ją godną uwagi uczonych. Przez Hoffmana pytałem, czy nie przyjmie naszej usługi w czynieniu obserwacji meteorologicznych, co z uprzejmością przyjął. Niemcy zostawią nam barometr” [14]. Niemało śladów zostawił Humboldt na polskich drogach.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] I.Z. Siemiom, *W kregu analogii chemicznych*, w: *Viridarium chymicum, czyli Notatek chaotycznych część druga*, Inst. Farmaceut., Warszawa 2007, s. 131–138.
- [2] *Handbuch der Chemie und Physik*, Th. I, Berlin 1842, s. 763–764.
- [3] A. Von Humboldt, J.L. Gay-Lussac, *Versuche über die eudiometrischen Mittel und über das Verhältniss der Bestandtheile der Atmosphäre*, w: *Volumgesetz gasförmiger Verbindungen*, Abhandlungen von A.v. Humboldt u. J.L. Gay-Lussac, (1805–1808), Leipzig 1893, s. 3–20.
- [4] A. Von Humboldt, J.L. Gay-Lussac, *Versuche über die eudiometrischen Mittel und über das Verhältniss der Bestandtheile der Atmosphäre*, w: *Volumgesetz gasförmiger Verbindungen*, Abhandlungen von A.v. Humboldt u. J.L. Gay-Lussac, (1805–1808), Leipzig 1893, s. 16.
- [5] A. Von Humboldt, J.L. Gay-Lussac, *Versuche über die eudiometrischen Mittel und über das Verhältniss der Bestandtheile der Atmosphäre*, w: *Volumgesetz gasförmiger Verbindungen*, Abhandlungen von A.v. Humboldt u. J.L. Gay-Lussac, (1805–1808), Leipzig 1893, s. 20.
- [6] J.L. Gay-Lussac, *Ueber die Verbindungen gasförmiger Körper eines mit dem anderen*, w: *Volumgesetz*, s. 36.
- [7] K. Zielnica, *Alexander von Humboldt und Polen, Zur 150. Jahrestag seiner Reise nach Warschau*. Alexander v. Humboldt Stiftung Mitteilungen, 1980, Heft 38, s. 27–36.
- [8] B. Olszewicz, *Aleksander Humboldt i polski świat literacki*, Przegląd Humanistyczny, 1964, VII, 70–94.
- [9] A.S. Kleczkowski, *Jan Bogumil Pusch. Życie i dzieła w okresie Królestwa Polskiego (1816–1831)*, w: *Studia i materiały z dziejów nauki polskiej*, Seria.C, 1972, 17, 123–150.
- [10] *Wspomnienia jenerała Klemensa Kołaczowskiego*, Księga III od roku 1820 do 1830. Kraków 1900, s. 134–135.
- [11] L. Sapięha, *Wspomnienia*, Lwów, s. 313–314.
- [12] N. Kicka, *Pamiętniki*, Warszawa 1972, s. 173–175.
- [13] E. Skrodzki, *Wieczory piątkowe*, Warszawa 1962, s. 253.
- [14] T. Zan, *Z Wygnania. Dzienniki z lat 1824–1832*. Wilno 1929, s. 175–176.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 listopada 2009

NOWE WYDAWNICTWA



Roop Chand Bansal, Meenakshi Goyal, *Adsorpcja na węglu aktywnym*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2009. Tłumaczenie zbiorowe z języka angielskiego (Andrzej Świątkowski, Wanda Siemieniwska, Lidia Dąbek). ISBN 978-83-204-3462-0. Stron 480, oprawa miękka, lakierowana, cena 98 PLN.

Tytuł oryginału: *Activated Carbon Adsorption*, Taylor and Francis Group, 2005.

Przedłożona mi do recenzji monografia „*Adsorpcja na węglu aktywnym*” jest tłumaczeniem oryginalnej książki autorstwa R.Ch. Bansal i M. Goyal, *Activated Carbon Adsorption* wydanej w roku 2005 przez renomowane wydawnictwo Taylor and Francis, specjalizujące się m.in. w publikacjach o tematyce chemicznej, przeznaczonych zarówno dla naukowców, jak i studentów (znakomite podręczniki z zakresu chemii ogólnej).

Recenzję zacznę nietypowo, bo od rekomendacji, którą zwykle umieszcza się na końcu. Gorąco polecam! Zachęca do tego nie tylko renoma naukowa autorów, ale także grono polskich tłumaczy. Tłumacze książki to grupa naukowców o ugruntowanej pozycji naukowej, bardzo aktywnych w zakresie badań nad węglami i adsorpcji. W skrócie: bardzo ważny i aktualny tekst naukowy znalazł się w rękach polskich fachowców. To pierwsze w języku polskim tak obszerne (prawie 500 stron, ponad 1000 referencji, kompendium wiedzy z zakresu syntezy i badania właściwości węgla aktywnych. Nie znam motywów pomysłodawcy przetłumaczenia tej pozycji naukowej literatury światowej, ale nie mam wątpliwości, że był to przysłowiowy strzał „w dziesiątkę”. Oceniając zawartość monografii, można twierdzić, że jej tytuł jest zbyt skromny w stosunku do zawartości książki i pozornie wskazuje tylko na węgiel aktywny. Tymczasem, ten temat jest wzbogacony o rozdziały poświęcone teorii adsorpcji, zastosowania węgla aktywnych w szeroko rozumianej praktyce oraz roli zjawisk adsorpcyjnych i węgla aktywnych w dziedzinie ochrony środowiska. Sposób opracowania znacznego materiału oryginalnego, tzn. publikacji badawczych, sprzyja traktowaniu recenzowanej książki jako podręcznika dla początkujących naukowców i doktorantów. Przetłumaczenie tej pozycji przybliży polskiemu czytelnikowi tematykę adsorpcyjno-węglową i pozwala pominąć funkcjonującą wciąż w Polsce barierę językową, szczególnie w przypadku studentów i doktorantów. Czytelnik otrzymuje nie tylko informacje z dziedziny dobrze ugruntowanej wiedzy z klasycznej już tematyki „węglowej” oraz teorii adsorpcji, ale też nowoczesną wiedzę szczegółową, co powinno zachęcić do lektury bardziej doświadczonych naukowców. Wśród licznych rozdziałów moją uwagę zwracają zwłaszcza te, które dotyczą: usuwania jonów metali ciężkich (kadmu, ołowiu, rtęci i innych) i szkodliwych związków organicznych (fenoli, pestycydów, związków halogenoorganicznych, nitrozwiązków, amin itp.) z wody, badania chemicznej struktury powierzchni węgla oraz węglowych sit molekularnych. Rekomenduję książkę Bansala i Goyala jako niezbędny element księgozbioru chemików „akademickich”, zajmujących się zjawiskami powierzchniowymi (adsorpcja i kataliza), a także chemików "praktyków" z przemysłu i ochrony środowiska.

Jerzy Łukaszewicz

INFORMACJE

1.

UWAGA!!

CENY PRENUMERATY NA ROK 2010

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2010 r. wynosi **168 zł** dla instytucji i niezrzeszonych prenumeratorów indywidualnych oraz **78 zł** dla bibliotek szkół średnich i podstawowych. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

Bank PEKAO SA
Oddział we Wrocławiu
pl. Powstańców Śl. 9, 50-950 Wrocław
Redakcja „Wiadomości Chemiczne”
NRB 48 1240 6670 1111 0000 5649 8781

Prenumerata „Wiadomości Chemicznych” dla członków PTCh, połączona z opłatą składek członkowskich, jest znacznie niższa i przedstawia się następująco:

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2010 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi **70 zł** (składka – 50 zł, prenumerata – 20 zł);
- emeryci, doktoranci oraz studenci płacą **35 zł** (składka – 15 zł, prenumerata – 20 zł); a nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą **40 zł** (składka – 20 zł, prenumerata – 20 zł).

Członkowie PTCh, którzy zechcą zaprenumerować „Wiadomości Chemiczne” na podanych tu warunkach, proszeni są o wnoszenie opłat na konto:

PTCh Warszawa, ul. Freta 16
Millennium BIG BG SA
NRB 57 1160 2202 0000 0000 2720 2458

INFORMACJA REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

2. Redakcja „Wiadomości Chemiczne” w porozumieniu z Radą Redakcyjną kontynuuje inicjatywę podjętą na konferencji Dziekanów Wydziałów Chemicznych, która odbyła się w czerwcu 2009 roku w Krakowie.

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

Redakcja bardzo dziękuje za dotychczasowe wsparcie i jednocześnie informuje, że w 2009 roku pozytywnie na apel Redakcji odpowiedziały niżej wymienione ośrodki chemiczne:

1.	Wydział Chemiczny Politechniki Śląskiej w Gliwicach
2.	Wydział Chemii Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu
3.	Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański
4.	Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej
5.	Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN, Wrocław
6.	J.M. Rektor Uniwersytetu Wrocławskiego

Szczególne podziękowanie składamy p. Dziekanowi Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego za udostępnienie lokalu dla Redakcji.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” informuje, że są u nas do nabycia następujące pozycje „Biblioteki Wiadomości Chemicznych”:

Nomenklatura chemii nieorganicznej. Zalecenia 1990, red. Z. Stasicka, cena 25 zł
Podstawowa terminologia stereochemii oraz Słownik podstawowych terminów w nauce o polimerach. Zalecenia 1996, red. O. Achmatowicz, B. Szechner i P. Kubisa, cena 12 zł

Nomenklatura węglowodanów. Zalecenia 1996, tłum. i red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 18 zł

I.Z. Siemion, *Bronisław Radziszewski i lwowska szkoła chemii organicznej*, cena 18 zł

K. Maruszewski, *Fizykochemia molekuł zamkniętych w zeolitach i zol-żelach*, cena 18 zł

Praca zbiorowa, *Uporządkowane materiały mezoporowate*, red. B. Burczyk, cena 18 zł

Skorygowana nomenklatura rodników, jonów, jonorodników i podobnych indywidualności chemicznych. Zalecenia 1993, red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 15 zł

I.Z. Siemion, *Lutum sapientiae, czyli Notatek chaotycznych część pierwsza*, cena 18 zł

M. Zabłocka-Malicka, *Ruchliwość jonów w podwójnych układach stopionych soli*, cena 8 zł.

Praca zbiorowa, *Nanomateriały*, red. D. Hreniak, W. Łojkowski, W. Stręk, M. Suszyńska, cena 25 zł.

Praca zbiorowa, *Ogniwa paliwowe – nowe kierunki rozwoju*, red. H. Drulis, J. Hanuza, D. Hreniak, M. Miller, G. Paściak, W. Stręk, cena 20 zł

Glosariusz nazw klas związków organicznych i reaktywnych produktów pośrednich oparty na strukturze (Zalecenia IUPAC 1994), red. i tłum. F. Kaźmierczak i J. Gawroński, cena 16 zł.

Od substancji prostych do życia. Świat RNA – początki życia na Ziemi, Zdzisław Chilmonczyk, cena 18 zł.

Profesor Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska. 1908–1991 w setną rocznicę urodzin, cena 12,00 zł.

Chemia koordynacyjna w Polsce. Część I, cena 17,50 zł.

Chemia koordynacyjna w Polsce. Część II, cena 17,50 zł.

Książki wysyłamy na koszt zamawiającego. Zamówienia prosimy kierować pod adresem: Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław. Opłaty należy wносить na konto: Bank PEKAO SA O/Wrocław, Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, NRB 48 1240 6670 1111 0000 5649 8781.

REGULAMIN DLA AUTORÓW

„Wiadomości Chemiczne” publikują artykuły przeglądowe, dotyczące wszystkich dziedzin chemii i wcześniej niedrukowane w innych czasopismach. Prace raz opublikowane w „Wiadomościach Chemicznych”, bez zgody Redakcji, nie mogą być wydane gdzie indziej.

Treść artykułów powinna odpowiadać aktualnemu stanowi wiedzy i uwzględniać najnowsze osiągnięcia z dziedziny, której artykuł dotyczy.

„Wiadomości Chemiczne” nie przyjmują do druku oryginalnych prac własnych. W wyjątkowych przypadkach mogą zostać wydane prace przeglądowe dotyczące dorobku własnego autora (np. nowo mianowanego profesora lub laureata ważnej nagrody) albo prace podsumujące dorobek Instytutu, Wydziału itp. Zamiar złożenia takiego artykułu do druku powinien być jednak wcześniej uzgodniony z Redakcją.

Ponadto w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” publikowane są prace, będące z założenia dłuższymi artykułami przeglądowymi lub monografiami poświęconymi ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii. Autorzy, którzy chcieliby dla „Wiadomości Chemicznych” taki artykuł napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją i przesłać pocztą elektroniczną (**e-mail: wchem@wchuwr.pl**) lub zwykłą informację zawierającą tytuł przygotowywanej publikacji oraz przybliżoną liczbę stron, tabel i rysunków itp.

W ramach nowej serii wydawniczej „WCh” pod nazwą „Habilitatione” mogą być publikowane prace habilitacyjne z szeroko pojmowanego obszaru chemii. Zważywszy, że zgodnie z ustawą, dopuszczalne jest przedstawianie rozpraw habilitacyjnych albo w formie monografii, albo w formie pliku bliskotematycznych publikacji, poprzedzonych omówieniem w języku polskim (tzw. autoreferatem), Redakcja przewiduje drukowanie (również w kolorach) obydwu tych wariantów. W zależności od sytuacji finansowej Wydawnictwa lub w przypadku specjalnych wymagań Autorów, Redakcja zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z Autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

Prace należy przysłać do Redakcji pocztą elektroniczną (**e-mail: wchem@wchuwr.pl**) oraz **równoległe** – pocztą zwykłą (na adres: Redaktor Naczelny/Sekretarz Redakcji „Wiadomości Chemicznych”; ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław), dwa egzemplarze jednostronnego wydruku komputerowego publikacji z dołączoną płytą CD, zawierającą tekst, tabele i ilustracje.

Tekst powinien być przygotowany w edytorze **Word** lub innym kompatybilnym z MS Office. Artykuły należy opracowywać zwięźle i nie zamieszczać nadmiaru szczegółów, odsyłając Czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego, które powinno uwzględniać najnowsze prace z dziedziny, której dotyczy artykuł.

Maszynopis nie powinien przekraczać 25 stron, wliczając wykaz piśmiennictwa w przypadku krótkiego przeglądu, lub 100 stron, w przypadku monografii przeznaczonej do druku w Bibliotece „Wiadomości Chemicznych”. Strona powinna zawierać **1800** znaków (razem ze spacjami), co przy interlinii 1,5 oznacza 30 wierszy po 60 znaków oraz margines z prawej strony ok. 5 cm.

Na pierwszej stronie, pod tytułem polskim, należy umieścić tytuł w języku angielskim, nazwisko(a) i adres autora(ów) oraz spis rozdziałów. Dalej powinno się znaleźć obszerne streszczenie pracy w języku angielskim (do 2700 znaków, z cytowaniem piśmiennictwa i odsyłaczami do tabel i rysunków w tekście) oraz wykaz słów kluczowych, osobno w języku polskim i osobno w angielskim. Redakcja prosi o przysyłanie tekstów angielskich adjustowanych.

Na oddzielnej kartce prosimy dołączyć krótką (do 150 wyrazów) **notkę biograficzną**, zawierającą tytuły naukowe i miejsca pracy oraz inne informacje wg uznania Autora/Autorów, w tym aktualne zdjęcie. Nadesłanie tych informacji będziemy traktować jako zgodę na ich publikację.

Rysunki (mogą być kolorowe, ale trzeba się liczyć z dopłatą do druku) w formie wydruku należy przysłać w dwóch egzemplarzach. Muszą mieć odpowiednią formę graficzną, by w razie potrzeby nadawały się do reprodukcji. Na odwrocie należy wpisać ołówkiem nazwisko autora i numer rysunku – ten sam, który w odpowiednim miejscu został wpisany w manuskrypcie. Na osobnej stronie dołączyć podpisy pod rysunki w języku polskim i angielskim. Osobno należy dołą-

czyć ponadto jeden komplet wzorów i schematów, narysowanych oddzielnie w formie nadającej się do reprodukcji. W wersji elektronicznej rysunki czarno-białe należy zapisać w formacie .doc, .cdr, .jpg, .tif, .pdf, natomiast rysunki kolorowe – w formacie .jpg lub .tif. Rozdzielczość rysunków ≥ 300 dpi. Każdy z rysunków zapisać w oddzielnym pliku.

Tabele należy ponumerować cyframi arabskimi, a ich tytuły w języku polskim i angielskim zapisać nad tabelami.

Piśmiennictwo należy zestawić w kolejności cytowania w tekście: powinno ono zawierać kolejno inicjały imion i nazwisko, skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, tom podkreślony i numer pierwszej strony cytowanej pracy, przykład: J. Kowalski, Wiad.Chem., 2007, **61**, 473. Wykaz skrótów ważniejszych czasopism chemicznych jest podany w „Wiadomościach Chemicznych”, 1989, **43**, 979. Jeśli część piśmiennictwa zebrana jest w monografiach lub innych wydawnictwach, nie należy podawać szczegółowo wykazu tego piśmiennictwa, lecz cytować odnośne wydawnictwo.

O **przyjęciu** pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny. Przed podjęciem decyzji wszystkie prace są przesyłane recenzentom. Artykuły niezakwalifikowane do druku Redakcja zwraca, zachowując kopię maszynopisu.

Autorzy zobowiązani są do wykonania jednej korekty tekstu.

Autorzy wydrukowanych prac otrzymują bezpłatnie 20 odbitek.

Redakcja
„Wiadomości Chemicznych”