

## POCHODNE 1,2,3-TRIAZOLU. POTENCJALNE LEKI?

### DERIVATIVES OF 1,2,3-TRIAZOLE. POTENTIAL DRUGS?

**Emilia Bankowska\*, Andrzej E. Wróblewski**

*Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny,  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź  
\*e-mail: emilia.bankowska@gmail.com*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwbakteryjnym
2. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwgruźliczym
3. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwgrzybiczym
4. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu psychotropowym
5. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwpadaczkowym
6. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwzapalnym
7. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu hipoglikemicznym
8. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwnowotworowym
9. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwwirusowym

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Mgr farm. Emilia Bankowska** ukończyła studia na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w 2009 r. Od 2009 r. jest doktorantką na tymże wydziale w Zakładzie Chemii Bioorganicznej. W swojej pracy naukowej zajmuje się syntezą i badaniem aktywności biologicznej fosfonianowych analogów nukleozydów z ugrupowaniem 1,2,3-triazolu.

**Prof. dr hab. Andrzej E. Wróblewski** studiował chemię (1963–1968) na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, doktoryzował się (1977) i habilitował (1987) na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. Od roku 1995 jest kierownikiem Zakładu Chemii Organicznej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Tytuł naukowy profesora uzyskał w 2001 r. Jego zainteresowania naukowe dotyczą, m.in. syntezy i stereochemii kwasów aminohydroksyfosfonowych, nowych syntez biologicznie ważnych związków fosforoorganicznych oraz zastosowań spektroskopii NMR w analizie konformacyjnej i konformacyjnej.

---

## ABSTRACT

Recently, 1,2,3-triazoles have gained an increased attention in the field of drug discovery because several derivatives have already been marketed as medications (e.g. tazobactam, cefatrizine, rufinamide) [1, 2] and many of them appeared to be very active in diverse biological studies including plinambulin **69** currently in the last stage of the clinical trials [60].

In this review very recent investigations of antibacterial, antitubercular, antifungal, antipsychotic, antiepileptic, anti-inflammatory, hypoglycemic, anticancer and antiviral properties of 1,2,3-triazole derivatives are discussed. These studies allowed to select several compounds which were found to be more active in comparison to the already used drugs.

Keywords: 1,2,3-triazole derivatives, antibacterial activity, antifungal activity, antitubercular activity, antipsychotic activity, anticonvulsant activity, anti-inflammatory activity, hypoglycemic activity, anticancer activity, antiviral activity

Słowa kluczowe: pochodne 1,2,3-triazolu, aktywność przeciwbakteryjna, aktywność przeciwgrzybicza, aktywność przeciwgruźlicza, aktywność przeciwpsychotyczna, aktywność przeciwdrgawkowa, aktywność przeciwzapalna, aktywność hipoglikemiczna, aktywność przeciwnowotworowa, aktywność przeciwwirusowa

---

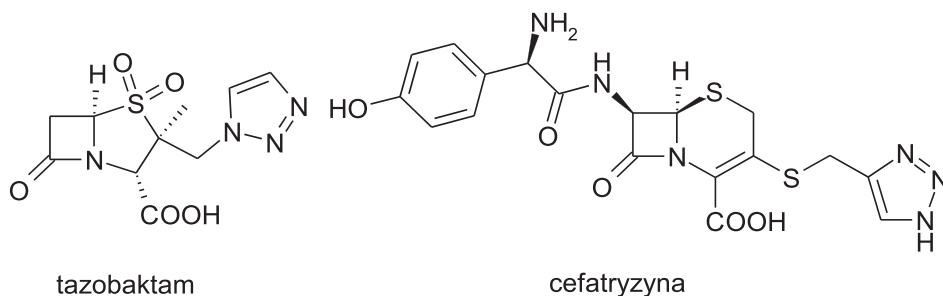
---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

MBLs	- metalo- $\beta$ -laktamazy
MDR	- oporność wielolekowa
MIC	- minimalne stężenie hamujące
TNF- $\alpha$	- czynnik martwicy nowotworu
RZS	- reumatoidalne zapalenie stawów
LPS	- lipopolisacharyd
Tpl2	- kinaza serynowa
PPAR	- receptory aktywowane przez proliferatory peroksy-somów
SAR	- zależność struktura aktywność
HSV-1	- wirus opryszczki pospolitej typu 1
HIV-1	- ludzki wirus niedoboru odporności typu 1
AZD	- azydowudyna
HIV-RT	- odwrotna transkryptaza wirusa HIV
iNOS	- indukowana syntaza tlenku azotu

## WSTĘP

Pięciocłonowe związki heterocykliczne zawierające trzy atomy azotu w pierścieniu występują jako izomeryczne 1,2,3-triazole i 1,2,4-triazole. Cząsteczki zawierające pierścień 1,2,3-triazolu charakteryzują się bardzo różnorodnym działaniem biologicznym w zależności od tego, jakie inne ugrupowania zostaną włączone w strukturę związku. Układ ten można odnaleźć w kilku związkach, które znajdują zastosowanie jako leki (Rys. 1). Cefatrizyna należy do antybiotyków  $\beta$ -laktamowych i jest od lat stosowana w leczeniu, podobnie jak tazobaktam, który z kolei jest inhibitorem enzymów –  $\beta$ -laktamaz [1, 2].

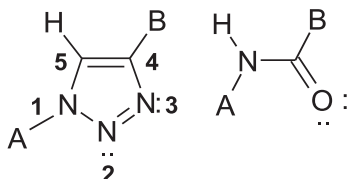


Rysunek 1. Struktura tazobaktamu i cefatrizyny  
Figure 1. Structure of tazobactam and cefatrizine

Najczęściej stosowaną metodą syntezy 1,2,3-triazoli jest cykloaddycja [2+3] alkinów i azydków („click chemistry”) [3–5]. Użycie azydków i alkinów z odpowiednio dobranymi podstawnikami pozwala na otrzymanie pochodnych 1,2,3-triazoli z różnymi grupami funkcyjnymi, dzięki czemu można modyfikować aktywność biologiczną otrzymanych cząsteczek. Fakt użycia podstawionych 1,2,3-triazoli jako leków stymuluje poszukiwania nowych cząsteczek zawierających ten element strukturalny z zamiarem odkrycia nowych związków o potencjalnych zastosowaniach terapeutycznych. Łatwość otrzymywania strukturalnie zróżnicowanych pochodnych 1,2,3-triazoli wraz z powszechną dostępnością badań właściwości biologicznych spowodowały pojawienie się licznych publikacji na ten temat. Skłoniło nas to do przedstawienia najnowszych doniesień dotyczących aktywności biologicznej pochodnych 1,2,3-triazolu i próby odpowiedzi na pytanie, czy są wśród nich potencjalne leki.

W chemii medycznej przy poszukiwaniu struktur nowych leków często stosowaną procedurą jest zamiana fragmentów cząsteczki bądź też grup funkcyjnych w związkach o znanych właściwościach, na grupy biozosteryczne [6]. Celem takiej modyfikacji jest zwiększenie siły działania związku w określonym kierunku, zmniejszenie jego toksyczności, bądź też poprawa parametrów farmakokinetycznych cząsteczki. Niekiedy przekształcenie fragmentu na grupę biozosteryczną wykonywane jest tylko w celu zwiększenia trwałości związku lub uzyskania większej oporności na

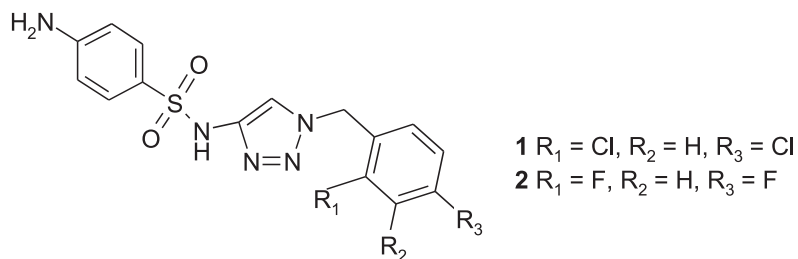
enzymy metaboliczne. Wykazano, że ze względu na podobne właściwości obu układów, 1,2,3-triazol jest bioizosterem grupy amidowej. Atom  $H-C(5)$  w triazolu jest donorem dla wiązania wodorowego podobnie jak  $H-N$  w amidzie. Z kolei wolna para elektronowa przy atomie N(3) triazolu może posłużyć jako akceptor w tworzeniu wiązania wodorowego, analogicznie jak wolne pary elektronowe atomu tlenu w amidzie (Rys. 2) [7, 8].



Rysunek 2. Bioizosteryczne 1,2,3-triazole i amidy  
Figure 2. Bioisosteric 1,2,3-triazoles and amides

### 1. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWBAKTERYJNYM

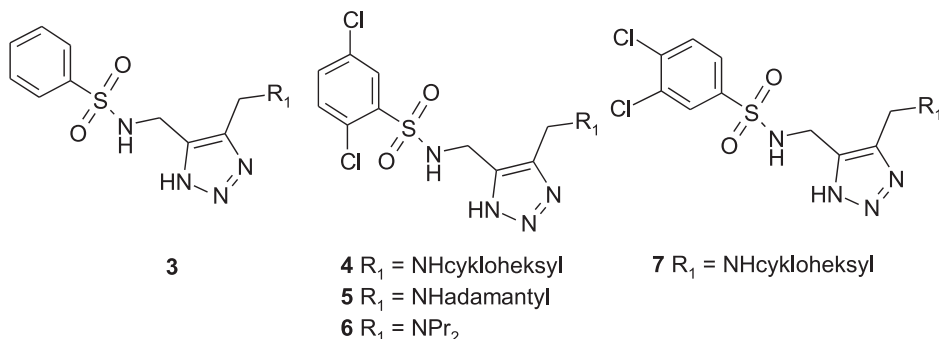
Pochodne sulfanilamidowe są od lat stosowane w lecznictwie, gdyż mają udokumentowaną skuteczność m.in. przeciwbakteryjną [9, 10]. W ostatnich latach zsyntetyzowano takie pochodne zawierające układ 1,2,3-triazolu. Dla związków **1** i **2** (Rys. 3) zaobserwowano aktywność przeciwbakteryjną wobec *S. aureus* oraz przeciw *P. aeruginosa* i *S. dysenteriae* na poziomie porównywalnym z aktywnością chloramfenikolu [11]. Natomiast żaden związek z tej serii pochodnych triazolu nie wykazywał działania przeciwgrzybiczego wobec *C. albicans* i *C. mycoderma*.



Rysunek 3. Przeciwbakteryjne 4-sulfanilamido-1,2,3-triazole  
Figure 3. Antibacterial 4-sulfanilamide-1,2,3-triazoles

Silne działanie przeciwbakteryjne wykazywały 1,2,3-triazole podstawione przy N(1) grupami (dichlorofenylo)- oraz (difluorofenylo)metyłowymi. Było ono spowodowane obecnością elektrododatnich podstawników (F i Cl), które prawdopodobnie odpowiadały za skuteczniejsze wchłanianie i wnikanie związku do komórki bakteryjnej, ponieważ zamiana grup  $R_1$  i  $R_3$  na atomy wodoru prowadziła do zaniku aktywności przeciwbakteryjnej [11].

Zbadano również aktywność przeciwbakteryjną pochodnych arylosulfonamidowych 1*H*-1,2,3-triazolu **3** podstawionych przy C(4) i C(5) (Rys. 4) [12].

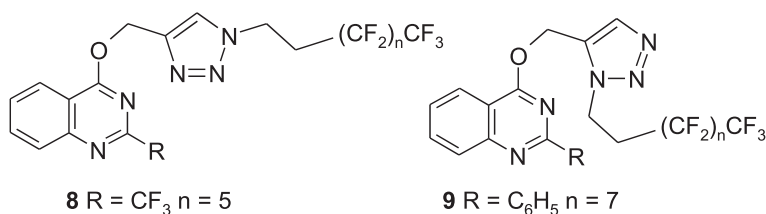


Rysunek 4. Pochodne arylosulfonamidowe 1*H*-1,2,3-triazolu  
 Figure 4. Arylsulfonamidederivatives of 1*H*-1,2,3-triazole

Związki o takiej strukturze, mimo że same nie wykazywały działania przeciwbakteryjnego, miały zdolność hamowania enzymów bakteryjnych – metalo- $\beta$ -laktamaz (MBLs). Enzymy te odpowiedzialne są za rozkład antybiotyków  $\beta$ -laktamowych oraz za narastanie oporności na  $\beta$ -laktamy [13, 14]. MBLs, niedawno odkryta klasa  $\beta$ -laktamaz, stanowi cel działania dla triazoli **3**. Liczne związki o strukturze **3** miały zdolność kompetycyjnej inhibicji metalo- $\beta$ -laktamaz VIM-2. Jednak najsilniejszą aktywność wykazywały związki **4–7** (Rys. 4) o  $\text{IC}_{50}$  w zakresie 0,07–0,10  $\mu\text{M}$ . Za silniejsze hamowanie  $\beta$ -laktamaz VIM-2 przez te cząsteczki odpowiadały hydrofobowe podstawniki  $R_1$  (cykloheksyl i adamantyl), które wypełniają szczelinę w centrum aktywnym enzymu.

Przy poszukiwaniu efektywnych inhibitorów  $\beta$ -laktamaz uwzględnia się nie tylko zdolność silnego hamowania enzymu, ale również bierze się pod uwagę możliwość zwiększenia mocy antybiotyku przez inhibitor. Synergiczne działanie antybiotyku i inhibitora pozwala na zmniejszenie dawki antybiotyku przy zachowanej skuteczności. Związek **7** powodował trzykrotne zwiększenie aktywności antybiotyku imipenemu i obniżenie wartości MIC z 1,85 do 0,617  $\mu\text{g}/\text{ml}$  przy zastosowaniu 10  $\mu\text{M}$  inhibitora [12].

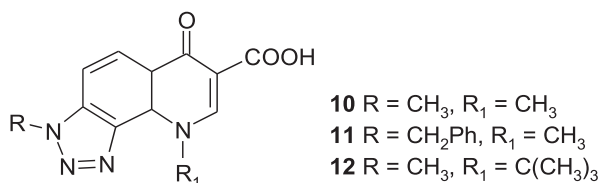
Dla pochodnych 1,2,3-triazolu **8** i **9** (Rys. 5) zawierających podstawiony układ chinazoliny zaobserwowano znaczną aktywność przeciwbakteryjną, szczególnie wobec bakterii Gram-dodatnich *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*; natomiast nie były one aktywne wobec Gram-ujemnej *E. coli*. Duża ilość atomów fluoru na końcu łańcucha alkilowego powodowała dobrą rozpuszczalność w lipidach i przez to lepszy transport przez błony komórkowe [15].



Rysunek 5. Antybakteryjne 1,2,3-triazole  
Figure 5. Antibacterial 1,2,3-triazoles

## 2. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWGRUŻLICZYM

Z licznych doniesień literaturowych wynika, że związki zawierające układ chinoliny wykazują doskonałe właściwości przeciwgruźlicze [16–19]. Ponadto dla niektórych azoli obserwowano zdolność hamowania rozwoju *M. tuberculosis* [20]. Analogi benzotriazoli – triazolochinolony stanowią nową grupę związków o aktywności przeciwgruźliczej, skuteczną także przeciw szczepom MDR *M. tuberculosis*. Istotną zaletą tych cząsteczek jest niska cytotoksyczność. Pochodna **10** mająca grupy metylowe przy N(3) i N(9) pierścienia (Rys. 6) wykazywała aktywność przeciwgruźliczą (MIC = 0,5 µg/ml) na poziomie porównywalnym z rifampicyną, ciprofloksacyną, etambutolem – związkami standardowo stosowanymi w leczeniu gruźlicy [21].



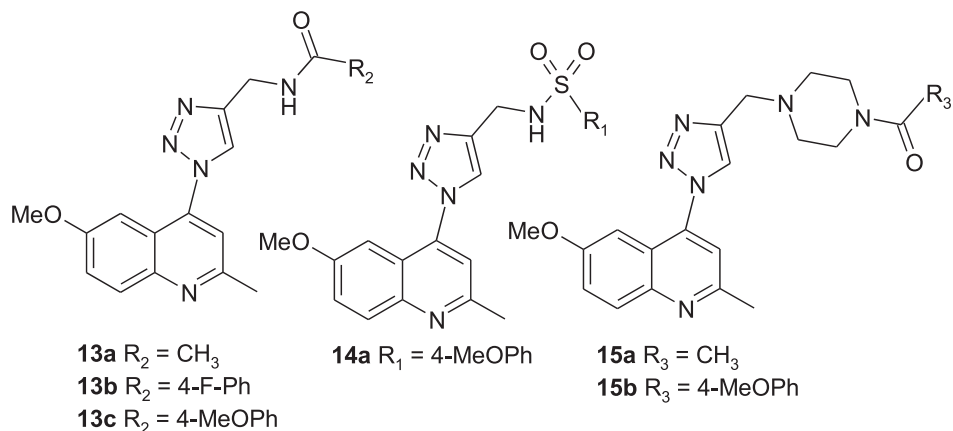
Rysunek 6. Przeciwgruźlicze 1,2,3-triazole z układem chinolonu  
Figure 6. Antitubercular 1,2,3-triazoles with the quinolone framework

Również związki **11** i **12** (Rys. 6) miały niską cytotoksyczność  $CC_{50} > 100$  µg/ml przy znacznej skuteczności przeciwbakteryjnej (MIC = 4–32 µg/ml). Ta klasa triazolochinolonów wykazywała wąskie spektrum działania przeciwbakteryjnego, ponieważ była skuteczna tylko wobec rodzaju *Mycobacterium*. Cecha ta stanowi dodatkowy atut ze względu na brak zakłócenia fizjologicznej flory bakteryjnej przewodu pokarmowego. Ponadto ograniczona ilość wrażliwych bakterii zmniejsza selekcję szczepów opornych i przenoszenie oporności między różnymi gatunkami drobnoustrojów [21].

Do związków mających działanie wobec szczepów *M. tuberculosis* H37Rv należą także pochodne triazolu z pierścieniem chinoliny i podstawnikiem amidowym **13**, sulfonamidowym **14** i amidopiperazynowym **15** (Rys. 7) przy C(4) 1,2,3-triazolu.



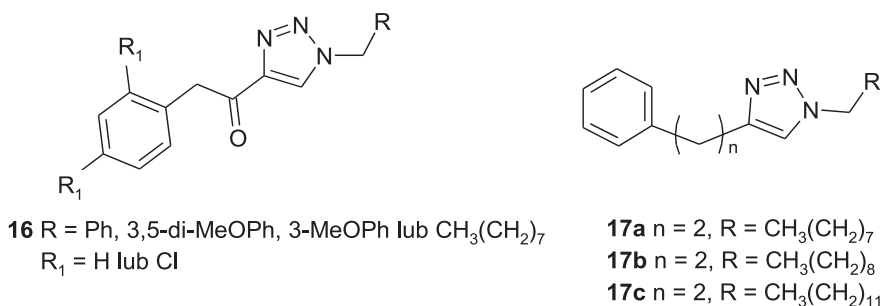
Największą aktywność zaobserwowano dla związków, które jako podstawniki R posiadały grupy: acetylową, 4-metoksyfenylową i 4-fluorofenylową [22].



Rysunek 7. Przeciwwgruźlicze 1,2,3-triazole z układem chinoliny

Figure 7. Antitubercular 1,2,3-triazoles with the quinoline framework

Menendez i in. zbadali aktywność przeciwwgruźliczą pochodnych  $\alpha$ -ketotriazoli **16** i 1,4-dwupodstawionych triazoli **17**, dla których mechanizm działania polega na hamowaniu reduktazy enoilowej InhA. Wykazano, że związki **17** z długim łańcuchem alifatycznym mają wysoką aktywność przeciwwgruźliczą; dla **17c** MIC < 2  $\mu\text{g/ml}$ . Natomiast wprowadzenie do cząsteczki grupy karbonylowej w pozycji  $\alpha$  w odniesieniu do atomu C(4) pierścienia 1,2,3-triazolu (związek **16** Rys. 8) spowodowało gwałtowny spadek aktywności [23].

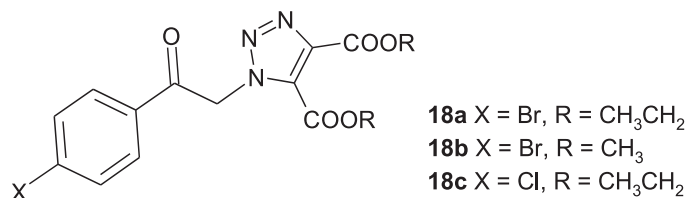


Rysunek 8. Przeciwwgruźlicze 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole **16–17**

Figure 8. Antitubercular 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles **16–17**

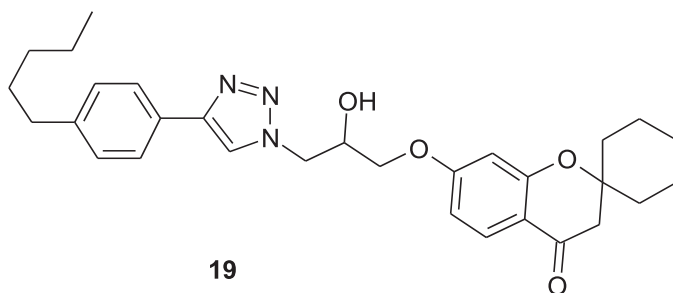
Obecność grupy karbonylowej w położeniu  $\beta$  łańcucha podstawionego przy N(1) 1,2,3-triazolu nie zmniejsza aktywności związku wobec *M. tuberculosis*. Dla pochodnych 1,2,3-triazolu zawierających grupę karbonylową w położeniu  $\beta$  łańcucha podstawionego przy N(1) oraz grupy estrowe przy C(4) i C(5) **18** (Rys. 9)

udowodniono działanie przeciwgruźlicze wobec szczepów *M. tuberculosis* H37Rv na poziomie etambutolu, związku stosowanego w terapii gruźlicy. Największą aktywność odnotowano dla związku **18a**, który przy N(1) triazolu ma podstawnik z grupą 4-bromofenylową [24].



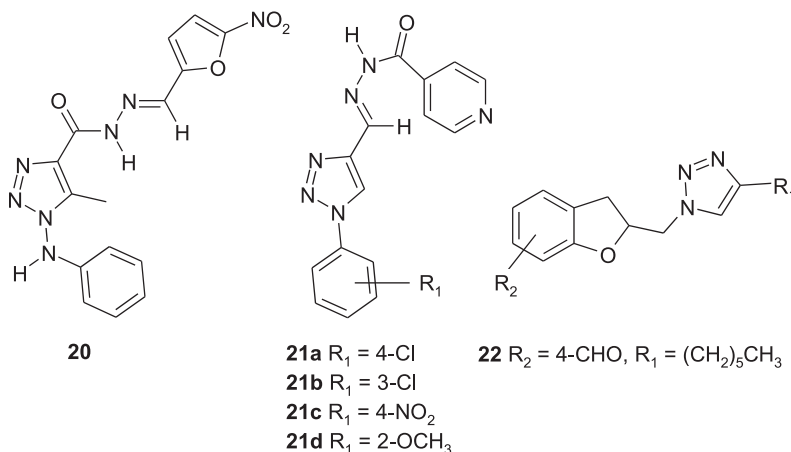
Rysunek 9. Przeciwgruźlicze 1,4,5-trójpodstawione 1,2,3-triazole  
 Figure 9. Antitubercular 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles

Pochodna 1,2,3-triazolu z podstawnikiem zawierającym układ chromonu **19** (Rys. 10) wykazywała silniejsze działanie wobec *M. tuberculosis* niż referencyjny etambutol, a wysoka aktywność wynikała z obecności łańcucha pentylowego [25].



Rysunek 10. Przeciwgruźliczy 1,4-dwupodstawiony 1,2,3-triazol zawierający układ chromonu  
 Figure 10. Antitubercular 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole containing a chromon framework

Z powodu wysokiej toksyczności izoniazydu, jednego z podstawowych leków w leczeniu gruźlicy, zbadano hydrazydowe pochodne 1,2,3-triazoli **20** i **21** (Rys. 11) [26, 27]. Aktywność przeciwgruźlicza związków **21a-d** była tylko nieco mniejsza od izoniazydu, natomiast miały dodatkową zaletę – wysoki indeks terapeutyczny, a dzięki temu niską hepatotoksyczność i nefrotoksyczność. Dobrą aktywnością charakteryzowały się cząsteczki z elektronoakceptorowymi grupami w pierścieniu (MIC 2,5–0,62 µg/ml) [27]. Natomiast w przypadku związku **20** za aktywność odpowiadał również pierścień furanu oraz grupa nitrowa [26]. Podobną skuteczność przeciwgruźliczą wykazywała pochodna dihydrobenzofuranu połączona z pierścieniem 1,2,3-triazolu **22** [28].

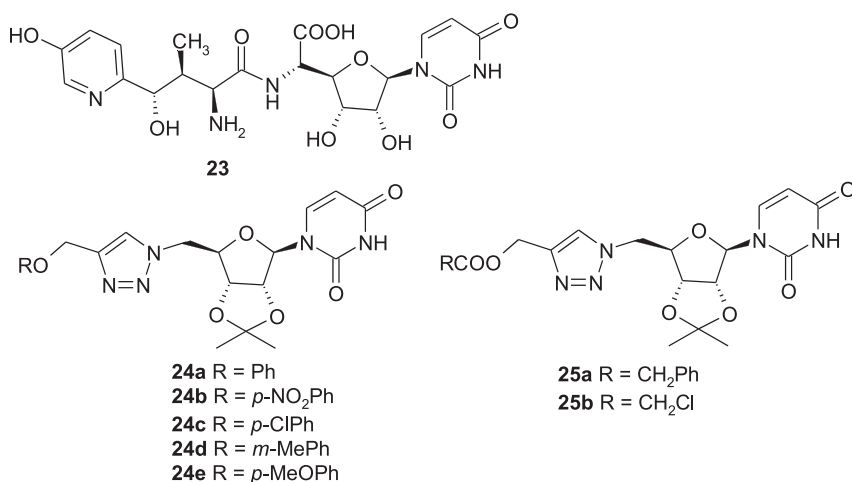


Rysunek 11. Przeciwwgrzyźlice 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole 20–22

Figure 11. Antitubercular 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles 20–22

### 3. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWGRZYBICZYM

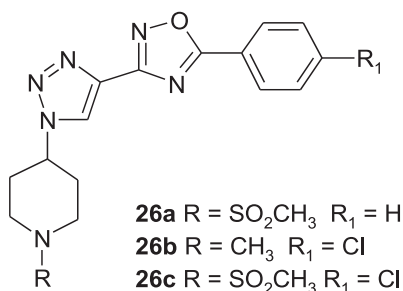
Nikkomycyna **23** jest nukleozydem o działaniu przeciwgrzybiczym występującym w naturze. Aktywność przeciwgrzybiczą zaobserwowano także dla analogów nikkomycyny **24a-e** oraz **25a-b** (Rys. 12), w których wiązanie amidowe w pozycji 5' urydyny zastąpiono układem 1,2,3-triazolu, co prowadzi do otrzymania związków będących inhibitorami syntazy chityny. Takie pochodne triazolowe nikkomycyny wykazywały wysoką aktywność przeciwgrzybiczą wobec *C. neoformans* i *C. albicans*.



Rysunek 12. Przeciwwgrzyźlice 1,2,3-triazolowe analogi nikkomycyny 24 i 25

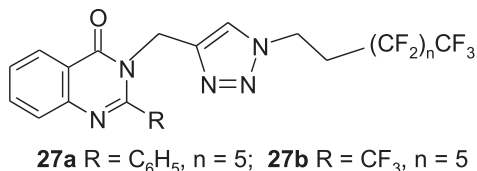
Figure 12. Antifungal 1,2,3-triazole analogues of nikkomycin 24 and 25

Największą zdolność hamowania syntazy chityny miały związki **24a**, **24b**, **24d** i **25b**. Ponadto ustalono, że związek **24a** był skuteczniejszy wobec *C. neoformans* niż flukonazol i amfoterycyna B [29]. Pochodne 1,2,3-triazolu podstawione przy N(1) i C(4) pierścieniami heterocyklicznymi, odpowiednio piperydyną i 1,2,4-oksadiazolem **26** (Rys. 13) miały zróżnicowaną aktywność przeciwgrzybiczą wobec *A. niger*, *A. flavus*, *C. neoformans*. Związek **26a** odznaczał się działaniem przeciwgrzybiczym o mocy porównywalnej z mikonazolem. Najskuteczniejsze były związki **26b–c**, w których grupy metylova lub metylosulfonylova były połączone z atomem azotu piperydyny i przy C(4) pierścienia benzenowego obecny był atom chloru [30].



Rysunek 13. Przeciwgrzybicze 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole **26**  
 Figure 13. Antifungal 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles **26**

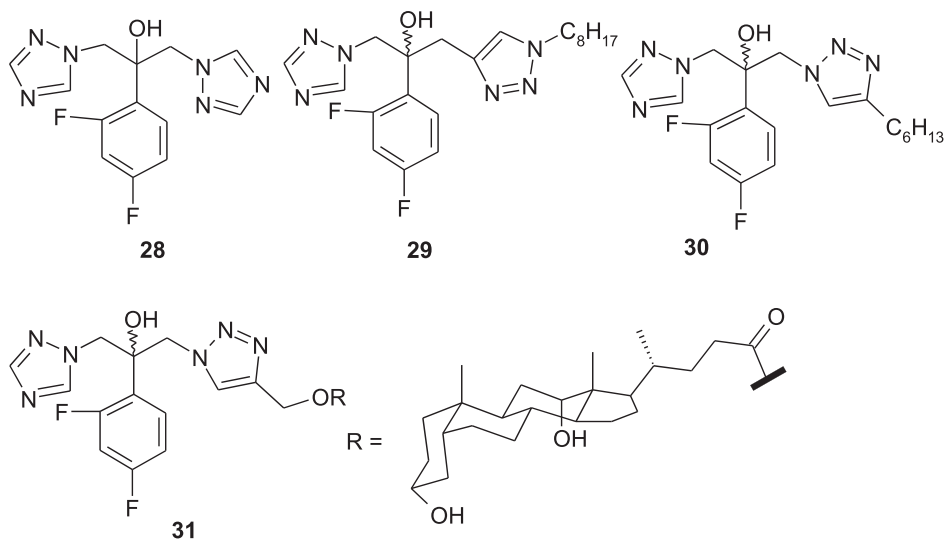
Potencjalnymi kandydatami na leki przeciwgrzybicze mogą być pochodne 1,2,3-triazolu podstawione układem chinazoliny. Mimo, że związki **27a** i **27b** (Rys. 14) wykazywały działanie słabsze od amfoterycyny B, miały jednak szersze spektrum aktywności przeciwgrzybiczej, gdyż poza skutecznością wobec *C. albicans* i *S. cerevisiae* zaobserwowano również działanie przeciwko *A. niger*, *A. flavus*, *C. rugosa* [15].



Rysunek 14. Przeciwgrzybicze 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole **27**  
 Figure 14. Antifungal 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles **27**

Flukonazol **28** jest stosowany w leczeniu grzybic wywołanych przez rodzaj *Candida* i *Cryptococcus* i mimo, że posiada dobry profil bezpieczeństwa i korzystną farmakokinetykę, nie zawsze jest skuteczny, ponieważ pojawiają się szczepy *C. albicans* odporne na flukonazol [31]. Analogi flukonazolu **29** i **30** (Rys. 15) zawierające pierścienie 1,2,3-triazolu posiadające długie łańcuchy alkilowe, odpowiednio przy

N(1) i C(4), wykazywały bardzo dobrą aktywność przeciwgrzybiczą wobec licznych gatunków grzybów [32].

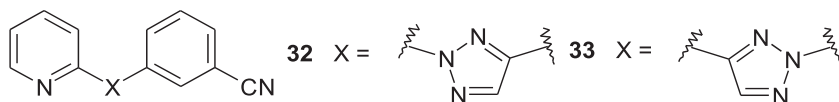


Rysunek 15. Przeciwgrzybicze 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole, analogi flukonazolu **28**  
Figure 15. Antifungal 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles, analogues of fluconazole **28**

Skuteczność związków **29** i **30** przeciw *C. albicans* była lepsza w porównaniu z flukonazolem. Jeszcze bardziej efektywne działanie przeciwgrzybicze wykazywał związek **31** będący analogiem flukonazolu połączonym z kwasem deoksycholowym. Ze względu na amfifilowość kwasów żółciowych, uzyskane konjugaty pochodnych 1,2,3-triazolu z kwasem deoksycholowym były skuteczniej przenoszone przez transportery i łatwiej przenikały przez błony. Związek **31** wykazywał wyższą aktywność wobec *C. albicans* i *C. neoformans* niż flukonazol i amfoterycyna przy porównywalnej toksyczności. Zatem zamiana jednego pierścienia 1,2,4-triazolu na 1,2,3-triazol połączony z długim łańcuchem alkilowym bądź z kwasem żółciowym prowadziła do otrzymania cząsteczek o większej skuteczności przeciwgrzybiczej [32].

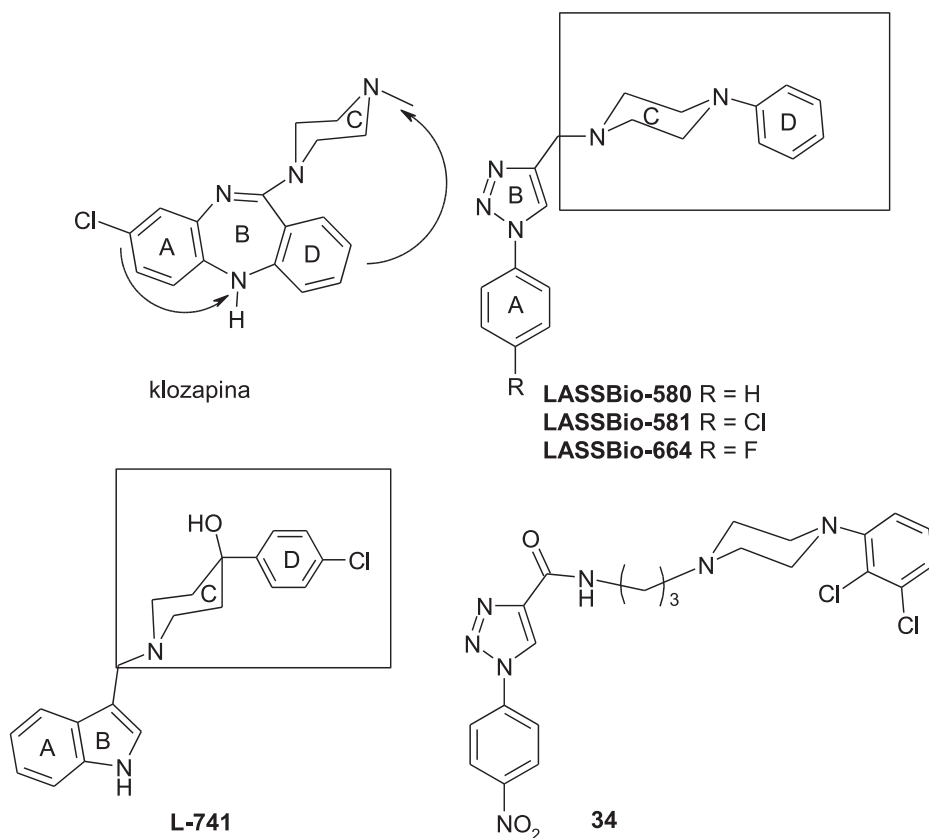
#### 4. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PSYCHOTROPOWYM

Układ 1,2,3-triazolu coraz częściej pojawia się w cząsteczkach działających na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) wpływając na receptory neuroprzekazników. Roppe i in. wykazali aktywność anksjolityczną (przeciwlękową) związków **32** i **33** (Rys. 16) będących antagonistami receptora glutaminergicznego mGlu5, po podaniu doustnym u szczurów [33]. Związek **32** charakteryzował się korzystniejszymi parametrami farmakokinetycznymi w porównaniu z **33**, co świadczy o tym, że zamiana położenia podstawników pierścienia benzenowego i pirydyny przy pierścieniu 1,2,3-triazolu ma korzystny wpływ na wchłanianie cząsteczki.



Rysunek 16. Pochodne 1,2,3-triazolu o działaniu przeciwłękowym  
Figure 16. 1,2,3-Triazole derivatives with anxiolytic activity

Opierając się na teorii bioizosteryzmu zaprojektowano związki o działaniu przeciwpsychotycznym posiadające w swojej strukturze układ 1,2,3-triazolu. Pierwszym atypowym neuroleptykiem pozbawionym działań niepożądanych, charakterystycznych dla klasycznych leków przeciwpsychotycznych, była klozapina (ligand receptora dopaminergicznego  $D_4$ ).



Rysunek 17. Klozapina, L-741 oraz pochodne 1,2,3-triazolu LASSBio (580,581,664), 34 o aktywności przeciwpsychotycznej

Figure 17. Clozapine, L-741 and 1,2,3-triazole derivatives LASSBio (580,581,664), 34 with antipsychotic activity

Jednocześnie zaobserwowano, że związek L-241 (Rys. 17) wykazuje dużą selektywność i wysokie powinowactwo do receptora  $D_2$  ( $K_i = 2,4$  nM). Biorąc pod uwagę

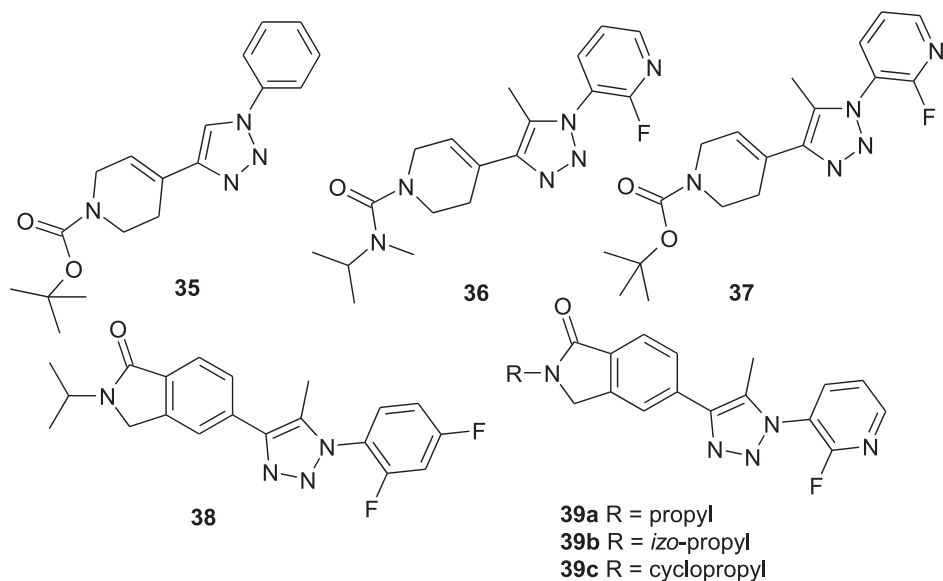
elementy strukturalne obu cząsteczek zaprojektowano nową grupę potencjalnych neuroleptyków **LASSBio** (Rys. 17), w których pierścień diazepiny (B) w klozapinie został zastąpiony przez układ 1,2,3-triazolu, podstawionego w pozycji N(1) grupą aryłową w celu uniknięcia tautomerii prototropowej. Atom chloru w pozycji para (**LASSBio-581**) został wprowadzony do pierścienia benzenowego A w celu zwiększenia strukturalnego podobieństwa z klozapiną [34–37]. Zastąpienie atomu Cl przez H i F pozwoliło na otrzymanie cząsteczek o wysokim powinowactwie do receptora  $D_2$  i porównywalnej aktywności przeciwpsychotycznej, przy czym **LASSBio-580** wykazywał działanie antagonistyczne, natomiast **LASSBio-581** – agonistyczne wobec receptora dopaminergicznego  $D_2$ . [34].

Kolejne badania dowiodły, iż wszystkie związki **LASSBio** (580, 581, 664) wykazują profil oddziaływania z wieloma receptorami w OUN, głównie z dopaminergicznym  $D_2$  oraz serotonergicznymi 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>1A</sub>, co wskazuje, zgodnie z obecną wieloreceptorową teorią schizofrenii [36, 38], na ich skuteczność w leczeniu pozytywnych objawów schizofrenii bez wywoływania katalepsji. Ze względu na korzystne parametry farmakokinetyczne związek **LASSBio-664** warto rozważyć jako potencjalny lek przeciwpsychotyczny [36].

Z kolei badania SAR ujawniły, że istotną rolę w powinowactwie do receptora dopaminergicznego  $D_3$  odgrywa układ aryloamidu połączony ze szkieletem *N*-alkiloo-*N'*-arylopiperazyny [39, 40]. Możliwość łatwego otrzymania w reakcji „click chemistry” serii pochodnych postawionego 1,2,3-triazolu oraz występowanie triazolu w formie nieprotonowanej w warunkach fizjologicznego pH sprawiła, że Rodriguez Loaiza i in. zbadali powinowactwo pochodnych *N*-fenylo-1,2,3-triazoloamidu do receptora dopaminergicznego jako potencjalnych leków przeciwpsychotycznych (Rys. 17). Wysoką aktywność ( $K_i = 1,0$  nM) i selektywność wobec receptora  $D_3$  uzyskano dla związku **34** [41]. Warto zauważyć, że związek **34** posiada strukturalne podobieństwo do związków **LASSBio**. Modyfikacja ich struktury między atomem C(4) triazolu, a N(1) piperazyny powoduje zmianę powinowactwa ligandu do receptora z  $D_2$  na  $D_3$ .

W ostatnich latach rozważa się podejście do leczenia zaburzeń psychicznych również poprzez blokowanie receptora aminokwasu pobudzającego – glutaminianu. Ito i in. z szeregu otrzymanych związków zidentyfikowali cząsteczkę **35** (Rys. 18) jako nieaminokwasowego antagonistę receptora glutaminergicznego metabotropowego mGluR1. Przyjęto, że w związku **35** pierścień triazolu jest bioizosterem wiązania amidowego obecnego w peptydach. Jednak duża lipofilowość **35** powodowała jego niedostateczną rozpuszczalność w wodzie. Modyfikacja cząsteczki **35** polegająca na zamianie pierścienia benzenu na fluoropirydynę doprowadziła do znacznego zwiększenia aktywności antagonistycznej wobec receptora mGluR1 (**36, 37**) (Rys. 18) [42]. Podstawnik fluoropirydynowy zapewniał utrzymanie logD w zakresie 1–3 (optymalnego dla leków doustnych działających na OUN) [42, 43]. W odpowiedzi na nietrwałość metaboliczną związku **36**, polegającą na usunięciu grupy metylowej z atomu N, opracowano pochodne 1,2,3-triazolu podstawionego w pozycji

C(4) ugrupowaniem izoindolinonu **38**, **39a-39c** (Rys. 18) uzyskując bardzo dobrą aktywność antagonistyczną wobec receptora mGluR1 ( $IC_{50}$  w zakresie 3,5–5,5 nM). Ponadto związek **38** po wprowadzeniu do pierścienia benzenu drugiego atomu fluoru wykazywał korzystną farmakokinetykę (wchłanianie i przenikanie do OUN) i brak efektów ubocznych u szczurów w postaci katalapsji. Może on zatem posłużyć jako struktura wiodąca nowej klasy leków przeciwpsychotycznych [43].



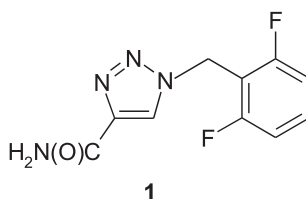
Rysunek 18. Antagoniści metabotropowego receptora glutaminergicznego (mGluR1) **35-38** i **39a-c** pochodne 1,2,3-triazolu

Figure 18. Metabotropic glutamate receptor (mGluR1) antagonists **35-38** and **39a-c** 1,2,3-triazole derivatives

## 5. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWPADACZKOWYM

Rufinamid **40** (Rys. 19) jest stosowany jako lek przeciwpadaczkowy do leczenia skojarzonego osób z drgawkami częściowymi oraz zespołem Lennox-Gastaut. Jego działanie polega na stabilizacji błony komórkowej neuronu i zahamowaniu pobudzenia neuronu poprzez wpływ na kanały sodowe. Jednak elementów cząsteczki odpowiedzialnych za aktywność rufinamidu **40** dotychczas nie ustalono [1, 44, 45]. Jest jedynym związkiem, amidową pochodną 1,2,3-triazolu, o aktywności przeciwdrgawkowej, czym różni się od dotychczas stosowanych leków tej grupy. Jego budowa może posłużyć jako struktura wiodąca przy poszukiwaniu innych efektywnych związków przeciwpadaczkowych.

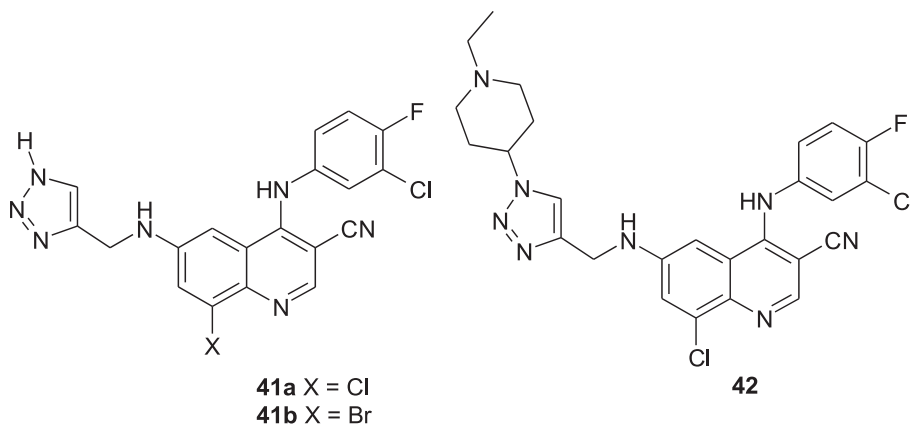




Rysunek 19. Rufinamid  
Figure 19. Rufinamide

## 6. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWPALNYM

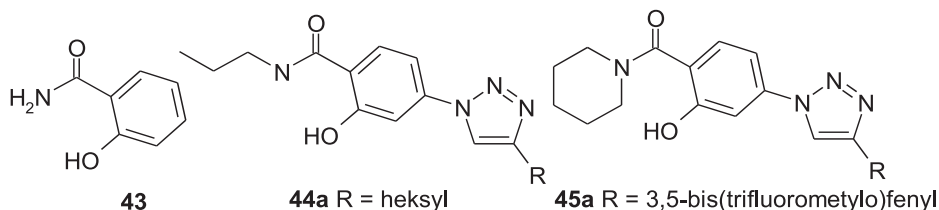
Związki hamujące syntezę TNF- $\alpha$  mogą być wykorzystywane w leczeniu chorób związanych z przewlekłym stanem zapalnym, m.in. w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS). Związki **41** (Rys. 20) zawierające pierścień 1,2,3-triazolu połączony z podstawioną chinoliną wykazywały zdolność hamowania tworzenia TNF- $\alpha$  poprzez inhibicję kinazy serynowej Tpl 2. Związki **41** silnie hamowały tworzenie się TNF- $\alpha$  indukowanego przez LPS. Wprowadzenie do cząsteczki **41** podstawników przy N(1) nie tylko zwiększyło siłę hamowania enzymu Tpl 2, ale również spowodowało wzrost aktywności związku **42** jako inhibitora, polepszyło rozpuszczalność w wodzie i ułatwiło jego transport przez błony komórkowe. Wśród licznych pochodnych najsilniejsze działanie wykazano dla związku **42** z podstawnikiem piperydynowym, którego aktywność była 20 razy większa od **41a** [46].



Rysunek 20. Przeciwpalne 1,2,3-triazole **41** i **42**  
Figure 20. Anti-inflammatory 1,2,3-triazoles **41** and **42**

Indukowana syntaza tlenu azotu (iNOS) powoduje nadmierne wytwarzanie NO, który uszkadza tkanki powodując stan zapalny. Salicylamid **43** jest skutecznym po podaniu doustnym lekiem o działaniu przeciwpalnym, przeciwgorącz-

kowym i przeciwbólowym [47]. Połączenie salicylamidu z podstawionym układem triazolu prowadzi do otrzymania związków **44** i **45** (Rys. 21), które selektywnie hamują iNOS. Największą aktywność miała cząsteczka **45a** z podstawnikiem 3,5-bis(trifluorometylo)fenylowym. Pierścień 1,2,3-triazolu został użyty do opracowania inhibitorów iNOS ze względu, że jest on bioizosterem wiązania amidowego [48].

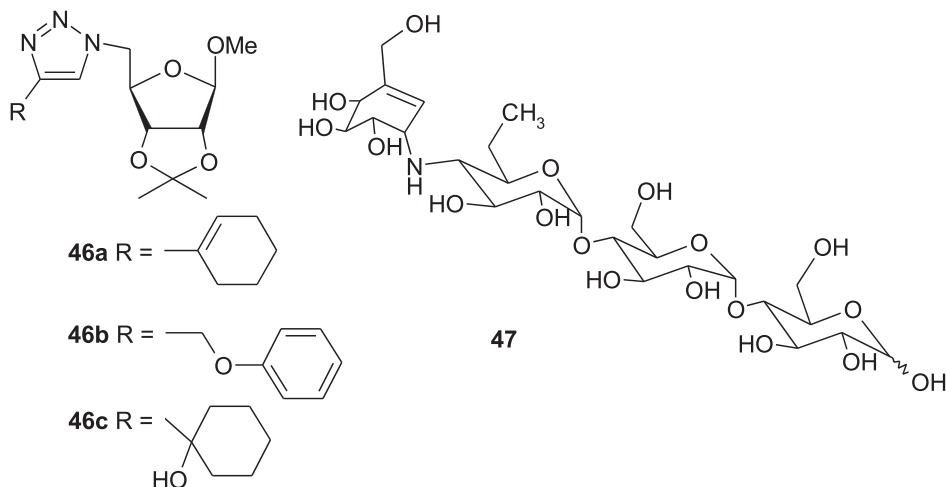


Rysunek 21. Wzorowane na salicylamidzie **43** przeciwzapalne 1,2,3-triazole **44** i **45**  
 Figure 21. Based on salicylamide **43** anti-inflammatory 1,2,3-triazoles **44** and **45**

## 7. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU HIPOGLIKEMICZNYM

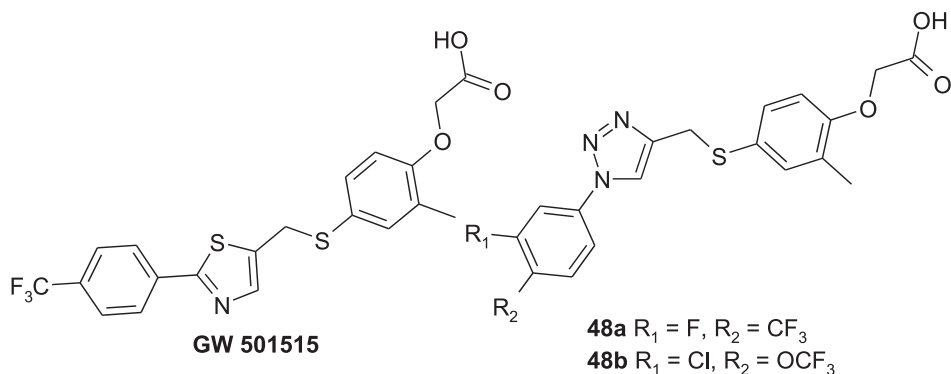
Akarboza **47** jest inhibitorem  $\alpha$ -glukozydazy zarejestrowanym do leczenia cukrzycy typu 2 [49]. Za silne hamowanie  $\alpha$ -glukozydazy odpowiada walienamina z powodu częściowo płaskiego ułożenia pierścienia aminocykloheksenowego oraz oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy grupą karbonylową centrum aktywnego enzymu i protonowanym atomem azotu inhibitora. Zatem poszukiwania skutecznych inhibitorów glukozydazy wymagają zaprojektowania struktur, które zawierają azaheterocykliczny pierścień połączony z częścią cukrową. Cechy, które przemawiają za wyborem układu 1,2,3-triazolu to możliwość tworzenia wiązań wodorowych, trwałość cząsteczki w warunkach utleniania, redukcji i hydrolizy enzymatycznej oraz występowanie triazolu w formie nieprotonowanej w warunkach fizjologicznego pH. Pochodne 1,2,3-triazolu **46**, zawierające w pozycji N(1) 2,3-O-izopropylideno- $\beta$ -D-rybofuranozyd metylowy połączony przez C(5') cukru (Rys. 22), okazały się efektywnymi inhibitorami  $\alpha$ -glukozydazy [50].

Triazolowe pochodne  $\beta$ -D-rybozy,  $\alpha$ -D-galaktozy i  $\alpha$ -D-ksylozy wykazywały silniejszą inhibicję  $\alpha$ -glukozydazy niż referencyjna akarboza **47** przy tym samym stężeniu (500  $\mu$ M). Największą aktywność jako inhibitora zaobserwowano dla pochodnych 2,3-O-izopropylideno- $\beta$ -D-rybofuranozydu metylowego **46**, wśród których związki **46a-c** były nawet dwudziestokrotnie silniejsze w porównaniu z akarbozą. Wszystkie zbadane związki posiadały izopropylidenującą grupę ochronną zabezpieczającą grupy hydroksylowe, która prawdopodobnie również miała wpływ na skuteczność inhibitorów, z uwagi na brak donorów wiązań wodorowych [50].



Rysunek 22. Hipoglikemiczne 1,2,3-triazole **46** i akarboza **47**  
 Figure 22. Hypoglycemic 1,2,3-triazoles **46** and acarbose **47**

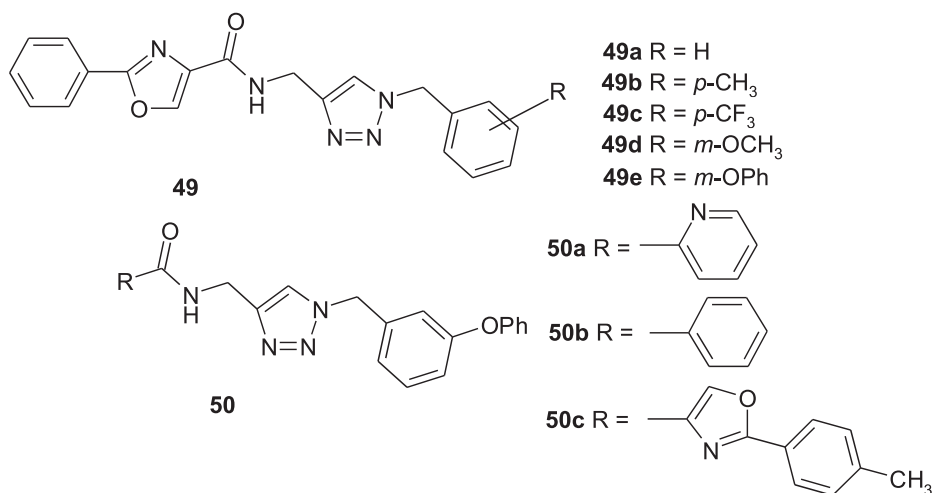
Agoniści receptorów PPAR $\alpha/\delta$  wykazują zdolność obniżania poziomu triglicerydów i poprawiania tolerancji glukozy w cukrzycy typu 2. Pochodne 1,2,3-triazolu **48a** i **48b** (Rys. 23) aktywowały utlenianie kwasów tłuszczowych i wykazywały silną aktywność agonistyczną zarówno wobec receptorów PPAR $\alpha$ , jak i PPAR $\delta$ . Związki **48a** i **48b** opracowano wzorując się na cząsteczce **GW 501515** (obniżającej poziom cholesterolu) i dokonując bioizosterycznej zamiany pierścienia triazolu na 1,2,3-triazol z dobrymi wynikami. Zatem ich struktura może być pomocna w poszukiwaniu jeszcze silniejszych podwójnych agonistów PPAR $\alpha/\delta$  o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu cukrzycy i zaburzeń lipidowych [51].



Rysunek 23. Hipoglikemiczne 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole **48** oraz **GW 501515**  
 Figure 23. Hypoglycemic 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles **48** and **GW 501515**

## 8. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWNOWOTWOROWYM

Jednym z punktów uchwytu dla środków przeciwnowotworowych są mikrotubule – białkowe polimery zbudowane z  $\alpha$ - i  $\beta$ -tubuliny. Układ *N*-[(1-benzylo-1,2,3-triazol-4-ilo)metylo]aryloamidowy **49** (Rys. 24) posłużył jako szkielet przy opracowaniu efektywnych związków hamujących polimeryzację tubuliny i wykazujących działanie antymitotyczne. Największą aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec linii komórkowej raka piersi MCF-7 miał związek **49e** ( $IC_{50} = 560$  nM). Modyfikacja struktury **49** przez zmianę podstawników przy amidowym atomie węgla prowadziła do otrzymania związków **50a–c** (Rys. 24), wśród których pochodna **50a** wykazywała najwyższą aktywność ( $IC_{50} = 46$  nM). Związki **49e**, **50a** i **50c** całkowicie hamowały polimeryzację tubuliny *in vitro*, a także posiadały działanie antymitotyczne na liniach komórkowych HeLa; powodowały zatrzymanie komórki w fazie M uniemożliwiając jej podział [52].

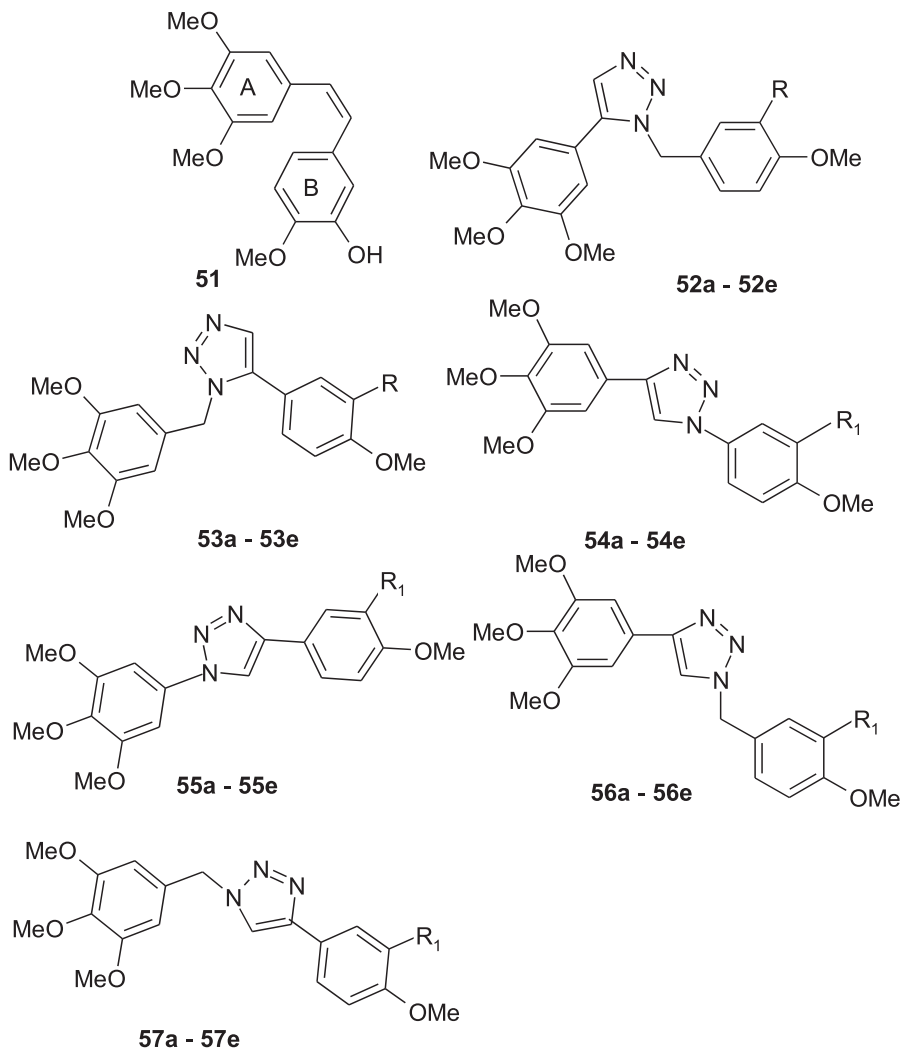


Rysunek 24. Cytotoksyczne 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazole **49** i **50**

Figure 24. Cytotoxic 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles **49** and **50**

Do inhibitorów polimeryzacji tubuliny należy również kombrestatyna A-4 **51**, związek o konfiguracji *cis* niezbędnej do działania jako inhibitor oraz grupami metoksyłowymi odpowiadającymi za aktywność [53]. Jednak ulega on łatwo izomeryzacji do formy *trans*. Analogi kombrestatyny **52–57** (Rys. 25) z ugrupowaniem triazolu jako sztywnym łącznikiem między pierścieniami A i B zostały zbadane pod kątem cytotoksyczności na liniach komórek nowotworowych białaczki K562 oraz jako czynniki wiążące mikrotubule. Dla 1,5-dwupostawionych 1,2,3-triazoli **52** i **53** obserwowano większą aktywność cytotoksyczną niż dla związków 1,4-dwupostawionych **54–57**. Istotny wpływ na aktywność cytotoksyczną wykazywał podstawnik R w pierścieniu B, a najsilniej działające związki miały grupy aminowe (**52e**, **53e**) i hydroksylowe (**52c**, **53c**) w pozycji 3'. Ponadto zaobserwowano rolę samego

pierścienia 1,2,3-triazolu w hamowaniu polimeryzacji tubuliny. Badania modelowania molekularnego cząsteczki **53e** potwierdziły, że atomy N(2) i N(3) triazolu z wolnymi parami elektronowymi oddziałują z pętlą T7  $\beta$ -tubuliny poprzez wiązania wodorowe stabilizując kompleks, co zaburza polimeryzację tubuliny [54].



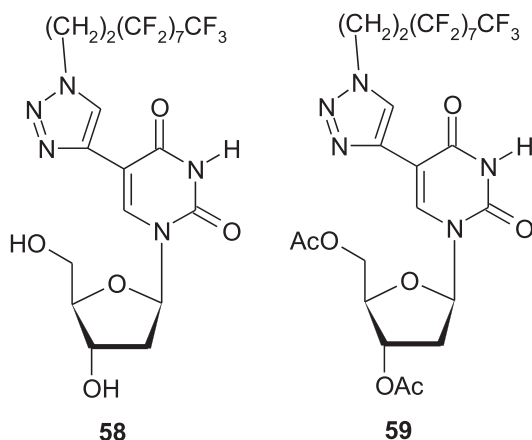
a: R = H; b: R = Br; c: R = OH; d: R = NO<sub>2</sub>; e: R = NH<sub>2</sub>

Rysunek 25. Wzorowane na kombrestatynie **51** cytotoksyczne 1,4-dwu- (**54-57**) i 1,5-dwupodstawione (**52-53**) 1,2,3-triazole

Figure 25. Based on combrestatine **51** cytotoxic 1,4-di- (**54-57**) and 1,5-substituted (**52-53**) 1,2,3-triazoles

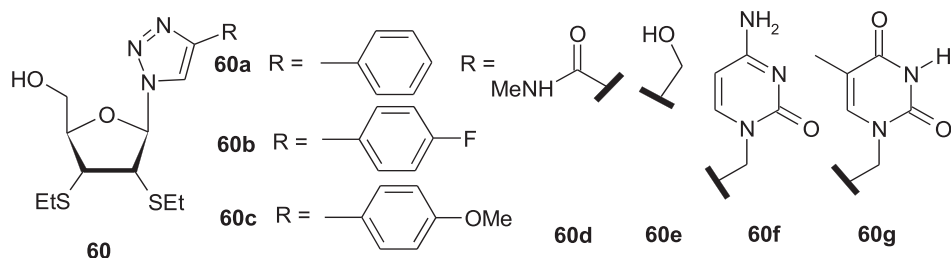
Wykazano, że pochodna 2'-deoksyurydyny **58** (Rys. 26) miała aktywność antyproliferacyjną wobec linii komórkowych raka prostaty PC-3, raka piersi MDA-

MB-231 i raka nerki ACHN porównywalną z aktywnością związków referencyjnych: floksurydyną i doksorubicyną. Jedynie związek **58** z łańcuchem 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-perfluorodecyłu w pozycji N(1) triazolu wykazywał zdolność hamowania linii komórek nowotworowych, natomiast nie zaobserwowano aktywności dla pochodnych z dłuższym (1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-perfluorododecyl) i krótszym łańcuchem (perfluorooktyl). Ponadto istotną cechą związku **58** była bardzo niska toksyczność wobec zdrowych komórek. Co więcej, dla żadnego z perfluoroalkylotriazolowych nukleozydów nie zaobserwowano toksyczności dla zdrowych fibroblastów płuc w przeciwieństwie do leków referencyjnych floksurydyny i doksorubicyny. Z kolei modyfikacja związku **58** do dwuacetylowej pochodnej **59** (Rys. 26) prowadziła do kilkukrotnego spadku aktywności przeciwnowotworowej. Grupy acetylowe zwiększały lipofilowość i ułatwiały transport do komórki, jednak w tym przypadku duża ilość atomów fluoru zapewniała odpowiednią lipofilowość, a grupy acetylowe prawdopodobnie były odpowiedzialne za zawadę steryczną [55].



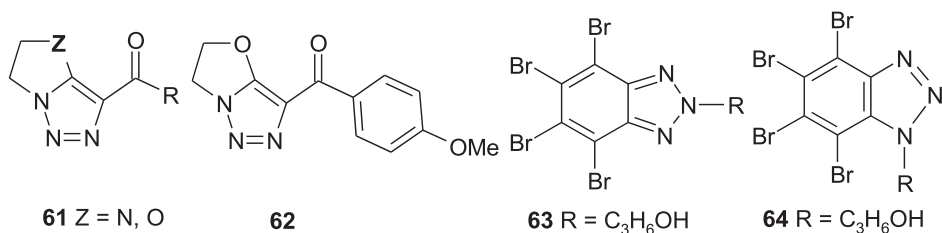
Rysunek 26. Przeciwnowotworowe analogi 2'-deoksyurydyny z ugrupowaniem 1,2,3-triazolu  
Figure 26. Anticancer analogues of 2'-deoxyuridine with the 1,2,3-triazole framework

Analogi nukleozydów, w których w miejsce grup hydroksylowych w pozycjach 2' i 3' wprowadzono grupy etylotiolowe, a nukleozasadę zastąpiono przez pierścień podstawionego 1,2,3-triazolu **60a-c** (Rys. 27) wykazywały aktywność cytotoksyczną wobec wybranych nowotworowych linii komórkowych: HepG<sub>2</sub>, A549, LAC, HeLa na poziomie porównywalnym z lekiem kontrolnym – floksurydyną. Natomiast tionukleozydy posiadające jako zasadę uracyl, tyminę i cytozynę zamiast triazolu nie miały aktywności cytotoksycznej. Na działanie hamujące rozrost komórek nowotworowych miał wpływ nie tylko układ 1,2,3-triazolu, ale również podstawnik w pozycji 4 pierścienia triazolu. Lipofilowy podstawnik aromatyczny, jak w przypadku związków **60a-c**, znacznie zwiększał aktywność cytotoksyczną, natomiast zupełny brak takiej aktywności wykazano dla związków **60d-g** zawierających bardziej polarne podstawniki [56].



Rysunek 27. Cytotoksyczne analogi nukleozydów z ugrupowaniem 1,2,3-triazolu  
 Figure 27. Cytotoxic analogues of nucleosides with the 1,2,3-triazole framework

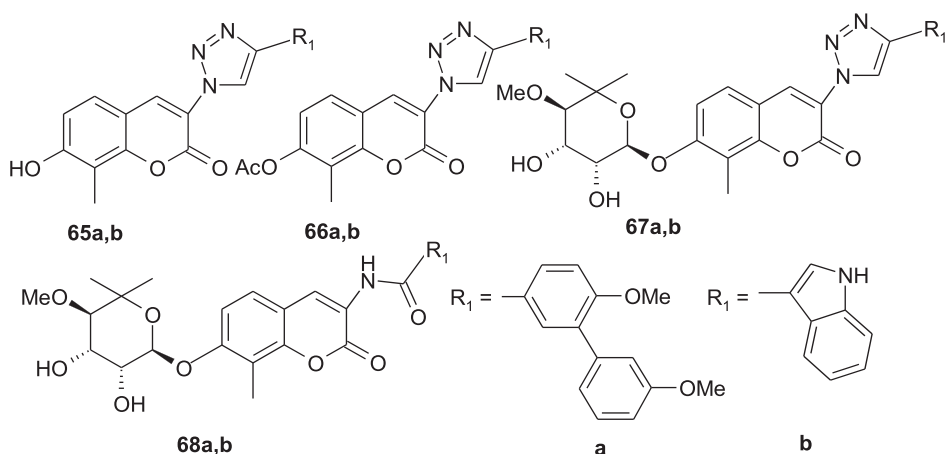
Związki **61** (Rys. 28) zbudowane ze skondensowanych pierścieni 1,2,3-triazolu i oksazo- albo diazoheterocyklicznego wykazywały działanie przeciwnowotworowe. Wykazano, że związki zawierające skondensowane pierścienie 1,3-oksazolidyny i 1,2,3-triazolu mają aktywność cytostatyczną wobec ludzkich nowotworowych linii komórkowych Skov-3, HL-60, A549, HepG znacznie większą niż analogi, w których znajdują się skondensowane pierścienie 1,3-diazoliny i 1,2,3-triazolu, z wyjątkiem linii komórkowych K562, wobec których silniejsze działanie wykazywały związki z układem 1,3-diazoheterocyklicznym. Najwyższą aktywność cytotoksyczną wobec wszystkich powyższych linii komórek nowotworowych zaobserwowano dla związku **62** (Rys. 28). Izosteryczna zamiana atomu N na atom O stanowi ważny czynnik przy opracowywaniu struktur związków przeciw określonym komórkom nowotworowym. Również podstawnik R odgrywał ważną rolę przy modyfikowaniu aktywności cytotoksycznej. Grupy bogate w elektrony, jak podstawnik *p*-metoksyfenylowy w związku **62**, zwiększały aktywność przeciwnowotworową [57].



Rysunek 28. Cytotoksyczne heterocykliczne układy skondensowane z pierścieniem 1,2,3-triazolu  
 Figure 28. Cytotoxic heterocycles condensed with the 1,2,3-triazole ring

Jako środki przeciwnowotworowe mogą być stosowane związki, które indukują apoptozę komórek nowotworowych, m.in. inhibitory kinazy białkowej CK2. Wśród *N*-podstawionych 4,5,6,7-tetrabromo-1,2,3-benzotriazoli największą aktywność hamowania ludzkiej kinazy białkowej CK2 wykazywały związki **63** i **64** (Rys. 28) z grupą 3-hydroksypropylową. Dowiedziono również, że do hamowania kinazy CK2 konieczna jest obecność czterech atomów bromu [58].

Działanie antyproliferacyjne wobec linii komórkowych raka piersi MCF-7 i SKBr-3 miały również analogi antybiotyku nowobiocyny, w których szkielet kumaryny został połączony z układem 1,2,3-triazolu **65a–b** i **66a–b** (Rys. 29) [59]. Przy projektowaniu struktur tych związków wykorzystano biozosteryczną zamianę grupy amidowej obecnej w nowobiocynie na pierścień 1,2,3-triazolu [7]. Wykazano, że znaczną aktywność antyproliferacyjną miały cząsteczki z podstawnikiem biarylowym oraz indolowym **65a–b** i **66a–b**. Ponadto, zaobserwowano dalszy wzrost aktywności antyproliferacyjnej dla związków **67a–b** (Rys. 29), podstawionych nowiosą w pozycji C(7) pierścienia kumaryny. Porównanie aktywności, poprzez wartości  $IC_{50}$  związków **67a** i **67b** oraz **68a** i **68b** z ugrupowaniem amidowym pozwoliło na zbadanie udziału układu 1,2,3-triazolu w działaniu antyproliferacyjnym. Triazolowa część nie miała większego wpływu na aktywność przeciwnowotworową wobec linii komórkowych raka piersi, zarówno triazolowa jak i amidowa pochodna wykazywały porównywalną skuteczność; istotną rolę pełniły podstawniki  $R_1$  [59].

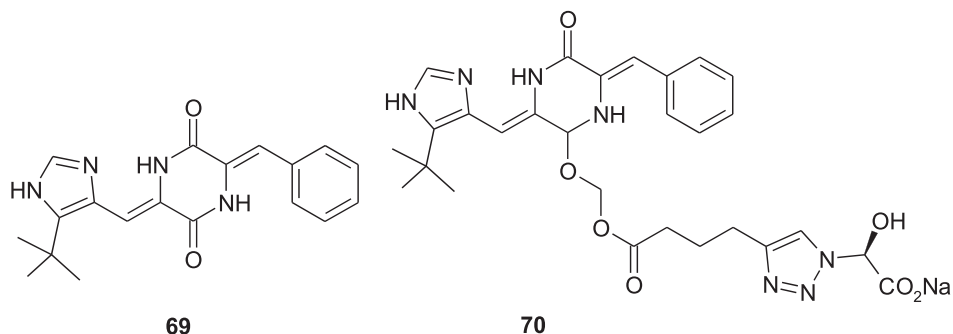


Rysunek 29. Przeciwnowotworowe 1,2,3-triazole z układem kumaryny

Figure 29. Anticancer 1,2,3-triazoles containing the coumarin framework

Plinabulina **69** (Rys. 30), związek który hamuje tworzenie mikrotubul, znajduje się w drugiej fazie badań klinicznych jako potencjalny lek przeciwnowotworowy. Ponieważ bardzo słabo rozpuszcza się w wodzie, została przekształcona w pochodną **70** zawierającą ugrupowania, które umożliwiają dobrą rozpuszczalność w wodzie. Wprawdzie sam związek **70** nie wykazuje aktywności biologicznej, ale w warunkach *in vivo* ulega hydrolizie enzymatycznej do cząsteczki **69** [60].

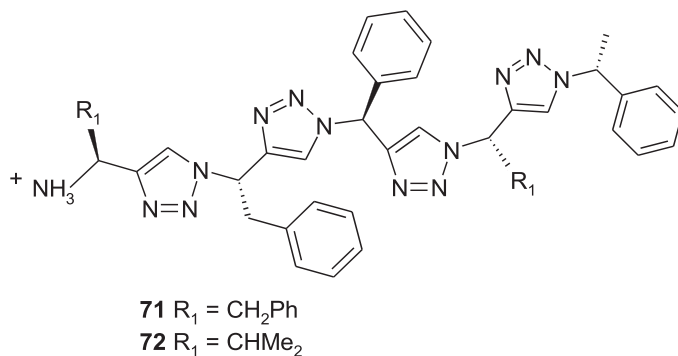




Rysunek 30. Plinabulina **69** i prolek **70**  
 Figure 30. Plinabulin **69** and prodrug **70**

### 9. 1,2,3-TRIAZOLE O DZIAŁANIU PRZECIWWIRUSOWYM

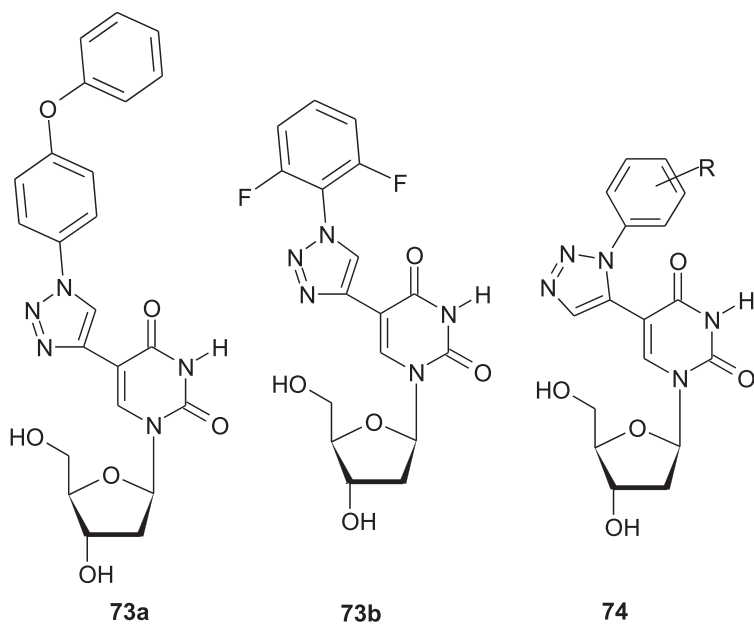
Mimetykami oligopeptydów, w których wiązanie amidowe zastąpiono pierścieniem 1,2,3-triazolu, są oligomery zwane triazolamerami **71** i **72** (Rys. 31) [61]. Taka modyfikacja zapewnia większą trwałość cząsteczek (odporność na temperaturę i reakcje hydrolizy) niż w przypadku peptydów. Ponadto, 1,4-dwupodstawione 1,2,3-triazolowe oligomery naśladują drugorzędową strukturę białka – łańcuch  $\beta$ . Ze względu na większy moment dipolowy układu 1,2,3-triazolu w porównaniu do wiązania amidowego, a przez to większe właściwości donorowo-akceptorowe w tworzeniu wiązań wodorowych, oligomery triazolowe mogą silniej oddziaływać z innymi cząsteczkami niż peptydy [62]. Wykazano, że związki **71** i **72** mają aktywność przeciwwirusową polegającą na hamowaniu proteazy HIV-1 [61].



Rysunek 31. Przeciwwirusowe triazolamery **71** i **72**  
 Figure 31. Antiviral triazolamers **71** and **72**

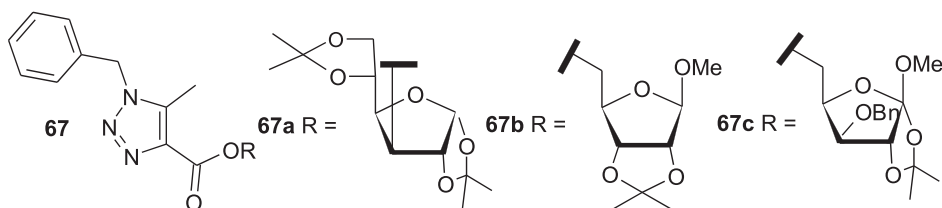
Jedną z grup związków stosowanych w leczeniu infekcji wirusowych są analogi nukleozydów [63]. Wysoką aktywność wobec wirusa HSV-1, porównywalną z acyklowirem, wykazywały pochodne 2'-deoksyurydyny podstawione przy C(5)

układem 1,2,3-triazolu **73a** i **73b** (Rys. 32) [64]. Wykazano, że jednym z elementów odpowiedzialnych za aktywność tych związków jest układ 1,2,3-triazolu podstawiony pierścieniem benzenowym, który wsuwa się w dużą bruzdę podwójnej nici DNA stabilizując dupleks poprzez „stacking” elektronów  $\pi$  z nukleozasadami [65]. Jednak praktyczne zastosowanie związków **73a** i **73b** wyklucza ich duża cytotoksyczność. To z kolei sprawia, że warto rozważyć te związki jako potencjalne środki przeciwnowotworowe, gdyż cytotoksyczność **73a** wobec linii komórek nowotworowych HeLa była większa niż referencyjnego 5-fluorouracylu. Warto zauważyć, że dla regioizomerycznego 1,5-dwupodstawionego triazolu **74** w ogóle nie zaobserwowano działania przeciwwirusowego [64].



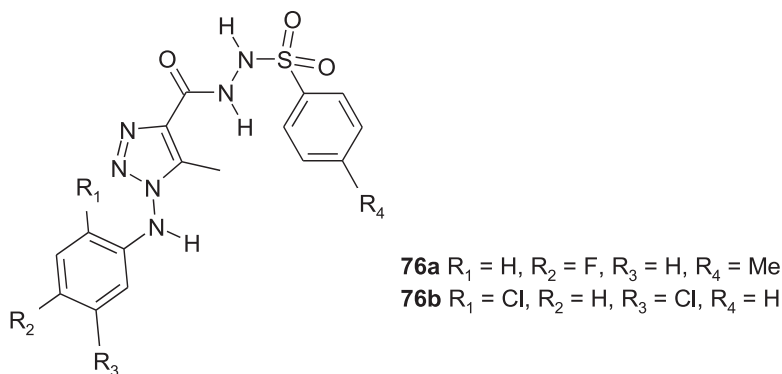
Rysunek 32. Przeciwwirusowe pochodne 2'-deoksyurydyny  
Figure 32. Antiviral derivatives of 2'-deoxyuridine

Połączenie pierścienia 1,2,3-triazolu i strukturalnie zróżnicowanych monosacharydów daje związki **75** (Rys. 33). Największą aktywność jako inhibitory odwrotnej transkryptazy HIV wykazywały związki **75a–c** i była ona porównywalna z aktywnością stosowanych leków lamiwudyny i zalcytabiny, ale nieco słabsza od AZD. Dodatkowo takie pochodne triazolu posiadały wyższy indeks terapeutyczny – były mniej cytotoksyczne od AZD. Ponadto ochronione grupy hydroksylowe w części cukrowej stanowiły ważny element w oddziaływaniu cząsteczki z HIV-RT, ponieważ dla związków z wolnymi grupami hydroksylowymi następował gwałtowny spadek aktywności [66].



Rysunek 33. Inhibitory odwrotnej transkryptazy HIV  
Figure 33. HIV reverse transcriptase inhibitors

Dla 1,4,5-trójpodstawionych 1,2,3-triazoli **76a** i **76b** (Rys. 34) zaobserwowano działanie hamujące namnażanie się wirusa opryszczki pospolitej HSV-1 o skuteczności zbliżonej do aktywności acyklowiru, jednak o większym profilu bezpieczeństwa, ze względu na mniejszą cytotoxycywność [67].



Rysunek 34. Przeciwvirusowe (HSV-1) 1,4,5-trójpodstawione 1,2,3-triazole **76a-b**  
Figure 34. Antiviral (HSV-1) 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles **76a-b**

## PODSUMOWANIE

Uniwersalność katalizowanej jonami miedzi(I) reakcji cykloaddycji Huisgena sprawia, że można zsyntetyzować ogromną ilość zróżnicowanych strukturalnie pochodnych 1,2,3-triazolu zawierających różne biocząsteczki jak aminokwasy, węglowodany czy nukleozydy. Pierścień 1,2,3-triazolu często pełni rolę łącznika między ugrupowaniami odpowiadającymi za aktywność związku. Z tego względu jest on związkiem heterocyklicznym mającym istotne znaczenie w chemii medycznej.

Określone działanie biologiczne nie zawsze jest uwarunkowane obecnością w cząsteczce pierścienia 1,2,3-triazolu, jednak często ze względu na możliwość tworzenia wiązań wodorowych i oddziaływania z centrum aktywnym enzymu powoduje on wzrost aktywności. Przedstawione pochodne 1,2,3-triazolu nie tylko charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną, ale często również niską cytotoxycywnością wobec komórek zdrowych. Pozwala to na dalsze ich badanie w celu

potencjalnego zastosowania jako leki. Zaprezentowane struktury wskazują kierunki modyfikacji cząsteczek w celu uzyskania określonej aktywności i otrzymania związków, które mogłyby zostać wprowadzone do lecznictwa.

## PODZIĘKOWANIE

Praca realizowana w ramach badań statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (502-34-009).

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.J. Brodie, W.E. Rosenfeld, B. Vazquez, R. Sachdeo, C. Perdomo, A. Mann, S. Arroyo, *Epilepsia*, 2009, **50**, 1899.
- [2] P. Bourget, A. Lesne-Hulin, R. Le Reveille, H. Le Bever, H. Carsin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, **40**, 139.
- [3] R.P. Tripathi, A.K. Yadar, A. Ajay, S.S. Bisht, V. Chaturvedi, S.K. Sinha, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 142.
- [4] H.C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, *Drug Discovery Today*, 2003, **8**, 1128.
- [5] E. Radzikowska, *Wiad. Chem.*, 2011, **65**, 135.
- [6] L.M.A. Lima, E. Barreiro, *J. Curr. Med. Chem.*, 2005, **12**, 23.
- [7] E.D. Chrysina, E. Bokor, K.M. Alexacou, M.D. Charavgi, G.N. Oikonomakos, S.E. Zographos, D.D. Leonidas, N.G. Oikonomakos, L. Somsak, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 773.
- [8] Y.L. Angell, K. Burges, *Chem. Soc. Rev.*, 2007, **36**, 1674.
- [9] M. Brunpascaud, F. Chau, L. Garry, R. Farinotti, F. Derovin, P.M. Girrard, *J. Acquir. Sydr. Hum. Retrovirol.*, 1996, **13**, 201.
- [10] D.A. Wininger, R.J. Fas, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002, **46**, 594.
- [11] X.L. Wang, K. Wan, C.H. Zhou, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 4631.
- [12] T. Weide, S.A. Saldanha, D. Minond, T.P. Spicer, J.R. Fotsing, M. Spaargaren, J.M. Frere, C. Bebrone, K.B. Sharpless, P.S. Hodder, V.V. Fokin, *Med. Chem. Lett.*, 2010, **1**, 150.
- [13] C. Bebrone, *Biochem. Pharmacol.*, 2007, **74**, 1686.
- [14] T.R. Walsh, M.A. Toleman, L. Porel, P. Nordman, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2005, **18**, 306.
- [15] P. Mani Chandrika, T. Yakaiah, G. Gayatri, K. Pranay Kumar, B. Narsaiah, U.S.N. Murthy, A. Raghu Ram Rao, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 78.
- [16] D. Murugesan, S. Palaniappan, Y. Perumal, C. Arnab, N. Valakunja, S. Dharmarajan, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 3408.
- [17] L. Annamaria, M. Jialin, W. Baojie, W. Yuehong, G.F. Scott, P.K. Alan, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 2109.
- [18] N. Amitt, M. Vikramdeep, M. Alpeshkumar, C. Evans, J. Rahul, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 626.
- [19] M. Dinakaran, P. Senthilkumar, P. Yogeewari, A. China, V. Nagarajan, S. Dharmarajan, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2008, **31**, 337.
- [20] D.R. Ashtekar, R. Costa-Pereira, K. Hagrajan, M. Vishvamatham, A.D. Bhatt, W. Rittel, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993, **37**, 183.
- [21] A. Carta, M. Palomba, I. Briguglio, P. Corona, S. Piras, D. Jabes, P. Gugliera, P. Milicotti, S. Zanetti, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 320.

- [22] K.D. Thomas, A.V. Adhikari, I.H. Chowdhury, E. Sumesh, N.K. Pal, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 2503.
- [23] C. Menendez, S. Gau, C. Lherbet, F. Rodriguez, C. Inard, M.R. Pasca, M. Baltas, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 5524.
- [24] P. Shanmugavelan, S. Nagarajan, M.Sathishkumar, A. Ponnuswamy, P. Yogeewari, D. Sriram, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, **21**, 7273.
- [25] M. Muthurkrishnan, M. Mujahid, P. Yogeewari, D. Sriram, *Tetrahedron Letters*, 2011, **52**, 2387.
- [26] A.K. Jordao, P.C. Sathler, V.F. Ferreira, V.R. Campos, M.C. de Souza, H.C. Castro, A. Lannes, A. Lourenco, C.R. Rodriguez, M.L. Bello, M.C. Lourenco, G.S. Carvalho, M.C. Almeida, A.C. Cunha, *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, **19**, 5605.
- [27] N. Boechat, V.F. Ferreira, S.B. Ferreira, M.G. Ferreira, F. da Silva, M.M. Bastos, M.S. Costa, M.C. Laurencio, A.C. Pinto, A.U. Krettli, A.C. Aguilar, B.M. Teixeira, N.V. da Silva, P.R. Martins, F.A. Bezerra, A.L. Camilo, G.P. da Silva, C.C. Costa, *J. Med. Chem.*, 2011, **18**, 5988.
- [28] R.P. Tripathi, A.K. Yadav, A. Ajay, S.S. Bisht, V. Chaturvedi, S.K. Sinha, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 142.
- [29] P.M. Chaudhary, S.R. Chavan, F. Shirazi, M. Razdan, P. Nimkar, S.P. Maybhat, A.P. Likhite, R. Gonnade, B.G. Hazara, M.V. Deshpande, S.R. Deshpande, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 2433.
- [30] J.N. Sangshetti, B.D. Shinde, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 1040.
- [31] J.H. Rex, M.G. Rinaldi, M.A. Pfaller, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1995, **39**, 1.
- [32] N.G. Aher, V.S. Pore, N.N. Mishra, A. Kumar, P.K. Shukla, A. Sharma, M.K. Bhat, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 759.
- [33] J. Roppe, N.D. Smith, D. Huang, L. Tehrani, B. Wang, J. Anderson, J. Brodtkin, J. Chung, X. Jiang, C. King, B. Munoz, M.A. Varney, P. Prasit, N.D.P. Cosford, *J. Med. Chem.*, 2004, **47**, 4645.
- [34] R. Menegatti, A.C. Cunha, V.F. Ferreira, E.F.R. Perreira, A. El-Nabawi, A.T. Eldefrawi, E.X. Albuquerque, G. Neves, S.M.K. Rates, C.A.M. Fraga, E.J. Barreiro, *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, **11**, 4807.
- [35] C.A.M. Fraga, R. Menegatti, E.J. Barreiro, G. Neves, A.H. Betti, M. Kliemann, S.M.K. Rates, L. Tasso, D.J. Conrado, T.D. Costa, V. de Oliveira, F. Noël, *Rev. Virtual. Quim.*, 2010, **2**, 28.
- [36] G. Neves, R. Menegatti, C.B. Antonio, L.R. Graziottin, R.O. Vieira, S.M.K. Rates, F. Noël, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 1925.
- [37] L. Tasso, G. Neves, R. Menegatti, C.A.M. Fraga, E. Barreiro, V. Eifler-Lima, S.M.K. Rates, T. Dalla Costa, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2005, **26**, 194.
- [38] D.H. Kim, M.J. Maneen, S.M. Stahl, *Neurotherapeutics*, 2009, **6**, 78.
- [39] F. Boeckler, P. Gmeiner, *Pharmacol. Therap.*, 2006, **112**, 281.
- [40] K. Schlotter, F. Böckler, H. Hübner, P. Gmeiner, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 3696.
- [41] P. Rodriguez Loaiza, S. Löber, H. Hübner, P. Gmeiner, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 5482.
- [42] S. Ito, A. Satoh, Y. Nagatomi, Y. Hirata, G. Suzuki, T. Kimura, A. Satow, S. Maehara, H. Hikichi, M. Hata, H. Kawamoto, H. Ohta, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 9817.
- [43] S. Ito, Y. Hirata, Y. Nagatomi, A. Satoh, G. Suzuki, T. Kimura, A. Satow, S. Maehara, H. Hikichi, M. Hata, H. Ohta, H. Kawamoto, *Bioorg. Med. Chem., Lett.*, 2009, **19**, 5310.
- [44] D.S. Patel, H.R. Mehta, H.J. Gowami, A.A. Sheth, M.M. Mehta, N. Shanker, K.J. Patel, A.A. Mehta, S. Deshpande, *RJPBCS*, 2011, **2**, 855.
- [45] W.H. Mudd, E.P. Stevens, *Tetrahedron Lett.*, 2010, **51**, 3229.
- [46] J. Wu, N. Green, R. Hotchandani, Y. Hu, J. Condon, A. Huang, N. Kaila, H.Q. Li, S. Guler, W. Li, S.Y. Tam, Q. Wang, J. Pelker, S. Marusic, S. Hsu, J.P. Hall, J.P. Telliez, J. Cui, L.L. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 3485.

- [47] P.P. Kung, B. Huang, G. Zang, J. Zhou, J. Wang, J.A. Digits, J. Skaptason, S. Yamazaki, D. Neul, M. Zientek, J. Elleraas, P. Mentha, M.J. Yin, M.J. Hickey, K.S. Gajiwala, C. Rodgers, J.F. Davies, M.R. Gehring, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 449.
- [48] J. Yoon, L. Cho, S.K. Lee, J.S. Ryu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, **21**, 1953.
- [49] R. Tattersall, *Diabetic Med.*, 1993, **10**, 688.
- [50] S.B. Ferreira, A.C.R. Sodero, M.F.C. Cardoso, E.S. Lima, C.R. Kaiser, F.P.Jr. Silva, V.F. Ferreira, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 2364.
- [51] C.C. Ciocoiu, N. Nikolic, H.H. Nguyen, G.H. Thoresen, A.J. Aasen, T.V. Hansen, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 3047.
- [52] J.A. Stefely, R. Palchaudhuri, P.A. Miller, R.J. Peterson, G.C. Moraski, P.J. Hergenrother, M.J. Miller, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 3389.
- [53] G.C. Tron, T. Pirali, G. Sorba, F. Pagliai, S. Bussaca, A.A. Genazzani, *J. Med. Chem.*, 2006, **11**, 1655.
- [54] K. Odlo, J. Fournier-Dit-Chabert, S. Ducki, O.A.B.S.M. Gani, I. Sylte, T.V. Hansen, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 6874.
- [55] S.M. Park, H. Yang, S.K. Park, H.M. Kim, B.H. Kim, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 5831.
- [56] J.L. Yu, Q.P. Wu, Q.S. Zhang, Y.H. Liu, Y.Z. Li, Z.M. Zhou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 240.
- [57] S.J. Yan, Y.J. Liu, Y.L. Chen, L. Liu, J. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 5225.
- [58] A. Najda-Bernatowicz, M. Łebska, A. Orzeszko, K. Kopańska, E. Krzywińska, G. Muszyńska, M. Bretner, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 1573.
- [59] L.B. Peterson, B.S.J. Blagg, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 3957.
- [60] F. Yakushiji, H. Tanaka, K. Muguruma, T. Iwahashi, Y. Yamazaki, Y. Hayashi, *Chem. Eur. J.*, 2011, **17**, 12587.
- [61] A.L. Jochim, S.E. Miller, N.G. Angelo, P.S. Arora, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 6023.
- [62] G.C. Tron, T. Pirali, R.A. Billington, P.L. Canonico, G. Sorba, A.A. Genazzani, *Med. Res. Rev.*, 2008, **28**, 278.
- [63] Y.S. Lee, S.M. Park, B.H. Kim, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 1126.
- [64] A. Montagu, V. Roy, J. Balzarini, R. Snoeck, G. Andrei, L. Agrofoglio, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 778.
- [65] P. Kocalka, N.K. Andersen, F. Jensen, P. Nielsen, *ChemBioChem*, 2007, **8**, 2106.
- [66] F.C. de Silva, M.C.B.V. de Souza, I.I.P. Frugulhetti, H.C. Castro, S.L. de Souza, T.M.L. de Souza, D.Q. Rodrigues, A.M.T. Souza, P.A. Abreu, F. Passamani, C.R. Rodrigues, V.F. Ferreira, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 373.
- [67] A.K. Jordao, V.F. Ferreira, T.M. Souza, G.G. de Souza Faria, V. Machado, J.L. Abrantes, M.C. de Souza, A.C. Cunha, *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, **19**, 1860.

Praca wpłynęła do Redakcji 13 czerwca 2012

# BIOLOGICZNA SYNTEZA NANOCZĄSTEK METALI

## BIOLOGICAL SYNTHESIS OF METAL NANOPARTICLES

**Irena Maliszewska**

*Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii,  
Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej,  
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław  
e-mail: irena.helena.maliszewska@pwr.wroc.pl*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Organizmy syntezujące nanocząstki metali

1.1. Bakterie

1.2. Drożdżaki

1.3. Grzyby

1.4. Glony i rośliny wyższe

2. Zastosowanie biomimetycznych nanocząstek metali

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---



**Irena Maliszewska**, dr biologii, mikrobiolog, absolwentka Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego. Pracuje w Zakładzie Chemii Medycznej i Mikrobiologii na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Zainteresowania naukowe skupiają się na zastosowaniu metabolizmu grzybów pleśniowych w procesach biotechnologicznych, obejmujących wytwarzanie zewnątrzkomórkowych enzymów (lipaz, proteaz), bioremediację i biotransformację chlorowcopochodnych oraz biosyntezę nanocząstek metali. Dorobek naukowy liczy 120 prac, z czego większość to artykuły naukowe o zasięgu międzynarodowym.



## ABSTRACT

Nanotechnology has attracted a great interest in recent years due to its expected impact on many areas such as energy, medicine, electronics and space industries. One of the most important aspects in researching nanotechnology is a synthesis of metal nanoparticles of well-defined sizes, shapes and controlled monodispersity. One of the exciting methods is the production of metal nanostructures using biological systems such as microbes, yeast, fungi and several plant extracts. Biological systems provide many examples of specifically modified nanostructured molecules. Perhaps, the best known are the magnetotactic bacteria which intracellularly synthesize magnetic nanocrystals in magnetosomes. The production of many other metal and metal alloy nanoparticles by organisms is a consequence of detoxification pathways. Organisms have evolved specific mechanisms to prevent excessive accumulation of metals. There are two probable ways to capture or trap the metal ions, electrostatic interaction and/or secretion of substances that will adhere the ions. For the process of intracellular synthesis of nanoparticles, the ions are involved in a nutrient exchange and/or substance diffusion. Thereafter, the functional reducing agents (i.e. reducing sugars, fatty acids, glutathione, flavonoids, terpenoids, fitoche-latines etc.) and/or enzymes ( $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ - dependent reductases, hydrogenases, oxidases), convert the harmful ions into non-harmful matters. Finally, the nuclei grow and subsequently intracellularly or extracellularly accumulate to form nanoparticles. Despite numerous research made in this area, the mechanism of biosynthesis is not a fully understood. In this paper an overview of the use of living organisms in the biosynthesis of metal nanoparticles is given and different mechanisms leading to the formation of nanoparticles are demonstrated.

Keywords: metal nanoparticles, quantum dots, biosynthesis, bacteria, yeasts, fungi plants

Słowa kluczowe: nanocząstki metali, kropki kwantowe, biosynteza, bakterie, drożdże, grzyby, rośliny

---

---

## WPROWADZENIE

Nanotechnologia jest interdyscyplinarną dziedziną nauki wykorzystującą koncepcję miniaturyzacji dla potrzeb rozwiązywania problemów natury chemicznej oraz biologicznej. Obejmuje ona różnorodne techniki tworzenia nowych materiałów bazując na osiągnięciach chemii, biologii, fizyki, mechaniki i informatyki. Pierwotna wizja budowania nanostruktur (zwana również nanotechnologią molekularną czy molekularną produkcją) zakładała podejście „bottom-up” czyli tworzenie materiałów i urządzeń w skali molekularnej za pomocą samoorganizacji atomów i cząstek. Drugi nurt tj. „top down” – zakłada, że rozmiar dużych struktur jest zredukowany i są one odtwarzane w nanoskali z zachowaniem ich oryginalnych właściwości bez kontroli na poziomie atomowym. Większość współczesnych technologii oparta jest na nanotechnologicznym filarze „top-down”. Ważnym, a zarazem ciekawym produktem nanotechnologii są nanocząstki metali. Nanocząstkami przyjęto nazywać struktury, których wielkości, przynajmniej w jednym wymiarze, nie przekraczają 100 nm. Takie twory, ze względu na swoje rozmiary, posiadają wyjątkowe właściwości, różne od tych, którymi charakteryzują się większe cząstki zbudowane z tego samego materiału. W ostatnich latach obserwuje się intensyfikację prac badawczych, poszukujących nowych, efektywnych i tanich sposobów syntezy tych cennych materiałów. Dotychczas opisano szereg chemicznych i fizycznych metod ich otrzymywania. Zebranie tych wiadomości można znaleźć w dostępnych artykułach przeglądowych [1–4]. Najbardziej powszechną metodą chemicznej syntezy nanocząstek metali jest redukcja jonów. Na drodze reakcji redoks możliwe jest otrzymanie nanocząstek różnych metali, jako stabilnych koloidów zdyspergowanych w układzie wodnym lub rozpuszczalniku organicznym. Wykazano, że rodzaj reduktora ma wpływ na wielkość otrzymywanych nanostruktur. Użycie silnego reduktora, jakim są np. borowodorki skutkuje syntezą małych, monodispersyjnych nanocząstek. Natomiast wykorzystanie np. cytrynianu, który jest słabym reduktorem, prowadzi do otrzymania nanocząstek dość sporych rozmiarów, jednak kosztem wydłużenia czasu reakcji [1]. Pomimo, iż redukcja chemiczna jest metodą z powodzeniem wykorzystywaną do syntezy nanocząstek, ze względu na występujące trudności podczas reakcji (podatność na utlenianie oraz zdolność do agregacji), istnieje konieczność zastosowania czynnika stabilizującego syntezowane cząstki [1, 2]. Ciekawym uzupełnieniem chemicznych metod otrzymywania nanocząstek metali jest synteza biologiczna. W prezentowanej pracy przedstawiono możliwość wykorzystania do syntezy i stabilizacji nanocząstek metali oraz kropek kwantowych naturalnych procesów, które ewolucyjnie wykształciły się w układach biologicznych. Biosynteza zachodzi na różnych drogach, jednak wspólną cechą, tak samo jak w przypadku syntezy chemicznej, jest redukcja jonów, skutkująca utworzeniem elementarnych cząstek metalu. Inspiracją do podjęcia badań w tym zakresie było odkrycie bakterii magnetotaktycznych (*Magnetospirillum magnetotacticum*), wytwarzających tzw. magnetosomy, będące otoczone przez pęcherzyki błonowe, pojedynczymi nanocząstkami magnetytu ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

Od tej pory opisano kilkadziesiąt organizmów zdolnych do biosyntezy nanocząstek różnych metali. Wśród nich znajdują się przedstawiciele bakterii, grzybów, alg oraz roślin wyższych. Biologiczna synteza może przebiegać zarówno zewnątrz- jak i wewnątrzkomórkowo. Synteza zewnątrzkomórkowa polega na związaniu jonów metalu na powierzchni komórki i ich redukcji. Synteza wewnątrzkomórkowa obejmuje transport jonów metalu do wnętrza komórki i ich redukcję skutkującą wytrącaniem metalu w postaci nanocząstek. O ile, w przypadku alg i roślin, wytwarzanie nanocząstek najczęściej ogranicza się do metody zewnątrzkomórkowej, to w przypadku mikroorganizmów, obie metody są możliwe i stosowane w zależności od zdolności metabolicznych drobnoustroju.

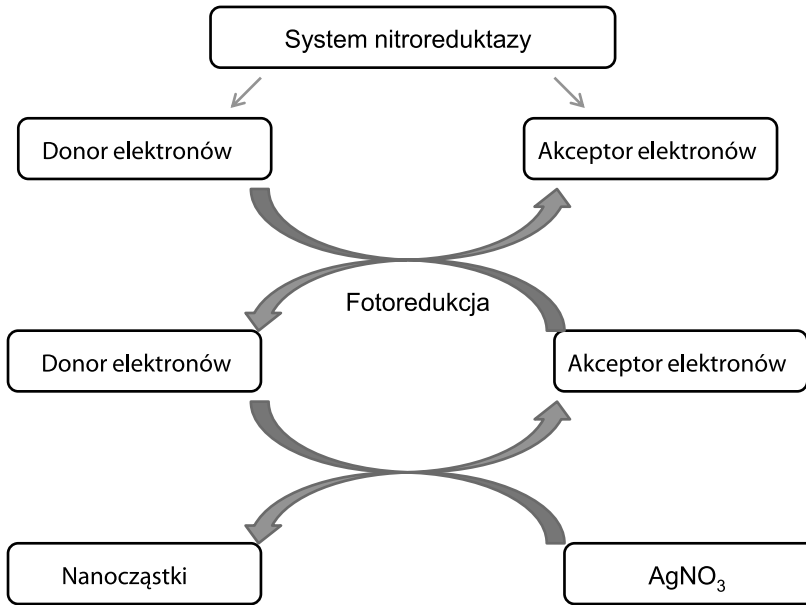
## 1. ORGANIZMY SYNTEZUJĄCE NANOCZĄSTKI METALI

### 1.1. BAKTERIE

Ze wszystkich organizmów używanych do otrzymywania nanocząstek metali, najlepiej poznаныmi są bakterie. W okresie trzydziestu lat badań, opisano kilkadziesiąt szczepów bakterii zdolnych do takiej syntezy. Wśród nich znaleźć można drobnoustroje syntezujące nanocząstki złożone z jednego rodzaju atomów lub potrafiące tworzyć układy bimetaliczne. Na liście najbardziej obiecujących „bio-producentów” znalazły się wyizolowane z kopalni srebra, bakterie *Pseudomonas stutzeri* AG259, które wewnątrz komórek gromadziły nanocząstki srebra o wielkości od 3–200 nm [5, 6]. Okazało się, że inkubacja występującego w maślanie i mleku szczepu z rodzaju *Lactobacillus* z jonami srebra lub złota również skutkuje wewnątrzkomórkową akumulacją nanocząstek tych metali lub układów bimetalicznych [7]. W przypadku biologicznej syntezy nanocząstek z wykorzystaniem *Lactobacilli* sugeruje się, że nanocząstki powstają w trakcie glikolizy. Podczas produkcji pirogronianu oraz mleczanu przez dehydrogenazę mleczanową zależną od NADH generowane są dwa protony, uczestniczące w procesie redukcji jonów (tutaj srebra) przy udziale systemu glutationu i tioredoksyny [8].

Kolejny przykład biologicznej syntezy nanocząstek, obejmuje wykorzystanie bakterii *Bacillus licheniformis* – laseczki normalnie występującej w glebie [9]. Inkubacja biomasy mikroorganizmu z azotanem srebra, prowadzi do wewnątrzkomórkowej akumulacji nanocząstek tego metalu. Autorzy sugerują, że w tym przypadku NAD-zależna reduktaza azotanowa odpowiada za proces bio-redukcji jonów. Do bakterii syntezujących nanocząstki srebra na zewnątrz komórek zaliczyć można pałeczki *Enterobacter cloacae* i *Klebsiella pneumoniae*, w przypadku których już po 5 minutach inkubacji jonów srebra z ich przesączami pochodzonymi, rozpoczyna się intensywna redukcja [10]. Autorzy przypuszczają, że w przypadku tego ostat-

niego mikroorganizmu synteza nanocząstek przebiega z udziałem nitroreduktazy oraz światła (Rys. 1) [11].



Rysunek 1. Hipotetyczny mechanizm syntezy nanocząstek srebra przez przesącz pochodzący od *Klebsiella pneumoniae* [11]

Figure 1. Hypothetical mechanisms of silver nanoparticles synthesis by culture supernatant of *Klebsiella pneumoniae* [11]

Z kolei 30 minutowa inkubacja jonów srebra z przesączem pochodzącym od *Escherichia coli* pozwala uzyskać sferyczne nanocząstki srebra wielkości 50 nm [12].

Już w 1980 roku Beveridge i Murray [13] odkryli zdolność szczepu 168 *Bacillus subtilis* do redukcji jonów  $Au^{+3}$ , skutkującej gromadzeniem we wnętrzu komórek oktaedralnych nanocząstek złota o średnicy 5–25 nm. Bakteriami zdolnymi do wewnątrzkomórkowej syntezy nanocząstek złota są też *Pseudomonas maltophilia*, *Escherichia coli* [14] oraz *Rhodopseudomonas capsulata* [15, 16]. Opierając się na wcześniejszych pracach Ahmada i in. [17, 18], wskazujących na rolę NADH i enzymów zależnych od tego koenzymu, jako ważnych czynników odpowiedzialnych za biosyntezę nanocząstek, i biorąc pod uwagę fakt, iż *Rhodopseudomonas capsulata* wydziela enzymy z tej grupy, Shying postuluje, iż za mechanizm bioredukcji jonów  $Au^{3+}$  do  $Au^0$  odpowiada reduktaza zależna od NADPH [16]. W tym samym roku, Deplanche i Macaskie [19] opublikowali pracę, w której zaprezentowali zdolność redukcji jonów  $Au^{+3}$  do  $Au^0$  przez *E. coli* i *Desulfovibrio desulfuricans*. Starannie przeprowadzone doświadczenia wykazały, że czynnikiem decydującym o syntezie nanostruktur, w przypadku *Desulfovibrio desulfuricans*, była obecność  $H_2$ . Obserwacje te sugerowały, iż za biosyntezę może być odpowiedzialna hydrogenaza-en-

zym, który katalizuje odwracalne utlenienie molekularnego  $H_2$ . W celu potwierdzenia tego przypuszczenia, dodano do podłoża jony  $Cu^{2+}$  (selektywne inhibitory niektórych hydrogenaz), co w efekcie zahamowało, ale jedynie częściowo, redukcję jonów złota. Okazało się zatem, że hydrogenazy są zaangażowane w proces syntezy, ale ich obecność nie jest konieczna. Deplanche i Macaskie w cytowanej pracy [19], nadmieniają, iż wyniki badań (niepublikowane do tej pory) z wykorzystaniem mutantów pozbawionych hydrogenaz, potwierdzają fakt, że enzymy te stanowią jedynie część mechanizmu odpowiedzialnego za biosyntezę nanocząstek złota przez *Desulfovibrio desulfuricans*. Z kolei *Pseudomonas aeruginosa* [20], *Shewanella algae* [21, 22, 23] zdolne są do zewnątrzkomórkowej biosyntezy nanocząstek tego metalu. O ile w przypadku pałeczki ropy błękitnej, mechanizm procesu nie jest poznany, to w przypadku *S. algae* wykazano, że redukcja jonów złota zależy od obecności  $H_2$  jako dawcy elektronów. Również ekstremofilne promieniowce z rodzaju *Thermomonospora* mogą być wykorzystane do otrzymywania sferycznych nanocząstek złota o wielkości 8 nm [24].

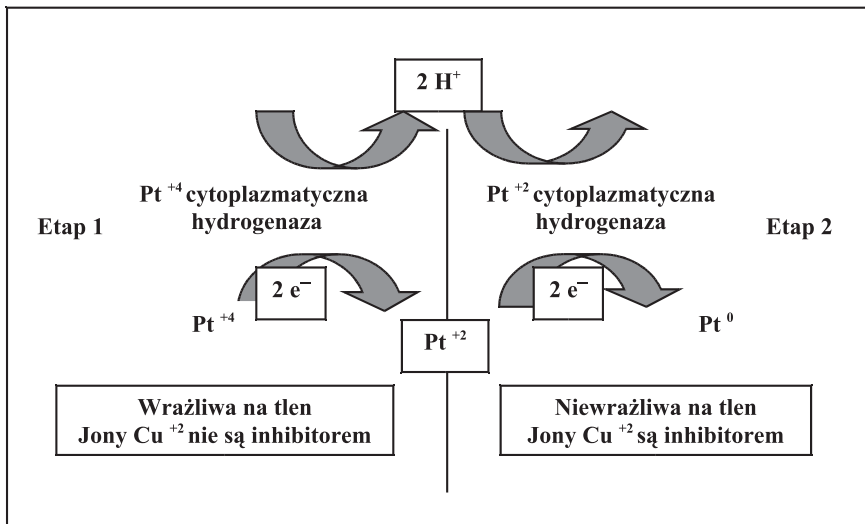
W ostatnich latach, pojawiły się prace, wskazujące na możliwość zastosowania bakterii do syntezy nanocząstek żelaza [25]. Synteza nanostruktur o właściwościach magnetycznych została potwierdzona u bakterii magnetotaktycznych, takich jak: *Thermoanaerobacter ethanolicus* i *Magnetospirillum magneticum*, które wytwarzają dwa rodzaje cząstek – część z nich wytwarza magnetyczne nanocząstki ( $Fe_2O_3$ ), część zaś tworzy nanocząstki greigitu ( $Fe_3S_4$ ), a niektóre z nich syntezują oba związki. Oprócz wspomnianych wcześniej magnetosomów, ciekawym podejściem do tematu jest biologiczna synteza nanocząstek magnetytu domieszkowanego innymi metalami. W 2007 roku, Moon z zespołem [26] przedstawił pracę, w której opisał prowadzoną przez bakterie *Thermoanaerobacter sp.* (TOR-39) syntezę magnetytu domieszkowanego cynkiem, kobaltem, manganem lub niklem.

Bakterie są również zdolne do syntezy półprzewodników, takich jak CdS i ZnS, nazywanych kropkami kwantowymi. Możliwość biosyntezy nanocząstek siarczku kadmu wykryto u *Clostridium thermoaceticum* [27], *Klebsiella pneumoniae* [28], *Escherichia coli* [29] i *Rhodopseudomonas palustris* [30], a zdolność do syntezy kryształów ZnS u *Desulfobacteriaceae* [31]. W większości przypadków nie opisano mechanizmu tych reakcji. Dla *Rhodopseudomonas palustris* zasugerowano udział desulfhidrazy cysteinowej w procesie [30].

Kilka lat temu zaprezentowano możliwość otrzymywania nanocząstek palladu, wykorzystując do tego Gram-ujemne, redukujące siarczany, bakterie gatunków: *D. desulfuricans*, *D. fructosivorans*, *D. vulgaris* [32, 33, 34], pałeczkę *Shewanella oneidensis* [35, 36] i tlenową laseczkę *Bacillus sphaericus* JG-A12 [37]. W przypadku *D. desulfuricans* biosynteza nanocząstek zachodziła przy udziale dostarczonego z zewnątrz  $H_2$ , co wskazuje na udział hydrogenaz w redukcji jonów palladu [33].

Zdolne do zewnątrzkomórkowej syntezy sferycznych nanocząstek złota [38, 39] oraz platyny [40] są cyjanobakterie *Plectonema boryanum* UTEX 485. W tym przypadku wykazano, że do wnętrza komórek transportowane są jony  $Pt^{+4}$ , które redu-

kowane są do  $Pt^{+2}$ . Tworzący się chlorek ( $Pt^{+2}$ ) i/lub niskie pH oraz wysoka temperatura procesu, powodują śmierć drobnoustrojów, a uwolnione z komórek organiczne składniki, prowadzą dalszy proces redukcji  $Pt^{+2}$  do  $Pt^0$  [40]. Ciekawy przykład otrzymywania nanocząstek platyny opisuje Riddin i wsp. [41]. W tym przypadku zostaje wykorzystana mieszana hodowla bakterii redukujących siarczany. Proces syntezy przebiega według poniższego schematu (Rys. 2) i według autorów jest katalizowany przez dwie cytoplazmatyczne hydrogenazy.



Rysunek 2. Postulowany mechanizm dwuetapowej redukcji jonów  $Pt^{+4}$  do  $Pt^0$  [41]

Figure 2. Postulated mechanism for the double two-electron reduction of  $Pt^{+4}$  to  $Pt^0$  [41]

## 1.2. DROŹDŹAKI

Do organizmów zdolnych do biosyntezy nanocząstek metali należą również przedstawiciele drożdżaków. Wśród nich należy wspomnieć o *Candida glabrata* [42] i *Schizosaccharomyces pombe* [43], które wewnątrz komórek akumulują nanocząstki siarczku kadmu. Stabilność tak uzyskiwanych nanostruktur zapewnia fitochelatylna – krótki peptyd, pokrywający ich powierzchnię. Z kolei *Torulopsis sp.* w swoich komórkach gromadzi nanokryształy siarczku ołowiu (Pbs) [44]. Wymienione powyżej mikroorganizmy syntezują nanocząstki wewnątrzkomórkowo, a z kolei oporny na srebro, drożdżak, oznaczony symbolem MKY3, zewnątrzkomórkowo redukuje jony srebra do kryształów metalicznych wielkości 2–5 nm [45].

Zupełnie niedawno opisano zdolności tropikalnego mikroorganizmu *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 do syntezy nanocząstek złota. Badania z wykorzystaniem technik mikroskopii elektronowej TEM i SEM wykazały, że powstające nanostruktury związane są ze ścianą komórkową, ale w temperaturze 20°C mogą być uwalniane do roztworu [46, 47].

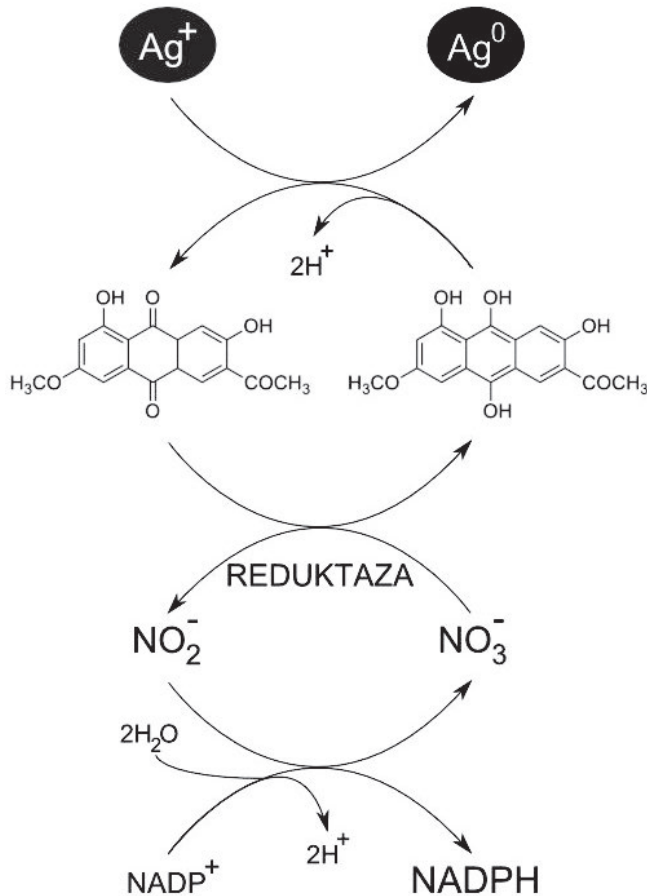
### 1.3. GRZYBY PLEŚNIOWE

Stosunkowo nowym podejściem do biosyntezy nanocząstek jest wykorzystanie metabolizmu grzybów pleśniowych. Ich konkurencyjność związana jest przede wszystkim z dużymi ilościami enzymów zawartych we wnętrzu komórek, wbudowanych w ścianę komórkową, ale co chyba najważniejsze, wydzielanych do środowiska, które jak się przypuszcza, są niezbędne do redukcji jonów metali do postaci metalicznej. Już w 1989 roku Pighi i in. [48], nieco później Chen i in. [49] oraz Birla i in. [50] opisali zdolność pleśni z rodzaju *Phoma* do syntezy sferycznych nanocząstek srebra. Kolejnym przykładem poznanych grzybów mikroskopowych, jest patogen roślin – *Fusarium oxysporum*, którego właściwości biosyntezy obejmują szerokie spektrum cząstek. Wśród nich znaleźć można znaleźć metale, takie jak złoto [51] i srebro [52], układy bimetaliczne Au-Ag [53], a także związki takie jak:  $ZrO_2$  [54],  $BiTiO_3$  [55] oraz  $CdS$  [56]. W 2006 roku Bharde z zespołem zaprezentował, iż zarówno *Fusarium oxysporum*, jak i *Verticillium*, potrafią zewnątrzkomórkowo syntezować nanocząstki magnetytu ( $Fe_2O_3$ ) [57]. Z kolei rosnący na liściach geranium, grzyb *Colletotrichum* sp., w momencie wystawienia go na działanie jonów chlorozłocianu(III), syntezuje nanocząstki złota o kształtach pręta i graniastosłupa [58]. Kropidlaki (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* i *A. niger*) redukują obecne w roztworze jony srebra do elementarnego metalu [59–61]. Bansal z zespołem [62] przedstawił biologiczną metodę otrzymywania tytanianu baru – ferromagnetycznego minerału wykorzystywanego w procesie produkcji materiałów piezoelektrycznych. Stosując *Fusarium oxysporum*, autorzy otrzymali nanocząstki o zdefiniowanych kształtach i rozmiarach nie przekraczających 10 nm. Cały proces był przeprowadzony w temperaturze pokojowej, co daje ekonomicznie uzasadnioną możliwość przemysłowego zastosowania tej metody. Z kolei metabolizm *Humicola* sp. zastosowano do skomplikowanej syntezy nanocząstek  $CuAlO_2$  [63].

Ostatnio pojawiły się doniesienia dotyczące zewnątrzkomórkowej redukcji metali przez grzyby pleśniowe z rodzajów: *Phaenerochaete* [64], *Trichoderma* [65], *Penicillium* [66–72] i *Rhizopus* [73]. W tym ostatnim przypadku autorzy wykazali, że obecność w podłożu jonów złota indukuje syntezę dwóch tzw. białek stresu, które „włączają” system ochrony komórki przed toksycznym wpływem metalu. Dokładny mechanizm bio-redukcji jonów metali przez grzyby pleśniowe, skutkujący powstawaniem nanocząstek, nadal pozostaje niewyjaśniony. W oparciu o wyniki badań dotyczące zewnątrzkomórkowej syntezy nanocząstek srebra przez pleśń z rodzaju *Verticillium*, Mukerjee i in. [74] zaproponowali możliwe podstawy mechanizmu odpowiedzialnego za biosyntezę. Uznano, iż proces rozpoczyna się od wiązania jonów metalu na powierzchni komórek grzybów. Może to zachodzić na drodze oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy  $Ag^+$ , a ujemnie naładowanymi grupami karboksylowymi białek obecnych w ścianie komórkowej grzybnii. Następnie jony srebra są redukowane przez enzymy obecne w ścianie komórkowej, wynikiem czego jest utworzenie zarodka, wokół którego tworzy się nanocząstka. Jest też możliwe, że

jony srebra  $\text{Ag}^+$  dyfundują przez ścianę komórkową i są redukowane przez enzymy obecne w błonie cytoplazmatycznej lub wewnątrz komórki.

Na przykładzie *Fusarium oxysporum*, Duran z zespołem [75], również przedstawił hipotetyczny mechanizm redukcji jonów srebra (Rys. 3).



Rysunek 3. Hipotetyczny mechanizm redukcji jonów srebra przez *Fusarium oxysporum* [75]

Figure 3. Hypothetical mechanism of silver ions reduction by *Fusarium oxysporum* [75]

Opiera się on na enzymatycznej redukcji jonów  $\text{Ag}^+$ , zachodzącej przy udziale enzymu z grupy oksydoreduktaz – reduktazy azotanowej. Wydaje się, że proces redukcji z udziałem  $\text{NADP}^+$  zależnej reduktazy, inicjowany jest przez transfer elektronów z  $\text{NADPH}$  na przenośniki w postaci antrachinonów. Następnie przenośniki te stanowią źródło elektronów dla jonów metali, które w wyniku ich przyjęcia ulegają redukcji, tworząc nanocząstki elementarnego srebra. Zaproponowany przez Duran'a mechanizm, został w 2007 roku potwierdzony przez Kumar'a i in. [76], którzy przeprowadzili *in vitro* syntezę nanocząstek srebra, wykorzystując  $\text{NADP}^+$  zależną reduktazę azotanową, fitochelatynę, 4-hydroksychinolinę oraz  $\text{NADPH}$ .



Autorzy sądzą, że nie jest to jedyny mechanizm i nie odnosi się do wszystkich pleśni syntezujących nanocząstki metali. W przypadku grzyba *Aspergillus niger*, dzięki elektroforezie w żelu poliakrylamidowym w warunkach denaturujących, odkryto, że płyn pochodzący zawiera oksydazę glukozową, która mogłaby wraz z glukozą, zawartą w mieszaninie, prowadzić redukcję jonów złota [77]. Wydaje się także, że obecność  $\alpha$ -amylazy, posiadającej dwie wyeksponowane grupy tiolowe, może prowadzić do redukcji jonów metali [78, 79]. Doświadczenia wykonywane z użyciem *Coriolus versicolor*, pokazały, że w przypadku grzybów nie należy również wykluczać nieenzymatycznego mechanizmu biosyntezy nanocząstek srebra [80]. Analiza FTIR uwidoczniła pojawienie się pików przy  $1735\text{ cm}^{-1}$ , który został zinterpretowany jako utleniona grupa hydroksylowa obecna w grzybnicy, powstała na skutek formowania się nanocząstek. Znaczenie grup  $-\text{SH}$  opisał Mukherjee [80], pracując ze szczepem *Trichoderma asperrelum*. Według badaczy, cysteina zawierająca grupę tiolową jest zaangażowana w redukcję jonów srebra.

#### 1.4. GLONY I ROŚLINY WYŻSZE

Ostatnie lata pokazały, że wykorzystanie glonów i roślin wyższych w biosyntezie nanocząstek metali nie jest czystą abstrakcją, a ciekawym i konkurencyjnym przykładem zastosowania układów przyjaznych środowisku. Metabolizm popularnego glonu *Chlorella vulgaris* został wykorzystany do otrzymywania nanocząstek srebra [81]. Autorzy przypuszczają, że główną rolę w procesie redukcji jonów srebra spełniają grupy hydroksylowe tyrozyny i/lub grupy karboksylowe kwasu asparaginowego lub glutaminowego. Kolejne przykłady to alga morska *Sargassum wightii* [82] i brązowy glon *Fucus vesiculosus* [83], które prowadzą skuteczną syntezę nanocząstek złota. Ich ekstrakty inkubowane z  $\text{AuCl}_4^-$  redukują jony i w ten sposób uzyskiwane są struktury charakteryzujące się wysoką stabilnością w wodzie. W przypadku tej ostatniej algi autorzy wykazują, że to grupy hydroksylowe obecne w polisacharydach odpowiedzialne są za proces redukcji.

Do syntezy nanocząstek metali stosuje się też ekstrakty z liści roślin wyższych lub suszone rośliny. Z punktu widzenia produkcji na skalę przemysłową, to ostatnie rozwiązanie jest praktyczniejsze, gdyż eliminuje problem przygotowywania ekstraktu (powtarzalności jego składu) oraz sezonowości wzrostu roślin. Do tej pory opisano kilkanaście roślin zdolnych do syntezy nanocząstek metali. Nanocząstki złota są gromadzone przez korzenie, łodygi i liście wierzby pustynnej (*Chilopsis linearis*) [84] i sesbana pospolitego (*Sesbania sesban*) [85]. W tym ostatnim przypadku redukcja jonów metalu prawdopodobnie zachodzi przy udziale metabolitów wtórnych obecnych w komórkach. Również biomasa owsa (*Avena sativa*) w kontakcie z  $\text{AuCl}_4^-$  powoduje tworzenie nanocząstek złota o różnych kształtach [86].

Szerzej poznaną metodą otrzymywania nanocząstek jest zastosowanie ekstraktów roślinnych. Ekstrakty z liści geranium (*Pelargonium graveolens*) [87] i lucerny siewnej (*Medicago sativa*) [88] redukują jony odpowiednio srebra lub złota do

postaci elementarnych nanocząstek. Również ekstrakty z ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum*) [89], czy palczatki pogiętej, częściej nazywanej trawą cytrynową (*Cymbopogon flexuosus*) [90], poddane działaniu jonów złota, redukują je do metalicznych nanostruktur. Niezwykłe właściwości posiadają liściennne ekstrakty z miodly indyjskiej (*Azadirachta indica*) [91], tamaryndowca indyjskiego (*Tamarindus indica*) [92], aloesu (*Aloe vera*) [93], cynamonowca kamforowego (*Cinnamomum camphora*) [94] i kolendry (*Coriandrum sativum*) [95]. W zależności od obecnego w podłożu jonu metalu, powstają stabilne nanocząstki złota, srebra, a w przypadku obecności obu jonów, ekstrakt z miodly indyjskiej syntezuje bimetaliczne układy Au/Ag. Z kolei ekstrakty z owoców amly czyli agrestu indyjskiego (*Emblica officinalis*) [96] wystawione na działanie jonów  $\text{AuCl}_4^-$  lub  $\text{Ag}^+$  również tworzą nanocząstki tych metali. Ekstrakt z kapusty sitowatej (*Brassica juncea*) oprócz biosyntezy nanocząstek srebra i złota, prowadzi redukcję jonów miedzi [97]. Interesującym rozwiązaniem syntezy nanocząstek złota jest zastosowanie roślinnych materiałów odpadowych, np. skórek banana.

W przypadku biosyntezy nanocząstek przez rośliny, mechanizm reakcji również pozostaje nie znany. Przypuszcza się, że u ich podstaw leżą procesy przelamujące toksyczny wpływ metali obecnych w środowisku. O zdolność do redukcji jonów metali, podejrzewa się obecne w komórkach roślin flawonoidy, terpenoidy oraz polisacharydy. Ponadto udział w syntezie znajdują fitochelatyny (PC) – peptydy, których prekursorem jest glutation (GSH). Są one elementem szeroko rozpowszechnionego mechanizmu detoksyfikacji rozwiniętego u roślin, alg oraz grzybów. Fitochelatyny mają zdolność wiązania jonów metali, takich jak: Cd, Pb, Zn i Cu. Tworząc stabilne kompleksy, efektywnie obniżają wewnątrzkomórkowe stężenie jonów metali. Rola fitochelatyn w biosyntezie nanocząstek sprowadza się prawdopodobnie do stabilizacji i zapobiegania ich agregacji, a tym samym jest ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za rozmiar i kształt powstających nanostruktur. Zwrócono również uwagę na rolę peptydów cyklicznych (kurkacykliny A i B), jako roślinnych czynników redukujących jony srebra i ochraniających powstałe nanocząstki. Ich znaczenie tłumaczone jest w dwojaki sposób. Zespół Bara [98] wysnuł przypuszczenie, że w początkowej fazie jony srebra zbliżają się do rdzeniowej struktury cyklicznego peptydu, gdzie po reakcji redukcji są stabilizowane przez grupy amidowe peptydu. Swoje podejrzenia tłumaczył faktem, że rozmiar uzyskanych nanocząstek był podobny do promienia „kieszni” wiążącej cykliczny peptyd. Nieco inne wytłumaczenie znaleźli Takano i Nakamura [99]. Według badaczy na początku ma miejsce stabilizacja jonów srebra. Podczas tautomeryzacji enolowo-keetonowej w wiązaniu peptydowym, grupa alkoholowa w serynie-3 w peptydzie cyklicznym A bądź treonina-5 w peptydzie cyklicznym B może działać jako reduktor dla jonów srebra. Opis ten nie uwzględniał roli grupy amidowej, o znaczeniu której pisał Bar [98]. Inny mechanizm syntezy nanocząstek z wykorzystaniem ekstraktów, zaproponowany został przez zespół Jha`ego [100]. Znając szlak metaboliczny mezofitów, badacze stwierdzili, że otrzymywanie nanocząstek srebra z ich udziałem może zajść na drodze tautomeryzacji chinonów. W przypadku kserofitów odnotowano znacze-

nie tautomeryzacji antrachinonów. Dodatkowo wykazano istotę dekarboksylacji oksydacyjnej kwasu jabłkowego w obecności enzymu zależnego od  $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ .

## 2. ZASTOSOWANIE BIOMIMETYCZNYCH NANOCZĄSTEK METALI

Dzięki niezwyklej własnościom fizycznym, chemicznym i biologicznym, nanocząstki metali wytwarzane przez żywe organizmy mogą znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach życia. Najintensywniejsze badania prowadzone są w kierunku użycia tych struktur w medycynie i naukach pokrewnych. Stosowanie nanocząstek metali w terapii przeciwnowotworowej obejmuje dwie strategie działania. Pierwsza to bezpośrednie oddziaływanie nanocząstek z komórkami nowotworowymi, skutkiem czego jest hamowanie rozwoju choroby. Takie właściwości opisano dla nanocząstek srebra, które są inhibitorami aktywności kaspazy-3 i procesu angiogenezy [101]. Druga strategia polega na wykorzystaniu nanocząstek jako nośnika dostarczającego lek bezpośrednio do komórek rakowych. Okazało się, że magnetosomy izolowane z magnetotaktycznych bakterii są dobrym kandydatem na nośnik dla różnorodnych struktur, poczynając od cząsteczek chemicznych (doksorubicyna) [102], poprzez białka (enzymy, przeciwciała), aż do łańcuchów DNA i RNA [103]. Ułatwiają one transport przez błonę komórkową, zapewniają doskonałą stabilność, zwiększają rozpuszczalność, a także pozwalają na uwolnienie związanej struktury w ściśle określonym miejscu. Ciekawym podejściem do problemu jest wykorzystanie komórek magnetotaktycznych bakterii jako nośnika plazmidowego DNA w terapii genowej [104]. Wykazano, że taki układ jest niezwykle skuteczny i nietoksyczny. Drugim ważnym problemem współczesnej medycyny jest terapia zakażeń i związana z nią systematycznie rosnąca liczba szczepów opornych na klasyczne antybiotyki. Wiadomo jest, że nanocząstki srebra wykazują silne przeciwdrobnoustrojowe właściwości, a oporność na srebro wśród bakterii, pojawia się znacznie rzadziej [105]. Sąd Duran i wsp. [106] zaproponowali użycie nanocząstek srebra syntezowanych przez *Fusarium oxysporum* do produkcji odzieży i powłok antibakteryjnych. Inną koncepcją przezwyciężania lekooporności bakterii jest łączne stosowanie nanocząstek srebra i klasycznych antybiotyków [107].

Nanocząstki metali mogą być również wykorzystane jako narzędzie służące do szybkiej, wydajnej i precyzyjnej detekcji czynników chemicznych i biologicznych. Jednym z ciekawych przykładów jest użycie sferycznych nanocząstek selenu, syntezowanych przez *Bacillus subtilis*, w detekcji  $\text{H}_2\text{O}_2$  [108]. Z kolei B. Zheng i współpracownicy opisali zastosowanie stopu Au-Ag w elektrochemicznych biosensorach wykrywających niezwykle niskie stężenia waniliny [109], a zespół kierowany przez D. Zheng'a pokazał znaczenie nanocząstek złota w czujnikach służących do pomiaru stężenia glukozy [110]. Wyniki badań przewodnictwa nanocząstek złota syntezowanych przez ekstrakt z liści tamaryndowca jednoznacznie wskazują na możliwość ich użycia do konstrukcji sensorów chemicznych [111]. Dzięki funkcjonalizacji nanocząstek magnetycznych przy pomocy przeciwciał otrzymano bardzo dokładne

znaczniki biologiczne używane do wykrywania ksenoestrogenów w środowisku naturalnym [112].

Rozważając możliwe zastosowania biomimetycznych nanocząstek metali, nie sposób pominąć ich roli w ochronie środowiska. Nanostruktury związków żelaza ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) i krzemu, izolowane z bakterii i okrzemek, mogą być z powodzeniem stosowane w bateriach słonecznych i elektrycznych [113]. Usuwanie uranu (w postaci nanocząstek) ze ścieków radioaktywnych przez komórki *Bacillus sphaericus* to kolejny przykład możliwości aplikacyjnych [114].

Właściwości paramagnetyczne  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  zostały wykorzystane w procesach separacji i oczyszczania DNA [115]. Do próbki dodawane są sfunkcjonalizowane za pomocą aminosilanu, nanocząstki magnetytu, które łączą się ze swoim „celem” i pod wpływem przyłożonego pola magnetycznego wydziela się „produkt” tego postępowania.

Warto podkreślić możliwość wykorzystania nanocząstek magnetytu immobilizowanych na powierzchni komórek *Pseudomonas delafieldii* w procesie odsiarczania dibenzotiofenu [116].

## PODSUMOWANIE

Organizmy żywe, od prostej bakterii po zorganizowane struktury *Eucaryota*, mogą być zastosowane jako aktywne składniki w syntezie i stabilizacji nanocząstek metali i kropek kwantowych o określonym kształcie i rozmiarze. Już od pierwszego zastosowania układów biologicznych wiadomo było, że nanocząstki syntezowane przez organizmy żywe mają specyficzną właściwość, która powoduje, że nie łączą się ze sobą, a w konsekwencji nie wykazują tendencji do sedymentacji. Obecnie tę cechę tłumaczy się powstającymi kompleksami nanocząstek metali z peptydami/białkami, wytwarzanymi przez żywe organizmy. Szczególną rolę w stabilizacji nanocząstek znajdują fitochelatyny. Uważa się, iż u podstaw syntezy nanocząstek metali leżą mechanizmy przełamujące toksyczny wpływ metali obecnych w środowisku. Innymi słowy, wytrącanie metali (nieważne, czy w formie nanocząstek), jest zasadniczym elementem chroniącym komórkę przed śmiercią. U wielu organizmów zdolność redukcji jonów metali opiera się na wykorzystaniu aparatu enzymatycznego. Do tej pory w biosyntezie nanocząstek metali opisano udział co najmniej trzech grup enzymów. Są to azotanowe i żelazowe reduktazy, zależne od  $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ , a także hydrogenazy i oksydazy. Rola enzymów sprowadza się do uzyskiwania elektronów i dalszego ich przenoszenia, co skutkuje późniejszą redukcją jonów do elementarnej postaci metalu. U roślin wyższych o zdolność do redukcji jonów metali, podejrzewa się obecne w dużych ilościach flawonoidy, terpenoidy, polisacharydy i aminokwasy.

Mam nadzieję, że poznanie mechanizmów bioredukcji jonów metali w połączeniu z narzędziami oferowanymi przez inżynierię genetyczną, w niedługim czasie, znajdzie praktyczne zastosowanie w przemysłowym otrzymywaniu dobrej jakości nanocząstek metali i kropek kwantowych, i poszerzy ich możliwości aplikacyjne.

## PODZIĘKOWANIE

Prezentowana praca powstała w ramach projektu badawczego numer N507 515 038. Serdecznie dziękuję za współpracę Michałowi Witkowskiemu, który pod moim kierunkiem wykonywał pracę magisterską.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Y.A. Krutyakv, A.A. Kudrinskiy, A.Y. Olenin, G.V. Lisichkin, *Rus. Chem. Rev.*, 2008, **77**, 233.
- [2] E. Boisselier, D. Astruc, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 1759.
- [3] J. Zhou, J. Ralston, R. Sedev, D.A. Beattie, *J. Coll. Int. Sci.*, 2009, **331**, 251.
- [4] S. Guo, E. Wang, *Nano Today*, 2011, **6**, 240.
- [5] T. Klaus, R. Joerger, E. Olsson, C.G. Granqvist, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**, 13611.
- [6] R. Joerger, T. Klaus, C.G. Granqvist, *Adv. Mater.*, 2000, **12**, 407.
- [7] B. Nair, T. Pradeep, *Cryst. Growth Des.*, 2002, **2**, 293.
- [8] A.K. Jha, K. Prasad, *Biotechnol. J.*, 2010, **5**, 285.
- [9] K. Kalimuthu, R.S. Babu, D. Venkataraman, M. Bilal, S. Gurunathan, *Coll. Surf. B*, 2008, **65**, 150.
- [10] A.R. Shahverdi, S. Minaeian, H.R. Shahverdi, H. Jamalifar, A.A. Nohi, *Proc. Biochem.*, 2007, **42**, 919.
- [11] N. Mokhari, S. Daneshpajouh, S. Seyedbagheri, R. Atashdehghan, K. Abdi, S. Sarkar, S. Minaian, H.R. Shahverdi, A.R. Shahverdi, *Mat. Res. Bull.*, 2009, **6**, 1415.
- [12] S. Gurunathan, K. Kalishwaralal, R. Vaidyanathan, V. Deepak, S.R.K. Pandian, J. Muniyandi, N. Hariharan, S.H. Eom, *Coll. Surf. B*, 2009, **74**, 328.
- [13] T.J. Beveridge, R.G.E. Murray, *J. Bacteriol.*, 1980, **141**, 876.
- [14] A. Nakajima, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, **19**, 369.
- [15] H. Shiyong, Z. Guo, Y. Zhang, S. Zhang, J. Wang, N. Gu, *Mat. Lett.*, 2007, **61**, 3984.
- [16] H. Shiyong, Y. Zhang, Z. Guo, N. Gu, *Biotechnol. Prog.*, 2008, **24**, 476.
- [17] A. Ahmad, P. Mukherjee, D. Mandal, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12108.
- [18] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Coll. Surf. B*, 2003, **28**, 313.
- [19] K. Deplanche, L.E. Macaskie, *Biotechnol. Bioeng.*, 2008, **99**, 1055.
- [20] M.I. Husseiny, M.A. El-Aziz, Y. Badr, M.A. Mahmoud, *Spectrochim. Acta Part A*, 2007, **67**, 1003.
- [21] Y. Konishi, T. Tsukiyama, K. Ohno, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, *Hydrometallurgy*, 2006, **81**, 24.
- [22] Y. Konishi, K. Ohno, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, Y. Takahashi, T. Uruga, *J. Biotechnol.*, 2007, **128**, 648.
- [23] Y. Konishi, T. Tsukiyama, T. Tachimi, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, *Electrochim. Acta*, 2007, **53**, 186.
- [24] A. Ahmad, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Langmuir*, 2003, **19**, 3550.
- [25] C. Lang, D. Schüler, D. Faivre, *Macromol. Biosci.*, 2007, **7**, 144.
- [26] I.W. Moon, Y. Roh, R.J. Lauf, H.V. Vali, L.W. Yeary, T. Phelps, *J. Microbiol. Methods.*, 2007, **70**, 150.
- [27] D.P. Cunningham, L.L. Lundie, L. Leon Jr, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**, 7.

- [28] J.D. Holmes, D.J. Richardson, S. Saed, R. Evans-Gowing, D.A. Russell, J.R. Sodeau, *Microbiology*, 1997, **143**, 2521.
- [29] R.Y. Sweeney, C. Mao, X. Gao, J.L. Burt, A.M. Belcher, G. Georgiou, B.L. Iverson, *Chem. Biol.*, 2004, **11**, 1553.
- [30] H.J. Bai, Z.M. Zhang, Y. Guo, G.E. Yang, *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, 2009, **70**, 142.
- [31] M. Labrenz, G.K. Druschel, T. Thomsen-Ebert, B. Gilbert, S.A. Welch, K.M. Kemner, G.A. Logan, R.E. Summons, G.D. Stasio, P.L. Bond, B. Lai, S.D. Kelly, J.F. Banfield, *Science*, 2000, **290**, 1744.
- [32] P. Yong, N.A. Rowson, J.P.G. Farr, I.R. Harris, L.E. Macaskie *Biotechnol. Bioeng.*, 2002, **20**, 369.
- [33] P. Yong, N.A. Rowson, J.P.G. Farr, I.R. Harris, L.E. Macaskie, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2002, **77**, 593.
- [34] V.S. Baxter-Plant, I.P. Mikhreeenko, L.E. Macaskie, *Biodegradation*, 2003, **14**, 83.
- [35] W. de Windt, P. Aelterman, W. Verstraete, *Environ. Microbiol.*, 2005, **7**, 314.
- [36] W. de Windt, N. Boon, J. van den Bulcke, L. Rubberecht, F. Prata, J. Mast, T. Hennebel, W. Verstraete, *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006, **90**, 377.
- [37] K. Pollmann, M. Merroun, J. Raff, C. Hennig, S. Selenska-Pobell, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2006, **43**, 39.
- [38] M.F. Lengke, M.E. Fleet, G. Southam, *Langmuir*, 2006, **22**, 2780.
- [39] M.F. Lengke, B. Ravel, M.E. Fleet, G. Wanger, R.A. Gordon, G. Southam, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, **40**, 6304.
- [40] M.F. Lengke, M.E. Fleet, G. Southam, *Langmuir*, 2006, **22**, 7318.
- [41] T.L. Riddin, Y. Govender, M. Gericke, C.G. Whiteley, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 2009, **45**, 267.
- [42] M. Kowshik, N. Dashmukh, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni, K.M. Paknikar, *Biotechnol. Bioeng.*, 2002, **78**, 583.
- [43] R.N. Reese, D.R. Winge, *J. Biol. Chem.*, 1998, **263**, 12832.
- [44] M. Kowshik, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni, K.M. Pacnikar, *Adv. Mater.*, 2002, **14**, 815.
- [45] M. Kowshik, S. Ashtaputre, S. Kharrazi, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni, K.M. Paknikar, *Nanotechnology*, 2003, **14**, 95.
- [46] M. Agnihotri, S. Joshi, A.R. Kumar, S. Zinjarde, S. Kulkarni, *Mat. Lett.*, 2009, **63**, 1231.
- [47] P.S. Pimpricar, S.S. Joshi, A.R. Kumar, S.S. Zinjarde, S.K. Kulkarni *Coll. Surf. B*, 2009, **74**, 309.
- [48] L. Pighi, T. Pumbel, F. Schinner, *Biotechnol. Lett.*, 1989, **11**, 275.
- [49] J.C. Chen, Z.H. Lin, X.X. Ma, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **37**, 105.
- [50] S.S. Birla, V.V. Tiwari, A.K. Gade, A.P. Ingle, A.P. Yadav, M.K. Rai, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2009, **48**, 173.
- [51] P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, A. Ahmad, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *ChemBioChem*, 2002, **5**, 461.
- [52] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Coll. Surf. B*, 2003, **28**, 313.
- [53] S. Senapati, A. Ahmad, M.I. Khan, M. Sastry, R. Kumar, *Small*, 2005, **1**, 517.
- [54] V. Bansal, D. Rautaray, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2004, **14**, 3303.
- [55] V. Bansal, D. Rautaray, A. Bharde, K. Ahire, A. Sanyal, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2005, **15**, 2583.
- [56] A. Ahmad, P. Mukherjee, D. Mandal, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12108.
- [57] A. Bharde, D. Rautaray, V. Bansal, A. Ahmad, I. Sarkar, S.M. Yusuf, M. Sanyal, M. Sastry, *Small*, 2006, **2**, 135.
- [58] S.S. Shankar, A. Ahmad, S. Parischa, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2003, **13**, 1822.
- [59] N. Vigneshwaran, N.M. Ashtaputre, P.V. Varadarajan, R.P. Nachane, K.M. Paralikar, R.H. Balasubramanya, *Mat. Lett.*, 2007, **61**, 1413.

- [60] K.C. Bhainsa KC, S.F. D'Souza, *Coll. Surf. B*, 2006, **47**, 160.
- [61] Z. Sadowski, I. Maliszewska, B. Grochowalska, I. Polowczyk, T. Koźlecki, *Mat. Sci. Pol.*, 2008, **26**, 419.
- [62] V. Bansal, D. Rautaray, A. Bharde, K. Ahire, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2005, **15**, 2583.
- [63] A. Ahmad, T. Jagadale, V. Dhas, S. Khan, S. Patil, R. Paricha, V. Ravi, S. Ogale, *Adv. Mater.*, 2007, **19**, 3295.
- [64] N. Vigneshwaran, A.A. Kathe, P.V. Varadajan, R.P. Nachane, R.H. Balasubramanya, *Coll. Surf. B*, 2006, **53**, 55.
- [65] A.M. Fayaz, K. Balaji, P.T. Kalaichelvan, R. Venkatesan, *Coll. Surf. B*, 2009, **74**, 123.
- [66] I. Maliszewska, Ł. Aniszkiewicz, Z. Sadowski, *Acta Phys. Pol. A*, 2009, **116**, 160.
- [67] Z. Sadowski, I. Maliszewska, I. Polowczyk, T. Koźlecki, B. Grochowalska, *Pol. J. Chem.*, 2008, **82**, 377.
- [68] Z. Sadowski, I.H. Maliszewska, B. Grochowalska, I. Polowczyk, T. Koźlecki, *Mat. Sci. Pol.* 2009, **26**, 419.
- [69] K. Kathiresan, S. Manivannan, M.A. Nabeel, B. Dhivya, *Coll. Surf. B*, 2009, **71**, 133.
- [70] I. Maliszewska, Z. Sadowski, *J. Phys. Confer. Series*, 2009, doi: 10.1088/1742-6596/146/1/0112024
- [71] I. Maliszewska, M. Puzio, *Acta Phys. Pol. A*, 2009, **116**, 160.
- [72] I. Maliszewska, K. Szewczyk, K. Waszak, *J. Phys. Confer Series*, 2009, doi: 10.1088/1742-6596/146/1/012025
- [73] S.K. Das, A.R. Das, A.K. Guha, *Langmuir*, 2009, **25**, 8192.
- [74] P. Mukherjee, A. Ahmad, D. Mandal, S. Senapati, S.R. Sainkar, M.I. Khan, R. Parischa, P.V. Ajayakumar, M. Alam, R. Kumar, M. Sastry, *Nano Lett.*, 2001, **1**, 515.
- [75] N. Duran, P.D. Marcato, O.L. Alves, G.H.I. De Souza, E. Esposito, *J. Nanobiotechnol.*, 2005, **3**, doi: 10.1186/1477-3155-3-8.
- [76] S.A. Kumar, M.K. Abyaneh, S.W. Gosavi, S.K. Kulkarni, R. Paricha, A. Ahmad, M.I. Khan, *Bio-technol. Lett.*, 2007, **29**, 439.
- [77] J. Xie, J.Y. Lee, D.I.C. Wang, Y.P. Ting, *J. Phys. Chem. C*, 2007, **111**, 16858.
- [78] A. Rangnekar, T.K. Sarma, A.K. Singh, J. Deka, A. Ramesh, A. Chattopadhyay, *Langmuir*, 2007, **23**, 5700.
- [79] K. Kalishwaralal, S. Gopalram, R. Vaidyanathan, V. Deepak, S.R.K. Pandian, S. Gurunathan, *Coll. Surf. B*, 2010, **77**, 174.
- [80] P. Mukherjee, M. Roy, B.P. Mandal, G.K. Dey, P.K. Mukherjee, J. Ghatak, A.K. Tyagi, S.P. Kale, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 1.
- [81] J. Xie, J.Y. Lee, D.I.C. Wang, Y.P. Ting, *ACS Nano*, 2007, **1**, 429.
- [82] G. Singaravelu, J. Arockiamary, K. Ganesh, K. Govindaraju, *Coll. Surf. B*, 2007, **57**, 97.
- [83] Y.N. Mata, E. Torres, M.L. Blázquez, A. Ballester, F. Gonzalez, J.A. Munoz, *J. Hazar. Mat.*, 2009, **166**, 612.
- [84] E. Rodriguez, J.G. Parsons, J.R. Peralta-Videa, G. Cruz-Jimenez, J. Romero-Gonzalez, B.E. Sanchez-Salcido, G.B. Saupe, M. Duarte-Gardea, J.L. Gardea-Torresdey, *Int. J. Phytoremed.*, 2007, **9**, 133.
- [85] N.C. Sharma, S.V. Sahi, S. Nath, J.G. Persons, J.L. Gardea-Torresdey, T. Pal, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 5137.
- [86] V. Armendariz, I. Herrera, J.R. Peralta-Videa, M. Jose-Yacaman, H. Troiani H.P. Santiago, J.L. Gardea-Torresdey, *J. Nanoparticles Res.*, 2004, **6**, 377.
- [87] S.S. Shankar, A. Ahmad, M. Sastry, *Biotechnol. Prog.*, 2003, **19**, 1627.
- [88] J.L. Gardea-Torresdey, K.J. Tiemann, G. Gamez, K. Dokken, S. Tehuacanero, M. José-Yacamán, *J. Nano. Res.*, 1999, **1**, 397.

- [89] K. Ghule, A.V. Ghule, J.Y. Liu, Y.C. Ling, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2006, **6**, 3746.
- [90] S.S. Shankar, A. Rai, A. Ahmad, M. Sastry, *Chem. Mater.*, 2005, **17**, 566.
- [91] S.S. Shankar, A. Rai, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Colloid. Interf. Sci.*, 2004, **275**, 496.
- [92] B. Ankamwar, M. Chaudhary, M. Sastry, *Synth. React. Inorg. Metal. Org. Nano. Metal Chem.*, 2005, **35**, 19.
- [93] S.P. Chandran, M. Chaudhary, R. Pasricha, A. Ahmad, M. Sastry, *Biotechnol. Prog.* 2006, **22**, 577.
- [94] J. Huang, Q. Li, D. Sun, Y. Lu, Y. Su, X. Yang, *Nanotechnology*, 2007, **18**: 105104.
- [95] K.B. Narayanan, N. Sakthivel, *Mat. Lett.*, 2008, **62**, 4588.
- [96] B. Ankamwar, C. Damle, A. Absar, S. Mural, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2005, **10**, 1665.
- [97] R.G. Haverkamp, A.T. Marshall, D. van Agterveld, *J. Nanopart. Res.*, 2007, **9**, 697.
- [98] H. Bar, D.K. Bhui, Sahoo G.P., P. Sarkar, S.P. De, A. Misra, *Coll. Surf. A Physicochem Eng. Asp.*, 2009, **339**, 134.
- [99] Y. Takano, H. Nakamura, *Chem. Phys. Lett.*, 2006, **430**, 149.
- [100] A.K. Jha, K. Prasad, K. Prasad, A.R. Kulkarni, *Coll. Surf. B Biointerfaces*, 2009, **73**, 219.
- [101] K. Kalishwaralal, E. Banumathi, S.R.K. Pandian, V. Deepak, J. Muniyandi, S. H. Eom, S. Gurnathan, *Coll. Surf. B Biointerfaces*, 2009, **73**, 51.
- [102] J. B. Sun, J. H. Duan, S. L. Dai, J. Ren, Y. D. Zhang, J. S. Tian, Y. Li, *Cancer Lett.*, 2007, **258**, 109.
- [103] T. Matsunaga, S. Kamiya, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1987, **26**, 328.
- [104] J. Xie, K. Chen, X. Chen, *Nano Res.*, 2009, **2**, 261.
- [105] S. Silver, L.T. Phung, G. Silver, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, **33**, 627.
- [106] N. Durán, P.D. Marcato, G.I.H. De Souza, O.L. Alves, E. Esposito, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 2007, **3**, 203.
- [107] A.M. Fayaz, K. Balaji, M. Girilal, R. Yadav, P.T. Kalaichelvan, R. Venketesan, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, 2010, **6**, e103.
- [108] T. Wang, L. Yang, B. Zhang, J. Liu, *Coll. Surf. B Biointerfaces*, 2010, **80**, 94.
- [109] D. Zheng, C. Hu, T. Gan, X. Dang, S. Hu, *Sensors and Actuators B*, 2010, **148**, 247.
- [110] B. Zheng, L. Qian, H. Yuan, D. Xiao, X. Yang, M.C. Paa, M.M.F. Choi, *Talanta*, 2010, **82**, 177.
- [111] B. Ankamwar, M. Chaudhary, S. Mural, *Synth. React. Inorg. Metal-Org. Nanometal. Chem.*, 2005, **35**, 19.
- [112] T. Tanaka, H. Takeda, F. Ueki, K. Obata, H. Tajima, H. Takeyama, Y. Goda, S. Fujimoto, T. Matsunaga, *J. Biotechnol.*, 2004, **108**, 153.
- [113] R. Joerger, T. Klaus, E. Olsson, C.G. Granqvist, *Proc. Soc. Photo-Opt. Instrum. Eng.*, 1999, **3789**, 2.
- [114] M.L. Merroun, J. Raff, A. Rossberg, Ch. Hennig, T. Reich, S. Selenska-Pobell, *Appl. Environm. Microb.*, 2005, **71**, 5532.
- [115] M.E. Park, J.H. Chang, *Mat. Sci. Eng. C.*, 2007, **27**, 1232.
- [116] G. Shan, J. Xing, H. Zhang, H. Liu, *Appl. Environm. Microb.*, 2005, **71**, 4497.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 sierpnia 2012



# IZOKSAZOLIDYNOWE ANALOGI NUKLEOZYDÓW

## ISOXAZOLIDINE ANALOGUES OF NUCLEOSIDES

**Kamil Kokosza\*, Dorota G. Piotrowska**

*Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny,  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi,  
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź  
\*e-mail: k.kokosza@wp.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Izoksazolidynowe nukleozydy
2. Izoksazolidynowe C-nukleozydy
3. Izoksazolidynowe homonukleozydy
4. Izoksazolidynowe psiko-nukleozydy
5. Fosfonianowe pochodne nukleozydów izoksazolidynowych

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Mgr farm. Kamil Kokosza** ukończył studia na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w 2010 r. Od 2010 r. jest doktorantem na tymże wydziale w Zakładzie Chemii Bioorganicznej. W swojej pracy naukowej zajmuje się syntezą i badaniem aktywności biologicznej izoksazolidynowych analogów nukleotydów.

**Dr hab. Dorota G. Piotrowska** studiowała chemię (1991–1996) na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej, w 2002 roku uzyskała stopień doktora nauk farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a w roku 2011 – stopień doktora habilitowanego nauk chemicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Jej zainteresowania naukowe dotyczą, m.in. syntezy nitronów i ich zastosowania w reakcjach dipolarnej cykloaddycji, syntezy i stereochemii nowych pochodnych heterocyklicznych jako fosfonianowych mimetyków nukleozydów i nukleotydów o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych oraz zastosowania spektroskopii NMR w analizie konformacyjnej i konformacyjnej.

---

**ABSTRACT**

Compounds having isoxazolidine moiety are of special interest since they show a broad spectrum of biological activity, including anticancer [1–5], antiviral [6], antibacterial [7–9] and antifungal activities [9–12]. Extensive studies on isoxazolidine moiety containing compounds resulted in discovery of several potentially antiviral and anticancer drugs (e.g. pyridemine-A **1** [2, 3], as well as isoxazolidines substituted with thymine and 5-fluorouracil **52a** (AdT) [38–40] and **59** [(–)-AdFU] [41–43], respectively).

In this review the most spectacular examples of the synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides are discussed and their biological activity is emphasized.

Keywords: 1,3-dipolar cycloaddition, nitrones, isoxazolidines, nucleoside analogues, nucleobases, C-nucleosides, homonucleosides, nucleosides, phosphonylated nucleosides, psico-nucleosides, antiviral activity, anticancer activity.

Słowa kluczowe: 1,3-dipolarna cykloaddycja, nitrony, izoksazolidyny, analogi nukleozydów, nukleozasady, C-nukleozydy, homonukleozydy, nukleozydy, fosfonylowane nukleozydy, psiko-nukleozydy, aktywność przeciwwirusowa, aktywność przeciwnowotworowa.

---

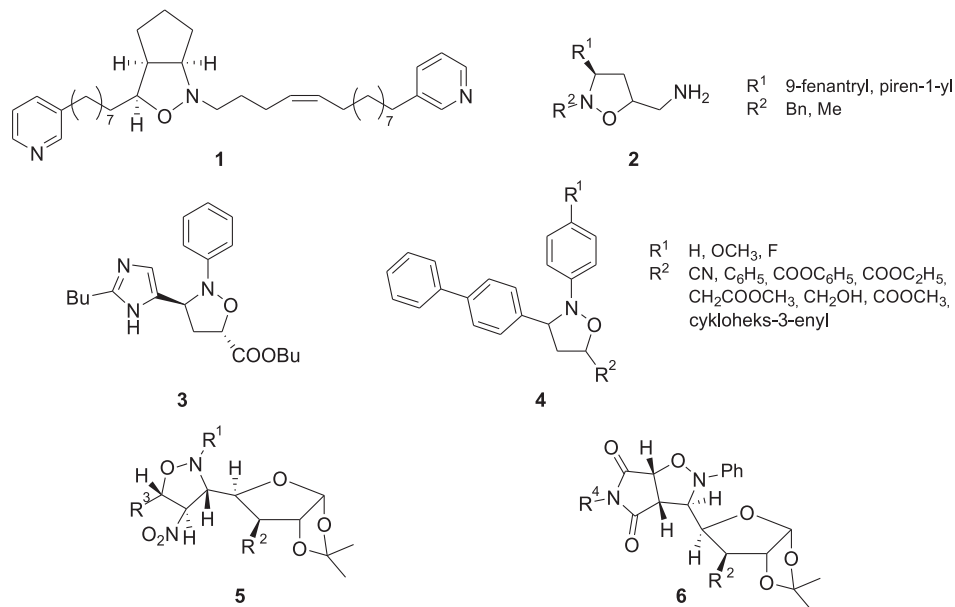
---

**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

AIDS	- zespół nabytego niedoboru odporności
AMV	- wirus białaczki ptasiej
BSA	- <i>N,O</i> -bis(trimetylosililo)acetamid
DEAD	- ester etylowy kwasu azodikarboksylowego
DIBAL	- wodorek diizobutyloglinowy
HIV	- ludzki wirus niedoboru odporności
HTLV-1	- ludzki wirus białaczek z limfocytów T
HSV-1	- wirus opryszczki pospolitej typ 1
Red-Al	- bis(2-metoksyetoksy)dihydroglinian sodu
TBAF	- fluorek tetrabutylamoniowy
TBDMS, TBS	- <i>tert</i> -butylodimetylosilil
TBDPS	- <i>tert</i> -butylodifenylosilil
TFA	- kwas trifluorooctowy
TMSOTf	- trifluorometanosulfonian trimetylosililowy

## WSTĘP

Układy heterocykliczne występują w wielu naturalnych związkach, takich jak np.: kwasy nukleinowe, alkaloidy i antybiotyki oraz w większości leków. W poszukiwaniach nowych, aktywnych biologicznie związków lub próbując poprawić parametry farmakokinetyczne i farmakodynamiczne już stosowanych leków często wykorzystuje się różne modyfikacje strukturalne cząsteczek wprowadzając fragmenty heterocykliczne. Jednym z nich, który w ostatnich latach zyskał na uwadze, jest pierścień izoksazolidynowy.



Rysunek 1. Przykładowe pochodne izoksazolidyny wykazujące aktywność biologiczną  
Figure 1. Examples of biologically active isoxazolidine derivatives

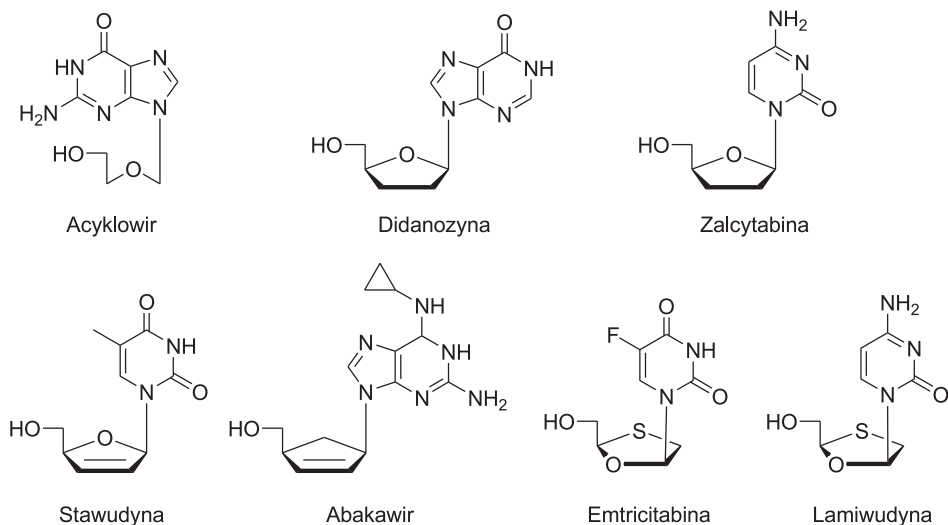
Okazało się, że wiele pochodnych izoksazolidyny wykazuje aktywność przeciwnowotworową [1–5], przeciwwirusową [6], przeciwbakteryjną [7–9], przeciwgrzybiczą [9–12] czy hamującą aktywność fosfolipazy A<sub>2</sub> [13]. Wśród nich znajduje się występujący w naturze alkaloid pyrinodemin A **1**. Został on wyizolowany z *Amphimedon* sp. i cechuje go duża cytotoksyczność *in vitro* w stosunku do linii komórkowych mysiej białaczki L1210 oraz raka płaskonabłonkowego [2, 3]. Wykazano, że pochodne izoksazolidyny **2** zawierające układ skondensowanych pierścieni aromatycznych wykazują wysoką aktywność w stosunku do różnych typów komórek nowotworowych, w tym najwyższą w odniesieniu do komórek raka płuc [4, 5]. Przeprowadzone badania potwierdziły aktywność przeciwbakteryjną oraz przeciwgrzybiczą 2-(fenylo)-3-(2-butyl-4-chloro-1*H*-imidazol-5-yl)-5-butoksykarbonyloizoksazolidyny **3**, porównywalną z nystatyną użytą jako związek referencyjny [9].

Analogi strukturalne związku **3**, pochodne izoksazolidyny o wzorze **4**, hamowały rozwój takich gatunków grzybów jak *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* i *Botrydiodia theobromae* [12]. Właściwości przeciwbakteryjne wykazują także izoksazolidyny zawierające w swej budowie fragment D-ksylozy o ogólnych wzorach **5** i **6** (Rys. 1) [8].

Analogi podstawowych fragmentów budulcowych DNA i RNA znalazły zastosowanie w leczeniu różnego typu nowotworów, jak i zwalczaniu infekcji wirusowych. W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie analogami nukleozydów jako lekami przeciwwirusowymi, a w szczególności przeciwko wirusowi HIV i leczeniu AIDS [14]. Pomimo szerokiej gamy leków stosowanych klinicznie przeciwko HIV, m.in. takich jak inhibitory fuzji, inhibitory odwrotnej transkryptazy, inhibitory proteazy czy inhibitory integrazy, wciąż istnieje duże zapotrzebowanie na nowe leki [15]. Głównymi przyczynami są duża zachorowalność, śmiertelność oraz problemy w farmakoterapii. Zmniejszenie umieralności i występowania infekcji oportunistycznych zostało osiągnięte przez wprowadzenie terapii wielolekowej HAART (ang. *highly active antiretroviral therapy*), która polega na stosowaniu jednocześnie kombinacji przynajmniej trzech leków działających na różnych etapach cyklu rozwojowego wirusa [16–18]. Podstawową grupę stanowią nukleozydowe/nukleotydydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy, które znajdują się w każdej kombinacji leków.

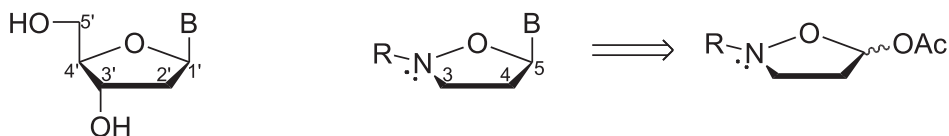
Modyfikowane nukleozydy i nukleotydy są obecnie jedną z najważniejszych grup leków przeciwwirusowych. Mechanizm ich działania polega na hamowaniu wirusowej polimerazy DNA, a w przypadku retrowirusów na hamowaniu odwrotnej transkryptazy. Koniecznym warunkiem, który musi zostać spełniony, aby stały się aktywne, jest wewnątrzkomórkowa fosforylacja do di- i trifosforanów. Następnie konkurują z naturalnymi nukleotydami o centrum aktywne enzymu, a po wbudowaniu ich do nici DNA przedwcześnie prowadzą do przerwania wydłużania powstającego łańcucha z powodu braku grupy HO–C-3' [19].

Modyfikacje struktur naturalnych nukleozydów dotyczą zamiany pierścienia furanozowego na układ acykliczny, alicykliczny bądź heterocykliczny, modyfikacji nukleozasady lub obu elementów jednocześnie [20, 21]. Ważnym fragmentem jest również grupa hydroksymetylowa, która jest niezbędna, aby związki zostały przekształcone do trifosforanów. Szczegółowe badania nad modyfikowanymi nukleozydami doprowadziły do otrzymania wielu związków przeciwwirusowych stosowanych w lecznictwie (Rys. 2) [15, 20].



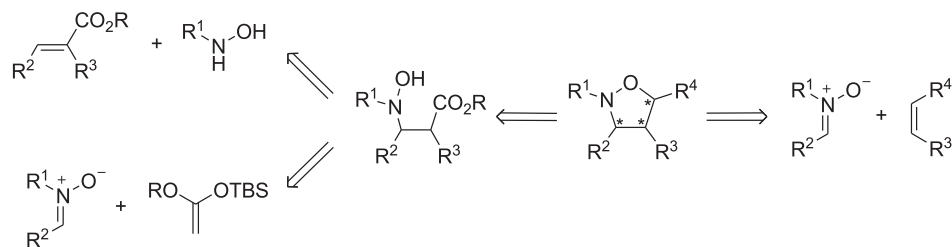
Rysunek 2. Przykłady analogów nukleozydów stosowanych w leczeniu  
 Figure 2. Examples of nucleoside analogues used in therapy

W 1992 roku Tronchet przedstawił pomysł zastąpienia pierścienia furanozowego przez izoksazolidynowy [22]. Wtedy w miejsce furanozowego atomu C-4', dla którego praktycznie nie jest możliwa epimeryzacja, zostanie wprowadzony atom azotu z łatwością ulegający inwersji konfiguracji. Ponadto, pochodne izoksazolidyn zawierające HO-C-5 wykazują reaktywność podobną do cukrów, m.in. ulegają mutarotacji [23], a pochodne z grupą AcO-C-5 można łatwo przekształcić w analogi *N*-glikozydów w reakcji Vorbrüggena (Rys. 3).



Rysunek 3. Porównanie struktur naturalnych nukleozydów i izoksazolidynowych analogów  
 Figure 3. A comparison of structures of natural nucleosides and isoxazolidine analogues

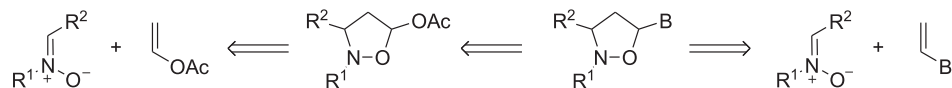
Znane są trzy drogi syntezy izoksazolidyn (Schemat 1) polegające na addycji Michaela hydroksyloamin do  $\alpha,\beta$ -nienasyconych estrów [24], 1,3-dipolarnej cykloaddycji oraz addycji nukleofilowej nitronów do acetalu *O*-(*tert*-butyloдимetylosililo) ketenu [25]. Obecnie największe zastosowanie znajduje reakcja cykloaddycji, w której bierze udział cząsteczka dipola (odpowiednio podstawiony nitron) oraz cząsteczka dipolarofila (odpowiedni alken). Powstały cykloaddukt może zawierać do trzech nowych centrów chiralności [20, 26, 27].



Schemat 1. Retrosynteza izoksazolidyn

Scheme 1. Retrosynthesis of isoxazolidines

Izoksazolidynowe analogi nukleozydów najczęściej otrzymuje się wykorzystując cykloaddycję nitronu do alkenu zawierającego nukleozasadę albo w reakcji Vorbrüggena z silylowanej nukleozasady i uprzednio otrzymanej 5-acetoksyizoksazolidyny (Schemat 2) [28].



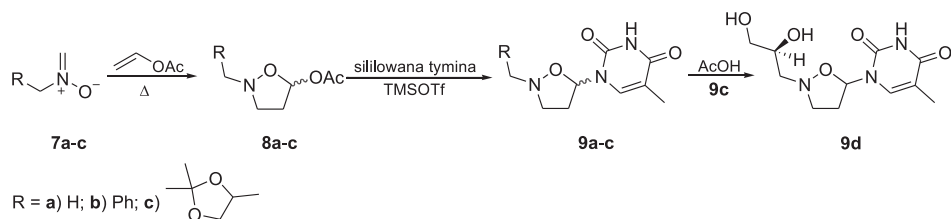
Schemat 2. Retrosynteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów

Scheme 2. Retrosynthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides

W niniejszej pracy przedstawione zostaną najistotniejsze przykłady syntez izoksazolidynowych *N*-, *C*-, homo-, psiko-nukleozydów oraz nukleozydów zawierających ugrupowanie fosfonianowe, z uwzględnieniem ich aktywności biologicznej.

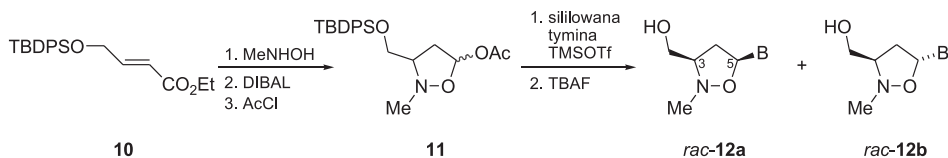
## 1. IZOKSAZOLIDYNOWE NUKLEOZYDY

W pierwszej syntezie izoksazolidynowych analogów nukleozydów Tronchet wykorzystał cykloaddycję nitronów **7a–c** do octanu winylu, a otrzymane 5-acetoksyizoksazolidyny **8a–c** przekształcił w reakcji Vorbrüggena w analogi tymidyny **9a–c** (Schemat 3). Po usunięciu ugrupowania izopropylidenowego z **9c** powstała mieszanina diastereoizomerycznych izoksazolidyn **9d**. Otrzymane analogi nukleozydów **9a–c** hamowały rozwój bakterii *B. subtilis* [22].

Schemat 3. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **8** i **9**Scheme 3. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **8** and **9**



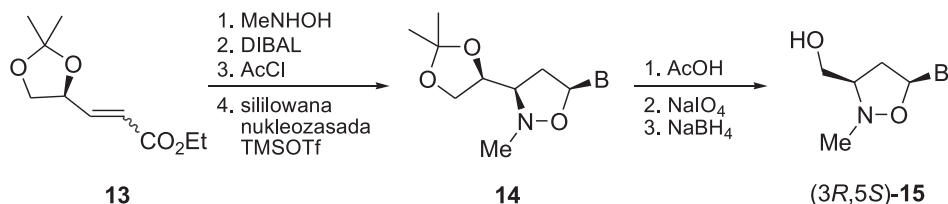
W wyniku addycji *N*-metylohydroksyloaminy do estru **10** (Schemat 4) utworzył się addukt, z którego w wyniku redukcji DIBAL-H i acetylowania powstała 5-acetoksyizoksazolidyna **11**. Związek ten w wyniku reakcji Vorbrüggena z siliłowaną tyminą, a następnie usunięcia ochronnej grupy siliłowej przekształcono w odpowiednie nukleozydy *rac*-**12a** i *rac*-**12b**, które nie wykazywały znaczącej aktywności względem wirusa HIV-1 [24].



Schemat 4. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **12**

Scheme 4. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **12**

Tą samą strategię zastosowano w celu otrzymania enancjomerycznie czystych analogów nukleozydów (*3R,5S*)-**15** i (*3S,5R*)-**18** wykorzystując akceptory Michaela **13** (Schemat 5) i **16** (Schemat 6). W pierwszym przypadku reakcja z siliłowanymi nukleozasadami doprowadziła do powstania izomerów *cis* **14** jako głównych produktów [29]. Dla związku **14** (B = uracyl) ustalono stosunek izomerów *cis:trans* jako 47:1. Przekształcenie produktu pośredniego (*3R,5S*)-**14** w analogi (*3R,5S*)-**15** zostało zrealizowane w serii trzech standardowych reakcji.

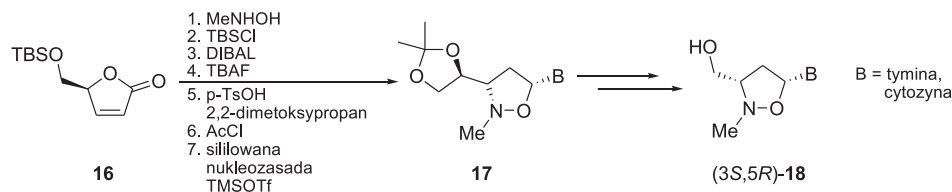


B = tymina, uracyl, cytozyna, adenina

Schemat 5. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **15**

Scheme 5. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **15**

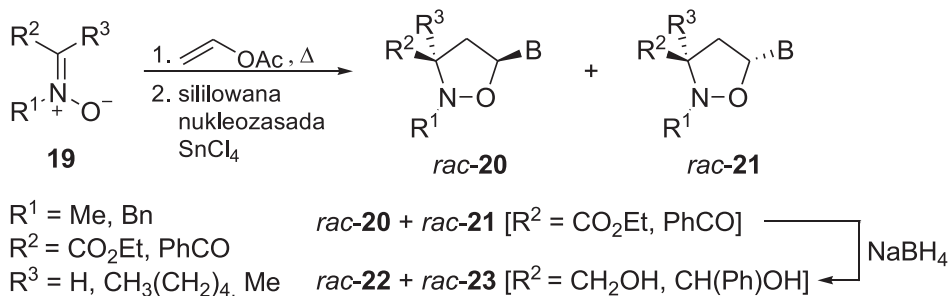
W drugim przypadku reakcja z siliłowanymi nukleozasadami doprowadziła do powstania izomerów *cis* **17** również jako głównych produktów (Schemat 6) [30]. W przypadku związku **17** (B = tymina) powstawał wyłącznie izomer *cis*. Przekształcenie produktu pośredniego (*3S,5R*)-**17** w analogi (*3S,5R*)-**18** zostało zrealizowane, podobnie jak poprzednio, w serii trzech standardowych reakcji.



Schemat 6. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów 18

Scheme 6. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides 18

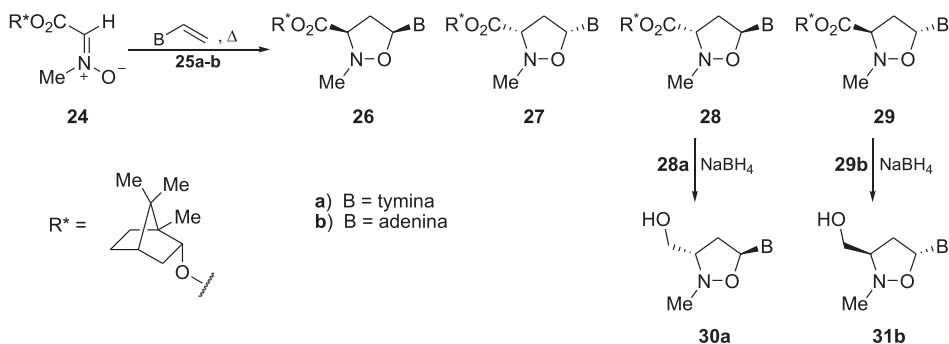
Z nitronu **19** i octanu winylu, a następnie silylowanych nukleozasad otrzymano racemiczne izoksazolidyny **20** i **21**, które dla B = tymina, 5-fluorouracyl utworzyły się w proporcjach 2:3 (Schemat 7) [31, 32]. W wyniku redukcji izoksazolidyn **20** i **21** powstały analogi nukleozydów **22** i **23**. Ponadto mieszaninę racemiczną związku **22** ( $R^1 = \text{Me}$ ;  $R^2 = \text{CH}_2\text{OH}$ ; B = tymina albo *N*-acetylocytozyna) rozdzielono na enancjomery stosując lipazę [33].



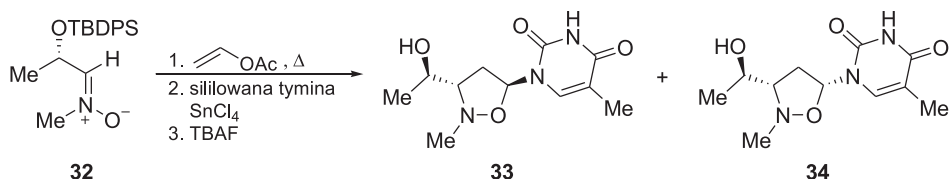
Schemat 7. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów 22 i 23

Scheme 7. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides 22 and 23

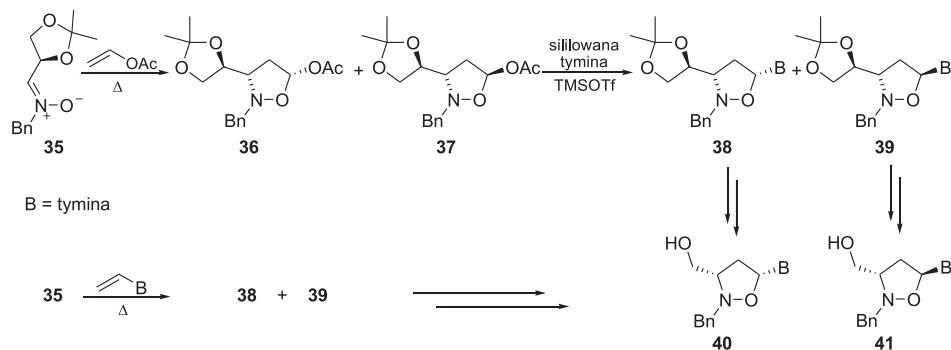
Cykloaddycja nitronu **24**, zawierającego (1*S*)-*endo*-(-)-borneol jako chiralny ligand, do winylo-nukleozasad **25a–b** doprowadziła do utworzenia mieszaniny izomerów **26**, **27**, **28** i **29** z przewagą izoksazolidyn o konfiguracji *trans* (B = tymina: 0:14:78:8; B = adenina: 0:9:0:91), które w kolejnym etapie przekształcono w enancjomerycznie czyste pochodne **30a** i **31b** zawierające grupę hydroksymetylową (Schemat 8) [34].

Schemat 8. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **30a** i **31b**Scheme 8. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **30a** and **31b**

W enancjoselektywnej syntezie analogów nukleozydów **33** i **34** jako substratów użyto C-chiralnego nitronu **32**, octanu winylu i silylowaną tyminę. Po odbezpieczeniu grup hydroksylowych używając TBAF otrzymano oczekiwane analogi **33** i **34** w stosunku 3:2 (Schemat 9) [35].

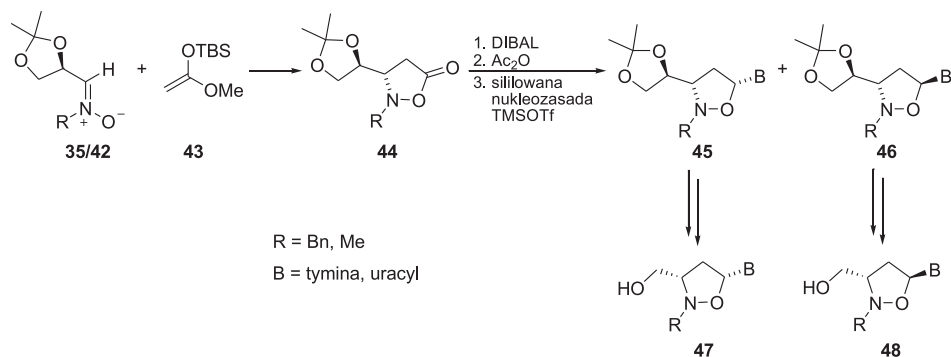
Schemat 9. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **33** i **34**Scheme 9. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **33** and **34**

Z enancjomerycznie czystego nitronu **35** i octanu winylu powstała mieszanina czterech stereoisomerów (7:2:1:1), w której głównymi składnikami były związki **36** i **37**. W reakcji z silylowaną tyminą utworzyły się produkty **38** i **39** w proporcji 3:1. Analogi zawierające grupę hydroksymetylową *cis*-**40** i *trans*-**41** otrzymano z dobrymi wydajnościami w wyniku procedury opisanej na schemacie 5. Zbadano również stereoselektywność reakcji nitronu **35** z 1-winylotyminą otrzymując w przewodzie cykloaddukty **38** oraz **39** (4:1), które przekształcono w pożądanę L-nukleozydy **40** i **41** (Schemat 10) [36].



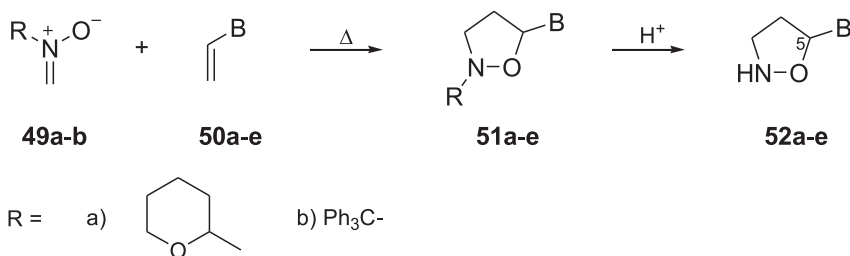
Schemat 10. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **40** i **41**  
 Scheme 10. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **40** and **41**

Analogi L-nukleozydów **47** i **48** otrzymano z wyższymi wydajnościami wykorzystując alternatywną metodę (Schemat 11). Otrzymany izoksazolidyn-5-on **44** przekształcono w diastereoizomery **45** i **46**, a następnie w trzech znanych etapach uzyskano żądane nukleozydy **47** i **48** [37].



Schemat 11. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **47** i **48**  
 Scheme 11. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **47** and **48**

W celu zsyntetyzowania analogów nukleozydów **52a-e** zawierających nukleozasadę przy C-5 pierścienia oraz niepodstawiony atom azotu (Schemat 12) wykorzystano N-winylo-nukleozasady **50a-e** i nitrony **49a-b**. W końcowym etapie otrzymane cykloaddukty **51** potraktowano roztworami odpowiednich kwasów, co pozwoliło na usunięcie podstawników z atomu azotu bez naruszenia pierścienia izoksazolidynowego [38–40]. Wykazano, że związek **52a** (AdT) hamuje replikację wirusa HIV.

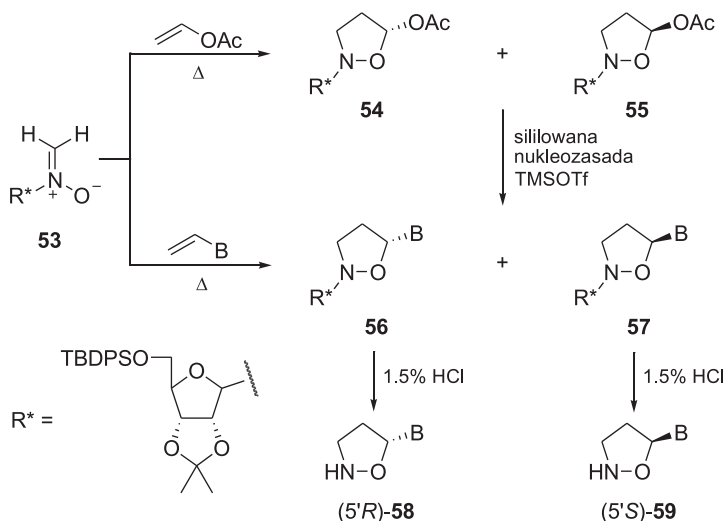


B = **a**) tymina; **b**) uracyl; **c**) cytozyna; **d**) 5-metylocytozyna; **e**) guanina (R = Ph<sub>3</sub>C-)

Schemat 12. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **52**

Scheme 12. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **52**

W enancjoselektywnej syntezie analogów **52** został wykorzystany nitron **53** zawierający chiralny pomocnik dołączony do atomu azotu (Schemat 8). W reakcji z octanem winylu utworzyła się mieszanina 5-acetoksyizoksazolidyn **54** i **55**, z których w reakcji Vorbrüggena powstały diastereoizomery **56** i **57** w proporcji 1,4:1. Wykorzystując *N*-winylo-nukleozasady w jednym etapie otrzymano mieszaninę diastereoizomerów **56** i **57** w proporcji 1,5:1. Po rozdzieleniu związków **56** i **57** na kolumnie chromatograficznej i usunięciu chiralnego fragmentu z atomu azotu uzyskano enancjomery **58** i **59** (Schemat 13). Okazało się, że związek **59** [(-)-AdFU] zawierający w swojej strukturze 5-fluorouracyl wykazuje niską toksyczność i indukuje proces apoptozy w komórkach ostrej białaczki limfatycznej oraz białaczki monocytarnej [41–43].

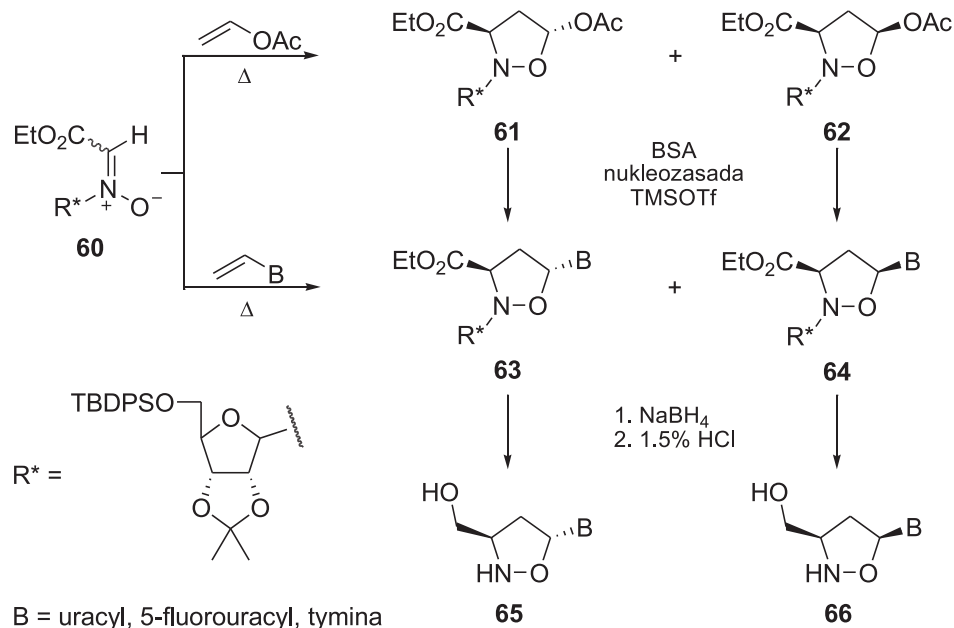


B = tymina, uracyl, 5-fluorouracyl, adenina, guanina, cytozyna, 5-fluorocytozyna

Schemat 13. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **58** i **59**

Scheme 13. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **58** and **59**

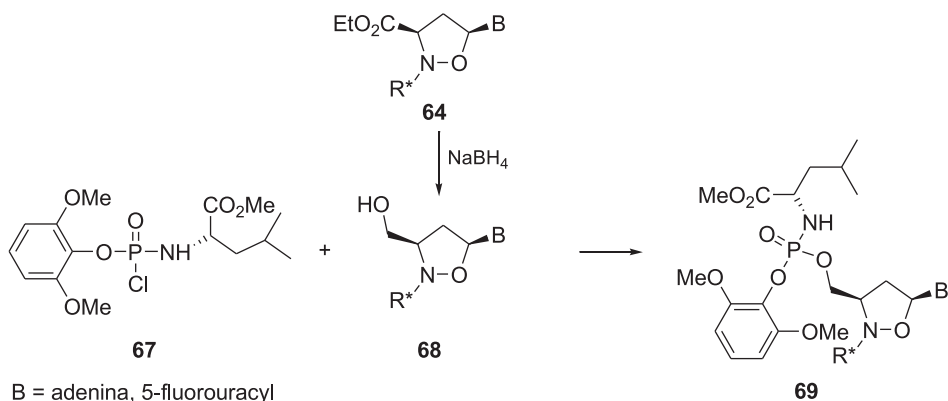
Zbadano użyteczność nitronu **60** zawierającego chiralny pomocnik dołączony do atomu azotu w syntezie enancjomerycznie czystych izoksazolidynowych analogów nukleozydów **65** i **66**. W dwuetapowej syntezie (cykloaddycja do octanu winylu i reakcja Vorbrüggena) uzyskano lepsze wydajności, ale w przewodzie tworzyły się anomery  $\alpha$  ( $\alpha:\beta = 2,2:1$ ). Natomiast w syntezie jednoetapowej (cykloaddycja do winylo-nukleozasad) powstało więcej anomerów  $\beta$  **66** ( $\alpha:\beta = 1:1,4$ ) (Schemat 14) [44].



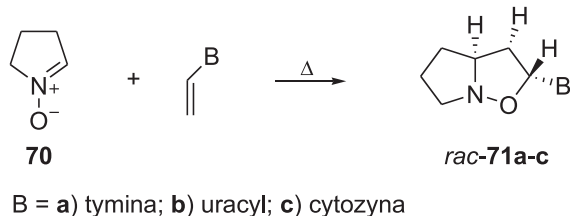
Schemat 14. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **65** i **66**

Scheme 14. Synthesis of isoxazolidine analogs of nucleosides **65** and **66**

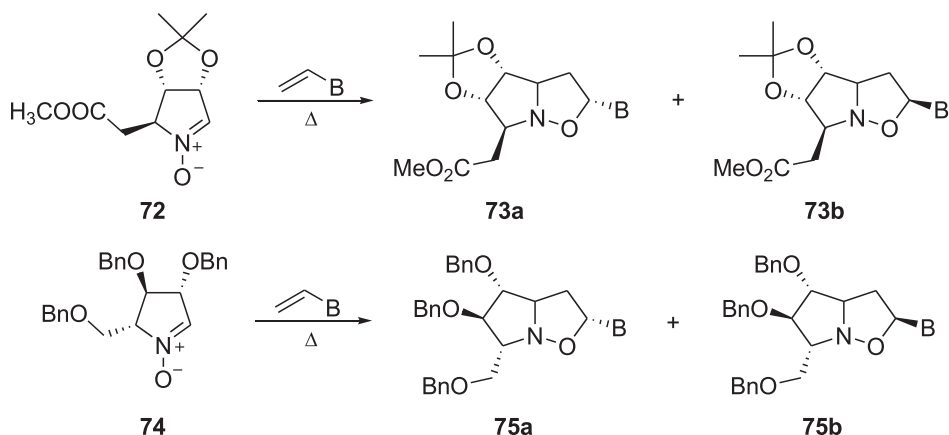
Izoksazolidyna **64** została dodatkowo wykorzystana w stereoselektywnej syntezie fosforamidowych analogów *N*-nukleozydów **69** zawierających w swojej strukturze adeninę i 5-fluorouracyl. W znanej sekwencji reakcji (Schemat 14) otrzymano hydroksymetylowe nukleozydy *cis*-**68**, w których do grupy hydroksylowej przyłączono ester metylowy *N*-(2,6-dimetoksyfenoksy)fosforylo-L-leucyny (Schemat 15). Dalsze badania wykazały, że wprowadzenie ugrupowania fosforamidowego znacznie wpłynęło na zwiększenie aktywności przeciwwirusowej, a otrzymane związki hamowały dwa różne typy odwrotnych transkryptaz i były praktycznie nietoksyczne w porównaniu z zidowudyną [45].

Schemat 15. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **69**Scheme 15. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **69**

W celu zbadania wpływu orientacji przestrzennej podstawników w izoksazolidynowych analogach nukleozydów na ich właściwości przeciwwirusowe opracowana została synteza usztywnionych konformacyjnie układów bicyklicznych. Jednoetapowa reakcja cykloaddycji nitronu **70** do winylo-nukleozasad pirymidynowych doprowadziła do otrzymania pirolidyno[1,2-*b*]izoksazolidyn **71a-c**, z których związek **71b** hamował replikację wirusa HSV-1 (Schemat 16) [46].

Schemat 16. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **71**Scheme 16. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **71**

Stereoselektywną syntezę bicyklicznych nukleozydów **73** oraz **75** zrealizowano w reakcji winylo-nukleozasad z chiralnymi nitronami **72** i **74**. Głównymi produktami były izomery **73a** i **75a**, a na proporcje otrzymanych produktów wpływał zarówno rodzaj zastosowanego dipola jak i rodzaj nukleozasady (Schemat 17) [47].

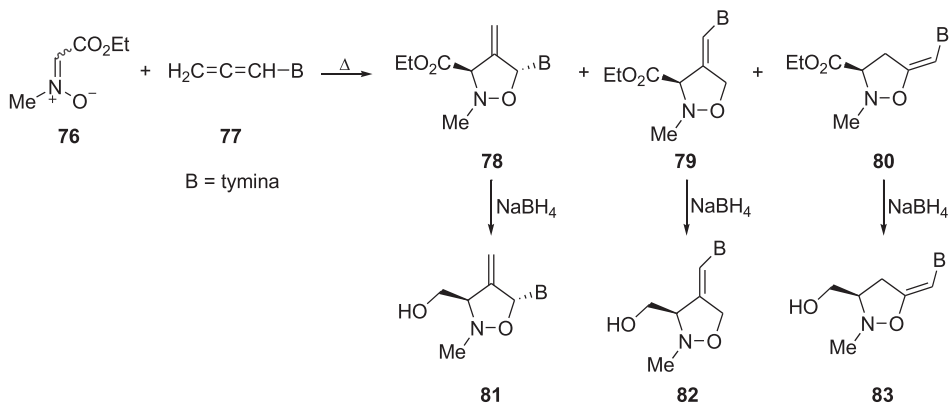


B = tymina, uracyl, adenina

Schemat 17. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów 73 i 75

Scheme 17. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides 73 and 75

Przykładami usztywnionych konformacyjnie nukleozydów są 4-metylenoizoksazolidyny **81–83**, których konfiguracje udowodniono metodami spektroskopowymi ( $^1\text{H}$  NMR, NOE). Mieszaninę regioizomerów **78**, **79** i **80** (2,6:7:1) uzyskaną w reakcji nitronu **76** z 1-(propa-1,2-dienyl)tyminą **77** poddano redukcji za pomocą borowodoru sodu otrzymując oczekiwane analogi nukleozydów (Schemat 18) [48].

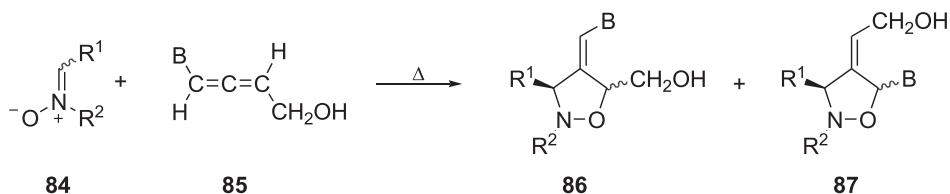


Schemat 18. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **81–83**

Scheme 18. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **81–83**

4-Metylenoizoksazolidyny podstawione przy C-3 i C-5 **86** i **87** zostały otrzymane w jednoetapowej reakcji cykloaddycji nitronu **84** do odpowiednich allenów **85** (Schemat 19) [49]. Konfiguracje związków **86** i **87**, które w zależności od warunków reakcji powstawały w proporcjach od 1:2 do 2:1, udowodniono spektroskopowo.





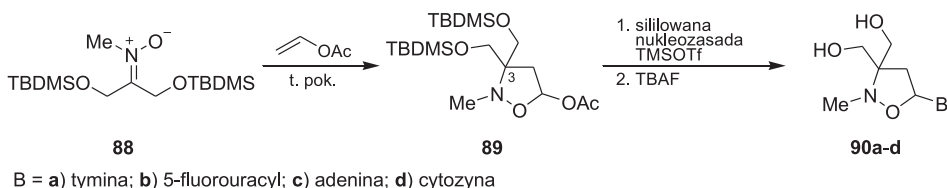
R<sup>1</sup> = H, CO<sub>2</sub>Et  
R<sup>2</sup> = Me, Bn

B = 3-([2-(trimetylosililo)etoksy]metylo)tymina, *N*-acetylocytozyna

Schemat 19. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **86** i **87**

Scheme 19. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **86** and **87**

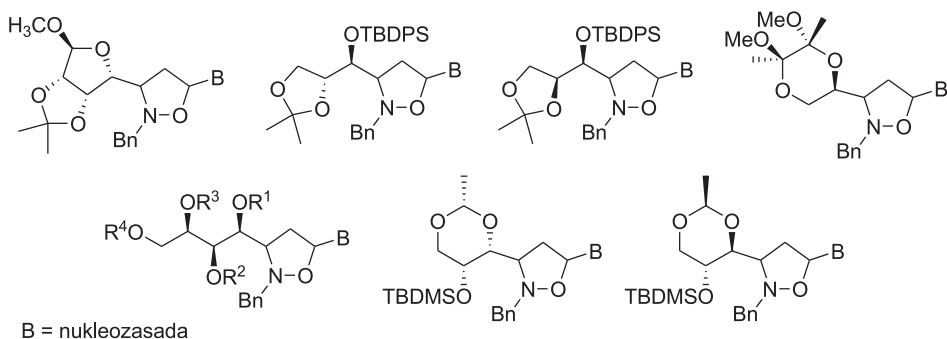
W reakcji nitronu **88** z octanem winylu utworzyły się podstawione przy C-3 5-acetoksyizoksazolidyny **89**, które przekształcono w analogi nukleozydów **90a-d** (Schemat 20) [50]. Związek **90b** indukował proces apoptozy w linii komórkowej Molt-3.



Schemat 20. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **90a-d**

Scheme 20. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **90a-d**

Znana jest również obszerna grupa analogów nukleozydów otrzymywanych z C-chiralnych nitronów, pochodnych monosacharydów (Rys. 4). W związkach tych fragment izoksazolidynowy stanowi łącznik pomiędzy nukleozasadą a resztą cukrową [51].

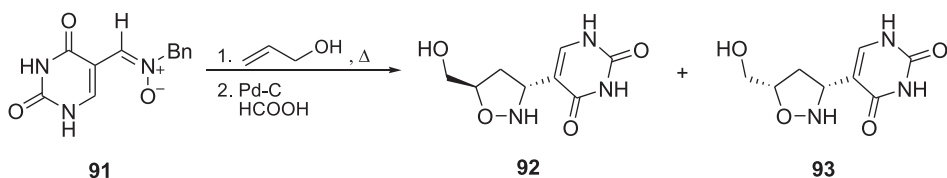


Rysunek 4. Przykłady izoksazolidynowych analogów nukleozydów zawierających fragment monosacharydu

Figure 4. Examples of isoxazolidine nucleoside analogues with monosaccharide moiety

## 2. IZOKSAZOLIDYNOWE C-NUKLEOZYDY

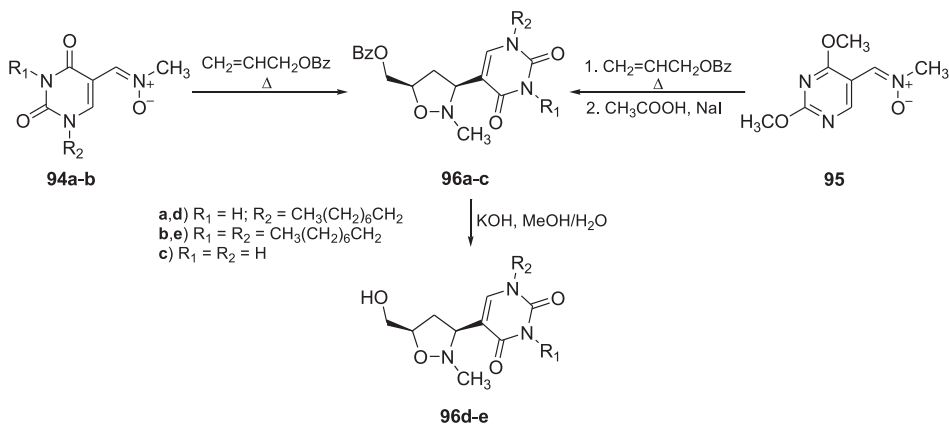
Modyfikacja struktury nukleozydu polegająca na zastąpieniu wiązania C–N między pierścieniem cukrowym i nukleozasadą na nieulegające hydrolizie wiązanie C–C prowadzi do powstania C-nukleozydu, którego przykładem jest pseudouryna (5-β-D-rybofuranosylouracyl) wykryta w strukturze RNA [52]. Izoksazolidynowe analogi pseudouryny **92** i **93** utworzyły się w proporcji 1:1 w reakcji nitronu **91** z alkoholem allilowym (Schemat 21) [53].



Schemat 21. Synteza izoksazolidynowych analogów pseudouryny **92** i **93**

Scheme 21. Synthesis of isoxazolidine analogues of pseudouridine **92** and **93**

Użycie nitronów otrzymanych z podstawionych uracyli **94a–b** albo z 5-formylo-2,4-dimetoksyprymidyny **95** i zastosowanie benzoesu allilu (Schemat 22) spowodowało zwiększenie stereoselektywności cykloaddycji na korzyść izomerów *cis*. I tak, w przypadku użycia nitronu **95** uzyskano mieszaninę odpowiednich *cis:trans* izoksazolidyn w proporcji 1,5:1, a w reakcji z nitronami **94a–b** zaobserwowano utworzenie jedynie śladowych ilości izomerów *trans*. Uzyskane *cis* izoksazolidyny **96a–b** następnie przekształcono w analogi pseudouryny **96d–e** z odbezpieczoną grupą hydroksylową [54].

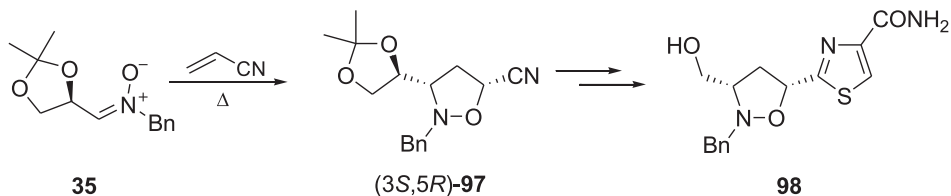


Schemat 22. Synteza analogów pseudouryny **96**

Scheme 22. Synthesis of pseudouridine analogues **96**

Tiazofuryna (2-β-D-rybofuranosylo-4-karboksyamidotiazol) w warunkach *in vitro* wykazuje właściwości przeciwnowotworowe [55]. Izoksazolidynowe analogi

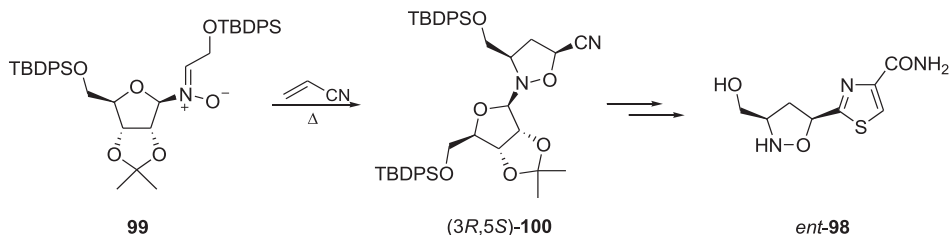
tiazofuryny otrzymano w reakcji nitronu **35** i akrylonitrylu (Schemat 23), w której udało się wyodrębnić główny izomer (3*S*,5*R*)-**97**. W dalszych etapach w reakcji z *L*-cysteiną utworzono pierścień tiazolu, w standardowych warunkach z pierścienia 1,3-dioksolanowego powstała grupa hydroksymetylowa, a z estru – amid **98** [56].



Schemat 23. Synteza izoksazolidynowego analogu tiazofuryny **98**

Scheme 23. Synthesis of isoxazolidine analogue of thiazofurine **98**

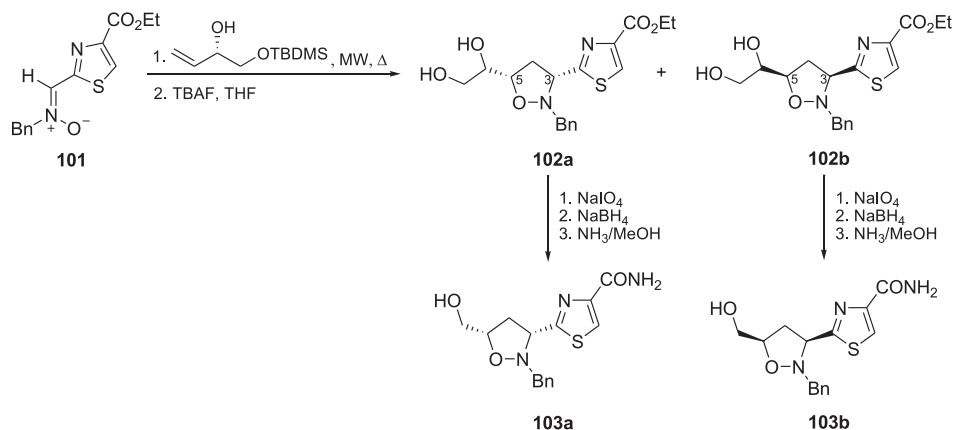
W celu zsyntetyzowania enancjomeru *ent*-**98** wykorzystano akrylonitryl i nitron **99** zawierający fragment chiralny przyłączony do atomu azotu (Schemat 24) [56]. Mieszanina poreakcyjna zawierała cztery cykloaddukty (60:30:7:3) z przewagą izomeru (3*R*,5*S*)-**100**. Wykorzystując przekształcenia pokazane na Schemacie 23 zainstalowano pierścień tiazolowy z grupą amidową, a w ostatnim etapie usunięto chiralny pomocnik.



Schemat 24. Synteza izoksazolidynowego analogu tiazofuryny *ent*-**98**

Scheme 24. Synthesis of isoxazolidine analogue of thiazofurine *ent*-**98**

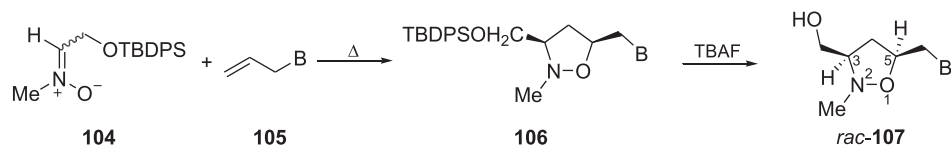
W syntezie regioizomeru tiazofuryny zawierającego pierścień tiazolowy w pozycji 3 wykorzystano nitron **101**, który poddano reakcji z sililową pochodną (*S*)-but-3-en-1,2-diolu (Schemat 25) [57]. Pełną diastereoselektywność cykloaddycji zapewniło zastosowanie triflaktu cynku jako katalizatora i naświetlania mikrofalowego. Otrzymane izomery *cis* (3*R*,5*S*)-**102a** i (3*S*,5*R*)-**102b** (4:1) zostały dalej przekształcone w odpowiednie izoksazolidynowe analogi tiazofuryny **103a** i **103b**.

Schemat 25. Synteza izoksazolidynowych analogów tiazofuriny **103**Scheme 25. Synthesis of isoxazolidine analogues of thiazofurine **103**

### 3. IZOKSAZOLIDYNOWE HOMONUKLEOZYDY

Homonukleozydy w swej strukturze posiadają dodatkowy mostek metylenowy oddzielający nukleozasadę od pierścienia cukrowego. W porównaniu z naturalnymi nukleozydami wykazują większą odporność na hydrolytyczne działanie enzymów. Liczne przykłady homonukleozydów wykazujących właściwości przeciwwirusowe [58, 59] stanowią inspirację do podjęcia prac nad syntezą ich izoksazolidynowych analogów.

Reakcja nitronu **104** z *N*-allilo-nukleozasadami **105** prowadziła do utworzenia mieszaniny diastereoizomerycznych cykloadduktów **106** z przewagą izomerów *cis* (*cis:trans* = 7:1; dla B = adenina; *cis:trans* = 2:1). Usunięcie grup ochronnych z wyodrębnionych izomerów **106** pozwoliło na otrzymanie racemicznych analogów homonukleozydów **107** (Schemat 26) [60].

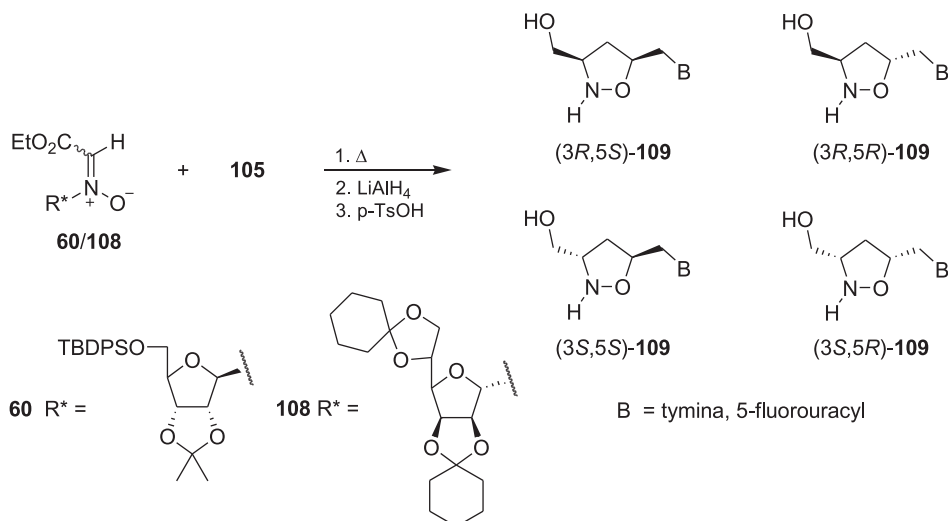


B = tymina, 5-fluorouracyl, *N*-acetylocytosyna, adenina

Schemat 26. Synteza izoksazolidynowych analogów homonukleozydów **107**Scheme 26. Synthesis of isoxazolidine analogues of homonucleosides **107**

W syntezie enancjomerycznie czystych izoksazolidynowych analogów homonukleozydów **109** wykorzystano cykloaddycję chiralnych nitronów **60** i **108** zawierających fragmenty pochodnych *D*-rybozy oraz *D*-mannozy z dipolarofilami **105** (Schemat 27) [61]. Dla obu nitronów uzyskano porównywalną diastereo selektyw-

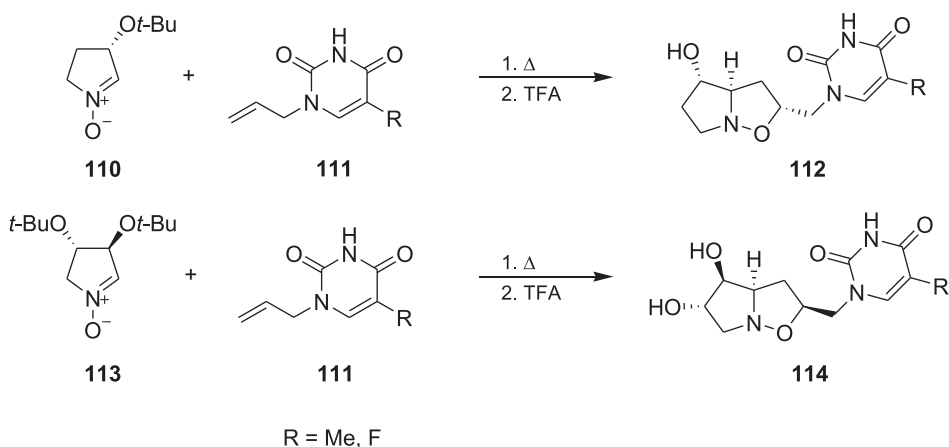
ność otrzymując w przewodzie izomery *cis*, natomiast wyższą enancjoselektywność zapewnił nitron **60**. Żaden z otrzymanych analogów **109** nie hamował namnażania badanych wirusów.



Schemat 27. Synteza izoksazolidynowych analogów homonukleozydów **109**

Scheme 27. Synthesis of isoxazolidine analogues of homonucleosides **109**

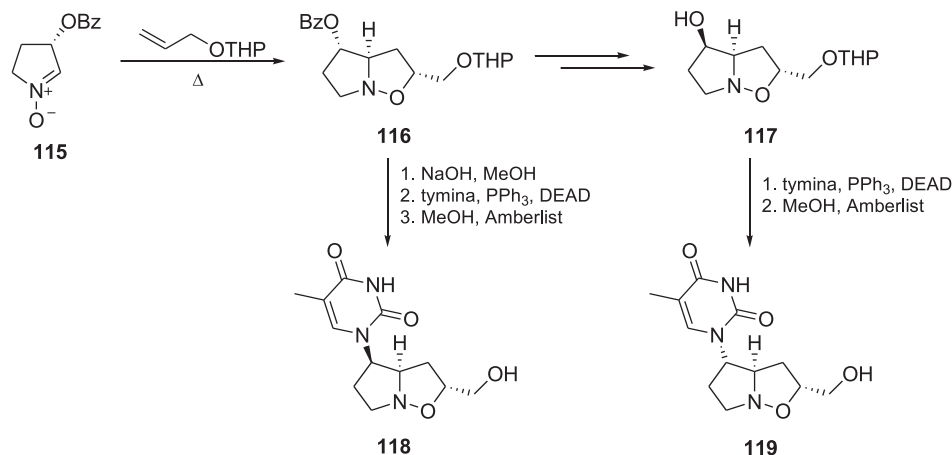
W celu otrzymania bicyklicznych homonukleozydów **112** i **114**, w których pierścień furanozowy zastąpiono układem pirolidyno[1,2-*b*]izoksazolidynowym wykorzystano enancjomerycznie czyste nitrony **110** i **113** oraz *N*-allilo-pirymidyny **111** (Schemat 28) [62] otrzymując w przewodzie izomeryczne izoksazolidyny, odpowiednio: **112** (7:1) i **114** (4:1).



Schemat 28. Synteza izoksazolidynowych analogów homonukleozydów **112** i **114**

Scheme 28. Synthesis of isoxazolidine analogues of homonucleosides **112** and **114**

W syntezie izoksazolidynowych analogów homonukleozydów **118** i **119** (izohomonukleozydy) zostały użyte nitron **115** i alkohol allilowy z zabezpieczoną grupą hydroksylową. Z otrzymanej mieszaniny cykloadduktów wyodrębniono tworzący się w przewodzie związek **116**, który następnie przekształcono w jego epimer **117**. W końcowym etapie otrzymane izoksazolidyny **116** i **117** w odpowiednich sekwencjach reakcji przekształcono w analogi nukleozydów **118** i **119** (Schemat 29) [63].

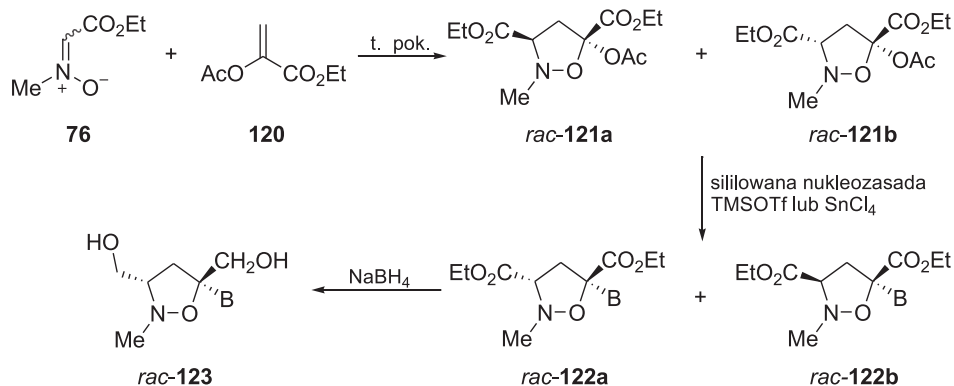


Schemat 29. Synteza izoksazolidynowych analogów homonukleozydów **118** i **119**

Scheme 29. Synthesis of isoxazolidine analogues of homonucleosides **118** and **119**

#### 4. IZOKSAZOLIDYNOWE PSIKO-NUKLEOZYDY

W porównaniu z naturalnymi nukleozydami psiko-nukleozydy (strukturalnie wywodzące się z oksoheksozy D-psikozy) [64] zawierają dodatkowy podstawnik przy anomerycznym atomie węgla. Stanowią one jedną z ważnych grup nukleozydów, w której znajdują się związki wykazujące działanie przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe [65, 66]. Izoksazolidynowe analogi psiko-nukleozydów **122a** i **122b** otrzymano z C-etoksykarbonylo-N-metylonitronu **76** i 2-acetoksyakrylanu etylu **120** w reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji, a następnie wprowadzono nukleozasady w warunkach reakcji Vorbrüggena (Schemat 30) [67, 68]. W wyniku redukcji grup estrowych w izomerach **122a** uzyskano pożądane analogi nukleozydów **123** zawierające grupy hydroksymetylowe przy C-3 i C-5.

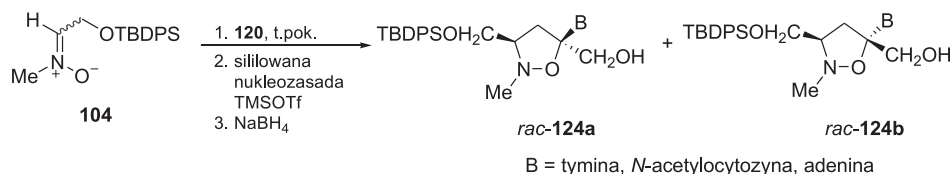


B = tymina, *N*-acetylocytozyna, cytozyna, 5-fluorouracyl, adenina

Schemat 30. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **123**

Scheme 30. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **123**

Zastąpienie nitronu **76** przez nitron **104** doprowadziło w reakcji z dipolarofilem **120** do znacznego zmniejszenia diastereoselektywności cykloaddycji. W kolejnych przekształceniach wprowadzono nukleozasady i zredukowano grupy etoksykarbonylowe otrzymując analogi nukleozydów **124a** i **124b** (Schemat 31) [69].

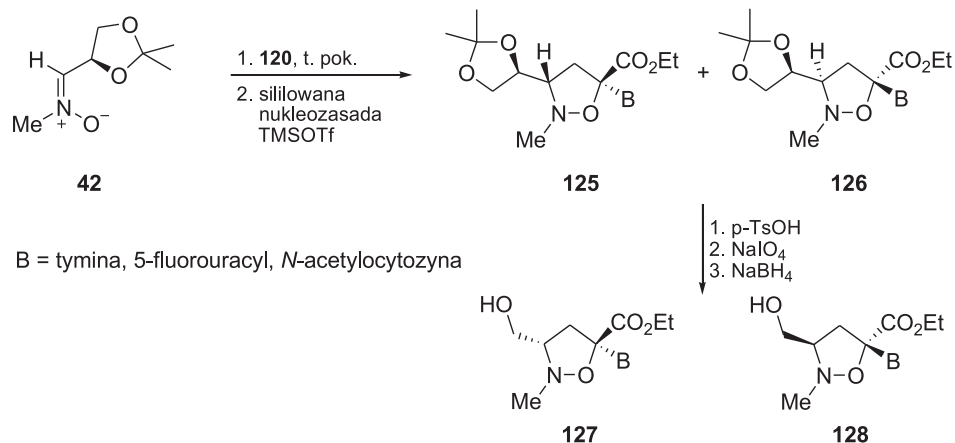


B = tymina, *N*-acetylocytozyna, adenina

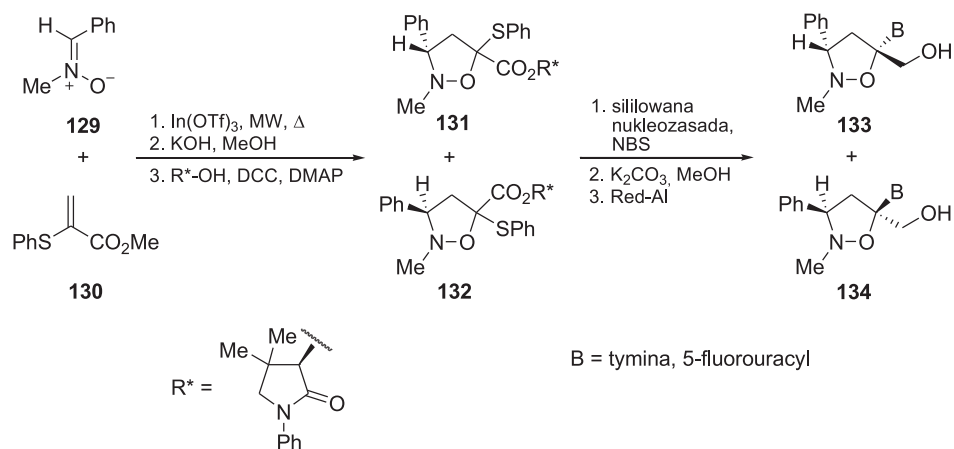
Schemat 31. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **124**

Scheme 31. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **124**

Enancjoselektywną syntezę analogów psiko-nukleozydów zrealizowano w reakcji enancjomerycznie czystego nitronu **42** z alkenem **120**. Utworzone trzy cykloaddukty poddano następnie reakcji z silylowanymi nukleozasadami otrzymując jedynie związki **125** i **126**, które w standardowych warunkach przekształcono w końcowe analogi **127** i **128** zawierające grupy HOCH<sub>2</sub>-C-3 (Schemat 32) [70].

Schemat 32. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **127** i **128**Scheme 32. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **127** and **128**

Niedawno została opisana synteza enancjomerycznie czystych analogów psikonukleozydów **133** i **134** zawierających grupę fenylową przy C-3 wychodząc z nitronu **129** i 2-fenylioakrylanu metylu **130** (Schemat 33), które okazały się nieaktywne w stosunku do wybranych DNA- i RNA-wirusów [71].

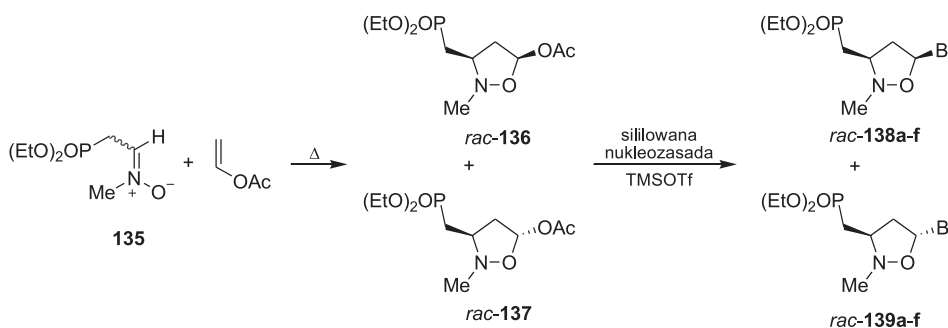
Schemat 33. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **133** i **134**Scheme 33. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **133** and **134**



## 5. FOSFONIANOWE POCHODNE NUKLEOZYDÓW IZOKSAZOLIDYNOWYCH

Aktywność biologiczna analogów nukleozydów o właściwościach przeciwwirusowych zależy między innymi od efektywności przekształcania ich przez wewnątrzkomórkowe kinazy do form aktywnych – di- i trifosforanów. Wprowadzenie w miejsce grupy hydroksylowej funkcji fosfonianowej umożliwia dostarczenie nukleozydu już w formie naśladowującej monofosforan. Dzięki temu pominięty zostaje pierwszy etap fosforylacji, który jest najmniej wydajny. Dodatkowo przewaga fosfonianów nad fosforanami polega na lepszej penetracji do komórek oraz odporności na działanie fosfataz dzięki obecności wiązania C–P [15].

Pierwsze izoksazolidynowe analogi nukleozydów zawierające ugrupowanie fosfonianowe zostały zsyntetyzowane w wyniku 1,3-dipolarnej cykloaddycji nitronu **135** do octanu winylu. Utworzone w ten sposób 5-acetoksyizoksazolidyny **136** i **137** przekształcono w reakcji z silylowanymi nukleozasadami w mieszaninę anomerów  $\beta$  i  $\alpha$ , odpowiednio **138** i **139** (Schemat 34) [72, 73].

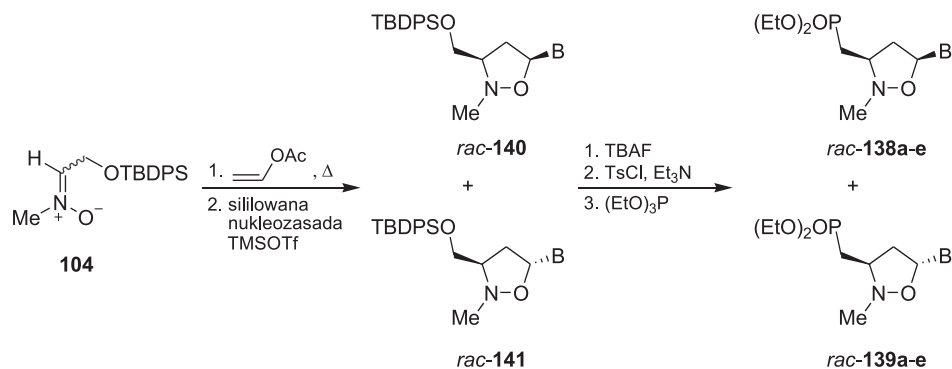


B = a) tymina; b) 5-fluorouracyl; c) cytozyna; d) 5-bromouracyl; e) adenina; f) *N*-acetylocytozyna

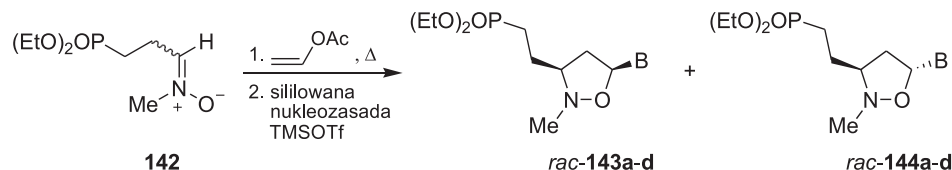
Schemat 34. Synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **138** i **139**

Scheme 34. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **138** and **139**

Wyższe wydajności związków **138** i **139** uzyskano wychodząc z *C*-(*tert*-butylodifenylsilyloksy)-*N*-metylonitronu **104**. W reakcji z octanem winylu, a następnie z silylowanymi nukleozasadami otrzymano mieszaninę produktów **140** i **141** w stosunku 7:3, które kolejno przekształcono w fosfoniany, odpowiednio **138a–e** i **139a–e** (Schemat 35) [73]. Badania biologiczne izoksazolidyn **138a–c, e** potwierdziły wysoką aktywność przeciwwirusową przy bardzo małej cytotoksyczności. Hamowały one odwrotną transkryptazę przy niższym stężeniu niż zidowudyna oraz zapobiegały zainfekowaniu komórek krwi obwodowej przez wirusa HTLV-1 [73, 74].

Schemat 35. Alternatywna synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **138** i **139**Scheme 35. Alternative synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **138** and **139**

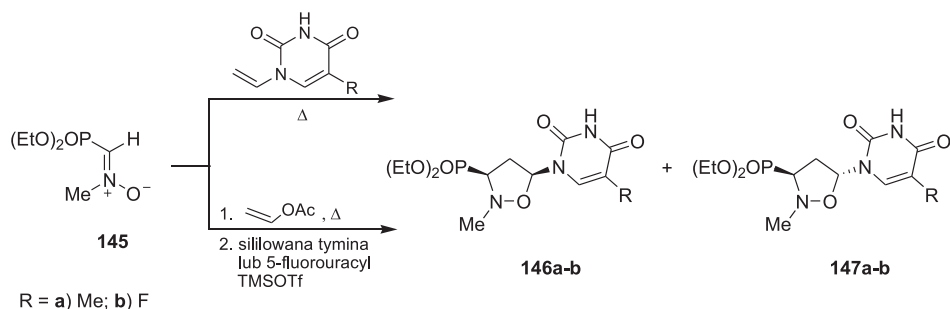
W sposób podobny do przedstawionego na Schemacie 34 wychodząc z *C*-2-(dietoksyfosforylo)etylo-*N*-metylonitronu **142** otrzymano analogi fosfonianowe **143** i **144** zawierające mostek etylenowy pomiędzy atomem fosforu a pierścieniem izoksazolidynowym (Schemat 36) [75]. Ostatni etap syntezy przebiegał z najwyższą diastereo selektywnością dla pochodnej *N*-acetylocytozyny (**143a-b**:**144a-b** = 7:3; **143c**:**144c** = 9:1).



B = a) tymina; b) 5-fluorouracyl; c) *N*-acetylocytozyna; d) cytozyna

Schemat 36. Alternatywna synteza izoksazolidynowych analogów nukleozydów **143** i **144**Scheme 36. Alternative synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **143** and **144**

Zrealizowanie syntezy nitronu **145** [76] pozwoliło na opracowanie warunków otrzymywania izoksazolidynowych analogów nukleozydów **146a-b** i **147a-b** z ugrupowaniem dietoksyfosforylowym bezpośrednio przyłączonym do pierścienia (Schemat 37). Wykorzystano tu jednoetapową reakcję cykloaddycji nitronu **145** do 1-winylotyminy i 1-winylo-5-fluorouracylu oraz dwuetapową sekwencję z użyciem octanu winylu, a następnie silylowanych nukleozasad. W syntezie dwuetapowej prowadzonej w temperaturze pokojowej w mieszaninie poreakcyjnej przeważały analogi nukleozydów o konfiguracji  $\beta$  **146a-b** ( $\alpha$ : $\beta$  = 2:3), natomiast w reakcji jednoetapowej w nadmiarze (5:1) powstały analogi o konfiguracji  $\alpha$  **147a-b**. Nukleozydy o konfiguracji *cis* **146a-b** hamowały odwrotną transkryptazę wirusów AMV i HIV w stopniu porównywalnym do tenofowiru i w znacznie wyższym stopniu niż zidowudyna. Jednocześnie związki te (**146** i **147**) wykazywały dużo niższą cytotoksyczność w porównaniu z zidowudyną [77].

Schemat 37. Synteza fosfonianowych analogów nukleozydów **146** i **147**Scheme 37. Synthesis of isoxazolidine analogues of nucleosides **146** and **147**

## PODSUMOWANIE

Łagodne warunki reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji nitronu do odpowiedniego alkeny powodują, że w jednym etapie otrzymać można zróżnicowane strukturalnie podstawione izoksazolidyny. Pochodne izoksazolidyny znajdują liczne zastosowania jako substraty w syntezie biologicznie czynnych 1,3-aminoalkoholi,  $\beta$ -laktamów, aminocukrów, alkaloidów czy modyfikowanych nukleozydów. Projektowanie i synteza izoksazolidyn jako analogów nukleozydów i nukleotydów opiera się na idei zastąpienia pierścienia furanozydowego przez fragment izoksazolidynowy, co prowadzi do istotnych zmian konformacyjnych, a w konsekwencji daje szanse na uzyskanie nowych związków o potencjalnej aktywności biologicznej. W niniejszym opracowaniu przedstawiono dotychczasowe osiągnięcia w syntezie biologicznie aktywnych izoksazolidynowych analogów nukleozydów podsumowując zrealizowane do tej pory kierunki modyfikacji struktury izoksazolidyny. Wysokie aktywności biologiczne tego typu układów oraz bardzo mała cytotoksyczność w stosunku do komórek zdrowych zachęcają do poszukiwania nowych, potencjalnych leków opartych na szkielecie izoksazolidyny.

## PODZIĘKOWANIE

Autorzy pragną serdecznie podziękować Panu prof. dr. hab. Andrzejowi E. Wróblewskiemu za bezcenną pomoc i udzielone wskazówki. Praca realizowana w ramach badań statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (502-34-020).

## PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] L.W. Lee, C.E. Taylor, J. Desaulniers, M. Zhang, J.W. Hřřfeldt, Q. Pan, A.K. Mapp, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **19**, 6233.
- [2] M. Tsuda, K. Hirano, T. Kubota, J. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 4819.
- [3] K. Hirano, T. Kubota, M. Tsuda, Y. Mikami, J. Kobayashi, *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, **48**, 974.
- [4] A. Rescifina, M.A. Chiacchio, A. Corsaro, E. De Clercq, D. Iannazzo, A. Mastino, A. Piperno, G. Romeo, R. Romeo, V. Valveri, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 709.
- [5] A. Rescifina, U. Chiacchio, A. Corsaro, A. Piperno, R. Romeo, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 129.
- [6] B. Loh, L. Vozzolo, B.J. Mok, C.C. Lee, R.J. Fitzmaurice, S. Caddick, A. Fassati, *Chem. Biol. Drug Des.*, 2010, **75**, 461.
- [7] G.P. Nora, M.J. Miller, U. Möllmann, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 3966.
- [8] M. Damodiran, P.M. Sivakumar, R. Senthil Kumar, D. Muralidharan, B.V. Phani Kumar, M. Doble, P.T. Perumal, *Chem. Biol. Drug Des.*, 2009, **74**, 494.
- [9] M.P. Sadashiva, H. Mallesha, K.K. Murthy, K.S. Rangappa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 1811.
- [10] K.R. Ravi Kumar, H. Mallesha, K.S. Rangappa, *Arch. Pharm. Med. Chem.*, 2003, **336**, 159.
- [11] M.P. Sadashiva, H. Mallesha, N.A. Hitesh, K.S. Rangappa, *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, **12**, 6389.
- [12] K.R. Ravi Kumar, H. Mallesha, Basappa, K.S. Rangappa, *Eur. J. Med. Chem.*, 2003, **38**, 613.
- [13] J.N. Narendra Sharath Chandra, K.C. Ponnappa, C.T. Sadashiva, B.S. Priya, B.L. Nanda, T. Veerasappa Gowda, B.S. Vishwanath, K.S. Rangappa, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2007, **7**, 787.
- [14] E. De Clercq, *Biochim. Biophys. Acta*, 2002, **1587**, 258.
- [15] Y. Mehellou, E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 521.
- [16] E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, 1995, **38**, 2491.
- [17] E. De Clercq, *Curr. Med. Chem.*, 2001, **8**, 1543.
- [18] A. Carr, *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2003, **2**, 624.
- [19] J. Balzarini, *Pharm. World Sci.*, 1994, **16**, 113.
- [20] G. Romeo, U. Chiacchio, A. Corsaro, P. Merino, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 3337.
- [21] P. Merino, *Curr. Med. Chem.-Anti-Infective Agents*, 2002, **1**, 389.
- [22] J.M.J. Tronchet, M. Iznaden, F. Barbalat-Rey, H. Dhimane, A. Ricca, J. Balzarini, E. De Clercq, *Eur. J. Med. Chem.*, 1992, **27**, 555.
- [23] J.M.J. Tronchet, G. Zosimo-Landolfo, E. Winter-Mihaly, F. Habashi, D. Schwarzenbach, U. Likic, M. Geoffroy, *Helv. Chim. Acta*, 1981, **64**, 610.
- [24] Y. Xiang, J. Chen, R.F. Schinazi, K. Zhao, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 7193.
- [25] P. Merino, S. Franco, F.L. Merchan, T. Terejo, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 6411.
- [26] A. Padwa, W.H. Pearson, *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products*, John Wiley and Sons, NY, 2002, s. 817.
- [27] K.V. Gothelf, K.A. Jørgensen, *Chem. Rev.*, 1998, **98**, 863.
- [28] H. Vorbruggen, K. Krolikiewicz, B. Bennua, *Chem. Ber.*, 1981, **114**, 1234.
- [29] Y. Xiang, Hung-Jang Gi, D. Niu, R.F. Schinazi, K. Zhao, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 7430.
- [30] Y. Xiang, Y. Gong, K. Zhao, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 4877.
- [31] U. Chiacchio, G. Gumina, A. Rescifina, R. Romeo, N. Uccella, F. Casuscelli, A. Piperno, G. Romeo, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 8889.
- [32] A.O. Maslat, M. Bkhaitan, G.A. Sheikha, *Drug Chem. Toxicol.*, 2007, **30**, 41.
- [33] C. Carnovale, D. Iannazzo, G. Nicolosi, A. Piperno, C. Sanfilippo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 425.
- [34] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, A. Procopio, A. Rescifina, G. Romeo, R. Romeo, *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, **10**, 1893.

- [35] U. Chiacchio, A. Corsaro, G. Gumina, A. Rescifina, D. Iannazzo, A. Piperno, G. Romeo, R. Romeo, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 9321.
- [36] P. Merino, E.M. Del Alamo, S. Franco, F.L. Merchan, A. Simon, T. Tejero, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 1543.
- [37] P. Merino, E.M. Del Alamo, M. Bona, S. Franco, F.L. Merchan, T. Tejero, O. Vieceli, *Tetrahedron Lett.*, 2000, **41**, 9239.
- [38] A. Leggio, A. Liguori, A. Procopio, C. Siciliano, G. Sindona, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 1277.
- [39] E. Colacino, A. Converso, A. Liguori, A. Napoli, C. Siciliano, G. Sindona, *Tetrahedron*, 2001, **57**, 8551.
- [40] R. Dalpozzo, A. De Nino, L. Maiuolo, A. Procopio, G. De Munno, G. Sindona, *Tetrahedron*, 2001, **57**, 4035.
- [41] U. Chiacchio, A. Rescifina, A. Corsaro, V. Pistarà, G. Romeo, R. Romeo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 2045.
- [42] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, V. Pistarà, A. Procopio, A. Rescifina, G. Romeo, R. Romeo, C. Siciliano, E. Valveri, *Arkivoc*, 2002, **11**, 159.
- [43] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, V. Pistarà, A. Rescifina, R. Romeo, V. Valveri, A. Mastino, G. Romeo, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 3696.
- [44] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, V. Pistarà, A. Rescifina, R. Romeo, G. Sindona, G. Romeo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 2717.
- [45] L. Borrello, U. Chiacchio, A. Corsaro, V. Pistarà, D. Iannazzo, *Arkivoc* 2009, **13**, 112.
- [46] A. Procopio, S. Alcaro, A. De Nino, L. Maiuolo, F. Ortuso, G. Sindona, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 545.
- [47] E. Coutouli-Argyropoulou, C. Xatzis, N.G. Argyropoulos, *Nucleos Nucleot Nucleic Acids*, 2008, **27**, 84.
- [48] A. Piperno, A. Rescifina, A. Corsaro, M.A. Chiacchio, A. Procopio, R. Romeo, *Eur. J. Org. Chem.*, 2007, 1517.
- [49] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, G. Romeo, R. Romeo, M.G. Saita, A. Rescifina, *Eur. J. Org. Chem.*, 2007, 4758.
- [50] U. Chiacchio, F. Genovese, D. Iannazzo, A. Piperno, P. Quadrelli, A. Corsaro, R. Romeo, V. Valveri, A. Mastino, *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, **12**, 3903.
- [51] E. Hýrošová, L. Fišera, M. Medvecký, H.-U. Reissig, A. Al-Harrasi, M. Koóš, *Arkivoc*, 2009, **9**, 122.
- [52] C.S. Yarian, M.M. Basti, R.J. Cain, G. Ansari, R.H. Guenther, E. Sochacka, G. Czerwinska, A. Mal-kiewicz, P.F. Agris, *Nucleic Acids Res.*, 1999, **27**, 3543.
- [53] U. Chiacchio, A. Corsaro, J. Mates, P. Merino, A. Piperno, A. Rescifina, G. Romeo, R. Romeo, T. Tejero, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 4733.
- [54] E. Coutouli-Argyropoulou, P. Lianis, M. Mitakou, A. Giannoulis, J. Nowak, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 1494.
- [55] K.S. Ramasamy, R. Bandaru, D. Averett, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 5849.
- [56] P. Merino, T. Tejero, F.J. Unzurrunzaga, S. Franco, U. Chiacchio, M.G. Saita, D. Iannazzo, A. Piperno, G. Romeo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 3865.
- [57] U. Chiacchio, A. Rescifina, M.G. Saita, D. Iannazzo, G. Romeo, J.A. Mates, T. Tejero, P. Merino, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 8991.
- [58] N. Hossain, C. Hendrix, E. Lescrier, A. Van Aerschot, R. Busson, E. De Clercq, P. Herdewijn, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1996, **6**, 1465.
- [59] E. De Clercq, J. Descamps, G. Verhelst, R.T. Walker, A.S. Jones, P.F. Torrence, D. Shugar, *J. Infect. Dis.*, 1980, **141**, 563.

- [60] U. Chiacchio, F. Genovese, D. Iannazzo, V. Librando, P. Merino, A. Rescifina, R. Romeo, A. Procopio, G. Romeo, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 441.
- [61] U. Chiacchio, M.G. Saita, L. Crispino, G. Gumina, S. Mangiafico, V. Pistarà, G. Romeo, A. Piperno, E. De Clercq, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 1171.
- [62] V. Mannucci, F.M. Cordero, A. Piperno, G. Romeo, A. Brandi, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 1204.
- [63] B. Richichi, S. Cicchi, U. Chiacchio, G. Romeo, A. Brandi, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 5231.
- [64] S.K. Richardson, A.R. Howell, R. Taboada, *Org. Prep. Proced. Int.*, 2006, **38**, 101.
- [65] E.J. Prisbe, J. Smejkal, J.P.H. Verheyden, J.G. Moffat, *J. Org. Chem.*, 1976, **41**, 1836.
- [66] M. Nakajima, K. Itoi, Y. Takamatsu, T. Kinoshita, H. Okazaki, M. Shindo, K. Kawakubo, T. Honma, M. Tohjigamori, T. Haneishi, *J. Antibiot.*, 1991, **44**, 293.
- [67] U. Chiacchio, A. Corsaro, D. Iannazzo, A. Piperno, A. Rescifina, R. Romeo, G. Romeo, *Tetrahedron Letters*, 2001, **42**, 1777.
- [68] U. Chiacchio, A. Corsaro, V. Pistarà, A. Rescifina, D. Iannazzo, A. Piperno, G. Romeo, G. Grassi, *Eur. J. Org. Chem.*, 2002, **7**, 1206.
- [69] D. Iannazzo, A. Piperno, V. Pistarà, A. Rescifina, R. Romeo, *Tetrahedron*, 2002, **58**, 581.
- [70] U. Chiacchio, L. Borrello, D. Iannazzo, P. Merino, A. Piperno, A. Rescifina, B. Richichi, G. Romeo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 2419.
- [71] P. Camps, T. Gómez, D. Muñoz-Torrero, J. Rull, L. Sánchez, F. Boschi, M. Comes-Franchini, A. Ricci, T. Calvet, M. Font-Bardia, E. De Clercq, L. Naesens, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 6657.
- [72] U. Chiacchio, E. Balestrieri, B. Macchi, D. Iannazzo, A. Piperno, A. Rescifina, R. Romeo, M. Saglimbeni, M.T. Sciortino, V. Valveri, A. Mastino, G. Romeo, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 1389.
- [73] U. Chiacchio, A. Rescifina, D. Iannazzo, A. Piperno, R. Romeo, L. Borrello, M.T. Sciortino, E. Balestrieri, B. Macchi, A. Mastino, G. Romeo, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 3747.
- [74] E. Balestrieri, C. Matteucci, A. Ascolani, A. Piperno, R. Romeo, G. Romeo, U. Chiacchio, A. Mastino, B. Macchi, *Antimicrob. Agents and Chemoter.*, 2008, **52**, 54.
- [75] U. Chiacchio, D. Iannazzo, A. Piperno, R. Romeo, G. Romeo, A. Rescifina, M. Saglimbeni, *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, **14**, 955.
- [76] D.G. Piotrowska, *Tetrahedron Lett.*, 2006, **47**, 5363.
- [77] A. Piperno, S.V. Giofrè, D. Iannazzo, R. Romeo, G. Romeo, U. Chiacchio, A. Rescifina, D.G. Piotrowska, *J. Org. Chem.*, 2010, **75**, 2798.

Praca wpłynęła do Redakcji 18 lipca 2012

**SYNTEZY, STRUKTURY I AKTYWNOŚĆ  
BIOLOGICZNA POCHODNYCH IMIDAZO[4,5-*b*]  
PIRYDINY. CZĘŚĆ 1**

**SYNTHESIS, STRUCTURES AND BIOLOGICAL  
ACTIVITY OF IMIDAZO[4,5-*b*]PYRIDINE  
DERIVATIVES. PART 1**

**Hanna Liszkiewicz, Anna Nowicka,  
Wanda Paulina Nawrocka**

*Katedra i Zakład Technologii Leków  
Uniwersytet Medyczny im Piastów Śląskich we Wrocławiu  
pl. Nankiera 1, 50-140 Wrocław  
e-mail: anna.nowicka@am.wroc.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Leki zawierające w swojej strukturze układ imidazo[4,5-*b*]pirydyny
2. Pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny o aktywności przeciwwrzodowej
3. Pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny o aktywności przeciwnowotworowej
4. Pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny o aktywności antyneurodegeneracyjnej
5. Pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny o różnej aktywności biologicznej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr n. farm. Hanna Liszkiewicz** ukończyła Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej we Wrocławiu. Pracuje w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków Uniwersytetu Medycznego. Stopień doktora nauk farmaceutycznych uzyskała na tutejszym Wydziale. Kierunki badań naukowych: synteza i struktura związków heterocyklicznych w tym 1,5-benzo- i 1,5-pirydodiazepin, chinazolinonu-4, 2-aminobenzimidazolu, imdazo[4,5-*b*]pirydyny, o potencjalnej aktywności biologicznej: psychotropowej, immunotropowej i przeciwnowotworowej.

**Mgr inż. Anna Nowicka** ukończyła Inżynierię Materiałową na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Jest również absolwentką Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu. Od 2010 roku jest asystentem w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Zajmuje się syntezą nowych pochodnych 2-aminobenzimidazolu o potencjalnej aktywności biologicznej.

**Prof. dr hab. Wanda Paulina Nawrocka** jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej i pracuje na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Stopienie naukowe doktora nauk farmaceutycznych i doktora habilitowanego w zakresie chemii i technologii środków leczniczych uzyskała na tutejszym Wydziale. W 2009 roku Prezydent RP Lech Kaczyński nadał jej tytuł naukowy profesora dr hab. w zakresie chemii i technologii środków leczniczych. Od 2009 jest kierownikiem Katedry i Zakładu Technologii Leków. Kierunki badań naukowych: synteza i struktura związków heterocyklicznych w tym 1,5-benzo- i 1,5-pirydodiazepin, chinazolinonu-4, 2-aminobenzimidazolu, o potencjalnej aktywności biologicznej: psychotropowej, immunotropowej i przeciwnowotworowej.



---

**ABSTRACT**

This review presents most of the literature data about imidazo[4,5-*b*]pyridine derivatives and their biological activity. The main goal of this paper is to present various methods for the preparation of imidazo[4,5-*b*]pyridine analogues.

There are some drugs, imidazo[4,5-*b*]pyridine derivatives, registered in the world, which exhibit diverse pharmacological activities. Nobeprastine [4] represent antihistaminic II generation drug with selective activity to H1 receptors. Tenatoprazole [5] is a novel proton pump inhibitor with a prolonged plasma half-life which possesses antiulcer activity. Sulmazole [3] is a new cardiotoxic agent, an A1 adenosine receptor antagonist.

Based on the review of the chemical literature, derivatives of imidazole[4,5-*b*]pyridine showed a multipharmacological effects. Presented compounds exhibit anticancer [14, 17, 19], antidepressant [44, 45], cardiotoxic, anticoagulant [37] activities. Some of them can be used in the treatment of heart diseases [3]. There were also described derivatives of imidazo[4,5-*b*]pyridine with the potential use in the treatment of diabetes [48], hypertension and hyperlipidemia. Some chemical compounds which contain in their structure the imidazo[4,5-*b*]pyridine system inhibit neurodegeneration [34, 38] and can be used in the treatment of neurodegenerative disorders eg. Parkinson's disease, Alzheimer's disease or multiple sclerosis. In addition, some of the imidazo[4,5-*b*]pyridine possess antiviral [40–42], antimicrobial and cytotoxic activities.

Keywords: imidazo[4,5-*b*]pyridine derivatives, biological activity, synthesis, structures

Słowa kluczowe: pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny, aktywność biologiczna, syntezy, struktury

---

---

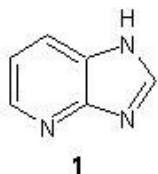
## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

BRAF	– kinaza serynowo-treoninowa RAF (ang. <i>serine/threonine-protein kinase B-Raf</i> )
cAMP	– 3',5'-cykliczny adenozyńomofosforan (ang. <i>3'-5'-cyclic adenosine monophosphate</i> )
H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPaza	– wodorowo/potasowa ATP-aza (ang. <i>hydrogen potassium ATPase</i> )
ADA	– deaminaza adenozyńowa (ang. <i>adenosine deaminase activity</i> )
RNR	– reduktaza rybonukleotyńowa (ang. <i>ribonucleotide reductase</i> )
DNA	– kwas deoksyrybonukleoinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
HSP	– biańko szoku cieplnego (ang. <i>heat shock protein</i> )
MAPK	– kinazy aktywowane mitogenami (ang. <i>mitogen-activated protein kinases</i> )
GSK 3	– kinaza syntazy glikogenu-3 (ang. <i>glycogen synthase kinase 3</i> )
CCR5	– receptor C-C chemokin typu 5, (ang. <i>C-C chemokine receptor type 5</i> )
HIV	– ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>human immunodeficiency virus</i> )
AIDS	– zespół nabytego niedoboru odporności (ang. <i>acquired immune deficiency syndrome</i> )
CRH	– kortykoliberyna (ang. <i>corticotropin-releasing hormone</i> )
TXA <sub>2</sub>	– tromboksan A2 (ang. <i>thromboxane A2</i> )

## WPROWADZENIE

Aktualnie na świecie zarejestrowanych jest kilka leków o różnorodnym działaniu farmakologicznym, zawierających w swej strukturze układ imidazo[4,5-*b*]pirydyny, a syntezy chemiczne i aktywność biologiczna pochodnych tego układu są przedmiotem publikacji naukowców z wielu ośrodków badawczych.

Prace nad poszukiwaniem nowych leków polegają na modyfikacji znanych struktur chemicznych, syntezie nowych związków chemicznych, jak i na poszukiwaniu nowych mechanizmów fizjologicznych, w które mogłyby ingerować potencjalne leki.



Rysunek 1  
Figure 1

Pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny, podstawione lub policykliczne, wykazują różnorodną aktywność biologiczną:

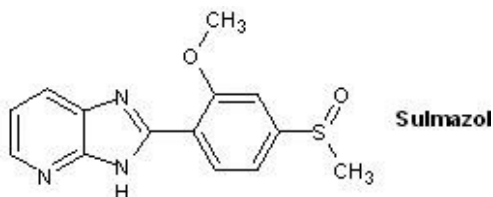
- przeciwwrzodową
- przeciwnowotworową
- antyneurodegeneracyjną
- hipotensyjną
- przeciwbakteryjną i przeciwgruźliczą
- przeciwzapalną
- przeciwbólową.

Ze względu na dużą liczbę publikacji, dotyczących syntezy i aktywności biologicznej pochodnych imidazo[4,5-*b*]pirydyny w tej części pracy zostaną omówione związki wykazujące aktywność przeciwwrzodową, przeciwnowotworową *in vitro*, antyneurodegeneracyjną.

### 1. LEKI ZAWIERAJĄCE W SWOJEJ STRUKTURZE UKŁAD IMIDAZO[4,5-*b*]PIRYDINY

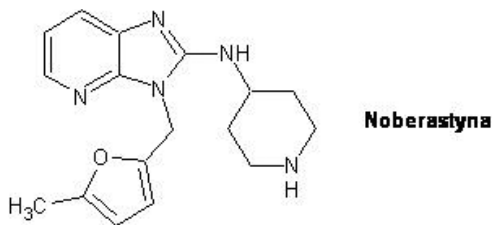
2-[(2-Metoksy-4-metylosulfinylo)-fenylo]-1H-imidazo[4,5-*b*]pirydyna – **Sulmazol** – jest lekiem kardiotonicznym. Należy do inhibitorów fosfodiesterazy cyklicznego adenozyno-monofosforanu (cAMP), jak również jest kompetycyjnym antagonistą receptorów adenozynowych A1 [1]. Taki mechanizm działania sulmazolu, powodujący zwiększenie stężenia jonów wapnia w komórkach mięśnia sercowego prowadzi do wzrostu siły skurczu serca. Lek ma więc działanie inotropowe dodatnie

[2]. Sulmazol był przewidywany jako lek zastępczy dla digoksyny w leczeniu niewydolności serca [3].



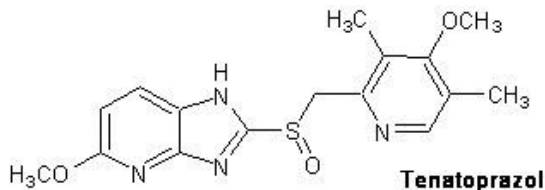
Rysunek 2  
Figure 2

**Noberastyna** – 3-(5-metylo-2-furylometylo)-2-(4-piperidyloimino)-imidazol-[4,5-*b*]pirydyna jest antagonistą receptorów histaminowych H1 [4]. Może być stosowana w zwalczaniu miejscowych objawów alergicznych. W badaniach klinicznych noberastyna wykazała dobre efekty w leczeniu kataru siennego.



Rysunek 3  
Figure 3

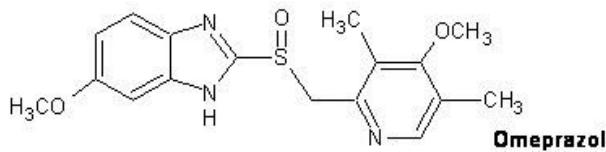
2-[2-(4-Metoksy-3,5-dimetylo)pirydynylometylsulfinylo]-5-metoksyimidazo-[4,5-*b*]pirydyna – **Tenatoprazol** – jest inhibitorem pompy protonowej [5]. Synteza i mechanizm działania farmakologicznego zostanie omówiony poniżej, razem z innymi związkami o aktywności przeciwwrzodowej.



Rysunek 4  
Figure 4

## 2. POCHODNE IMIDAZO[4,5-*b*]PIRYDINY O AKTYWNOŚCI PRZECIWRZODOWEJ

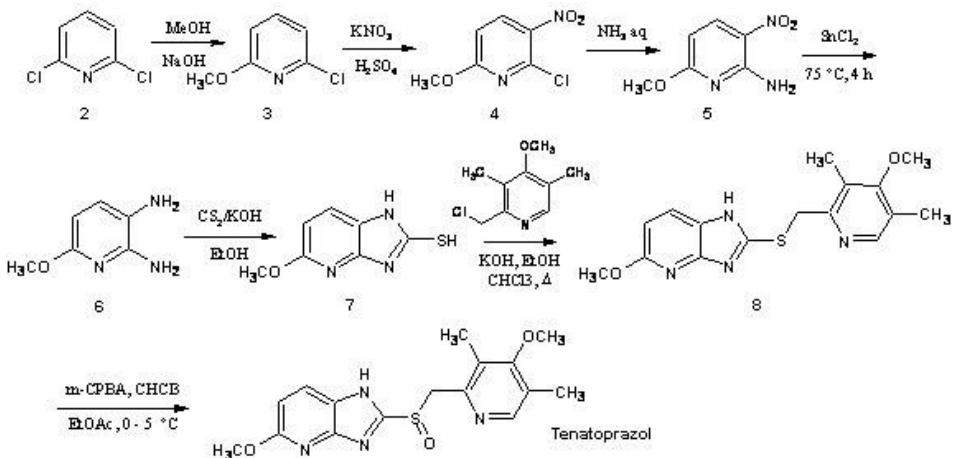
Jednym z głównych czynników sprzyjających rozwojowi choroby wrzodowej jest zakażenie wywołane przez bakterie *Helicobacter pylori*, która jest aktywna w środowisku kwaśnym. Najczęściej stosowaną grupą preparatów w terapii wielu chorób wrzodowych są nieodwracalne inhibitory pompy protonowej. Mechanizm ich działania polega na hamowaniu  $H^+/K^+$ -ATPazy przez kowalencyjne wiązanie reszty cysteinowej tego enzymu [6], co powoduje zmniejszenie wydzielanie do światła żołądka jonów wodorowych. Jednym z częściej stosowanych leków jest Omeprazol.



Rysunek 5  
Figure 5

Tenatoprazol – azaanalog omeprazolu, otrzymany przez Matsuishi i in. [5] wykazuje 2-4-krotnie skuteczniejsze działanie długoterminowe.

Badania: przedkliniczne *in vitro*, na zwierzętach oraz kliniczne przeprowadzone na zdrowych ochotnikach potwierdziły, że Tenatoprazol ma dłuższy okres półtrwania, od stosowanych już inhibitorów  $H^+/K^+$ -ATPazy. Dzięki temu wydłuża się jego antysekrecyjna aktywność, zmniejsza się wydzielanie kwasu solnego a podwyższenie pH w żołądku zaobserwowano również w godzinach nocnych [7].

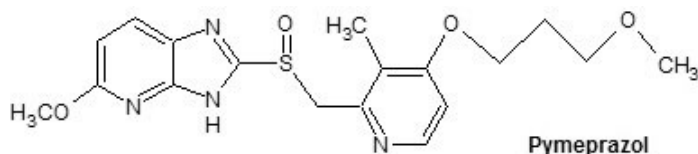


Schemat 1  
Scheme 1

Synteze tenatoprazolu „one-pot” przedstawił w swojej pracy Sripathi i in. [8]. Reakcje prowadzono w wodzie, zgodnie z zasadami zielonej chemii. Otrzymano produkt z dużą wydajnością i o wysokiej czystości.

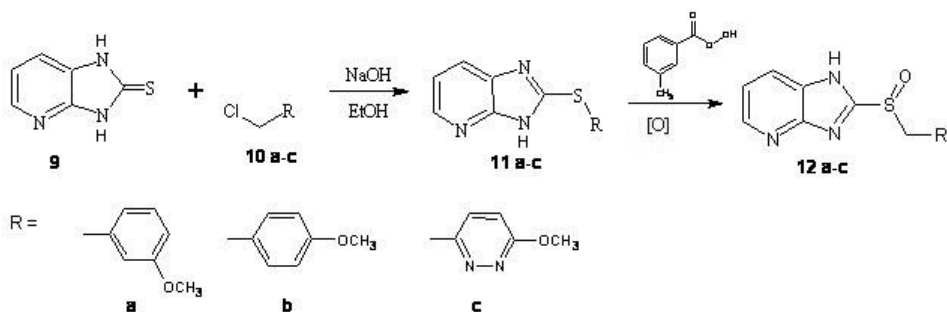
Mimo wprowadzenia do leczenia Omeprazolu i Tenatoprazolu w wielu ośrodkach badawczych, nadal prowadzone są prace nad poszukiwaniem nowych związków – inhibitorów pompy protonowej, pozbawionych niepożądanych działań ubocznych. Syntezy polegają na modyfikacji struktury chemicznej tenatoprazolu, głównie na zamianie podstawników w pozycji 2, lub otrzymywaniu związków policyklicznych.

Zamiana podstawnika metoksyowego w pozycji 4 pierścienia pirydynowego w Tenatoprazolu, na ugrupowanie 3-metoksypropoksyłowe, doprowadziła do otrzymania Pymeprazolu, leku o dobrej biodostępności po podaniu doustnym [6]. Charakteryzował się znaczną aktywnością hamującą  $H^+/K^+$ -ATPazę, jednak w badaniach *in vitro* był bardziej toksyczny niż Omeprazol.

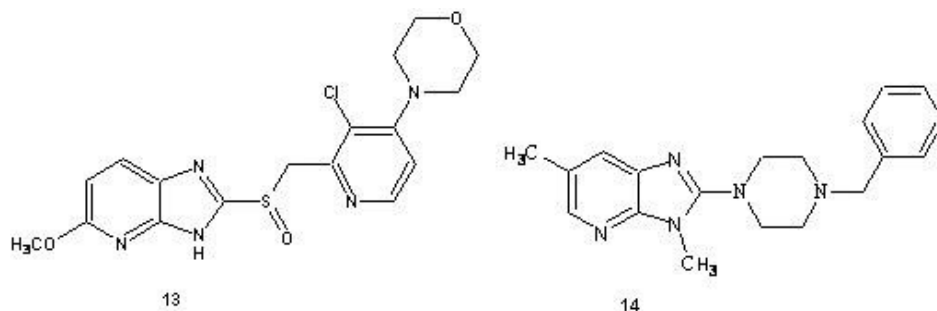


Rysunek 6  
Figure 6

Piras i in. [9] opisali syntezę szeregu 2-arylometylo-sulfinylopo pochodnych imidazo[4,5-*b*]pirydyny **12 a-c** o takim samym mechanizmie działania jak Omeprazol.



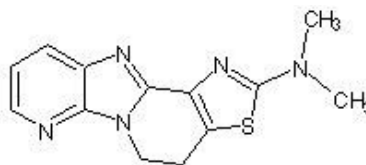
Z serii otrzymanych przez Zimmermana i in. [10] związków najwyższą aktywność antysekrecyjną, przy dobrym profilu farmakokinetycznym, wykazywała 5-metoksy-2-[(3-chloro-4-morfolino-pirydyn-2-yl)metylosulfinylo]-3H-imidazo[4,5-*b*]pirydyna (**13**). Podobne działanie wykazywała benzylopiperazynowa pochodna **14**, opisana przez Jansena [11].



Rysunek 7

Figure 7

2-Dimetyloamino-4,5-dihydrotiazolo[4,5:3,4]pirydo[1,2-*a*]pirydo[3,2-*d*]imidazol (**15**), opisany przez Yoo i in. [12], w przeprowadzonych testach biologicznych wykazywał wyższe powinowactwo do  $H^+/K^+$ -ATPazy niż Omeprazol stosowany jako związek referencyjny. Wzmacniał również czynniki obronny układu pokarmowego.

**15**

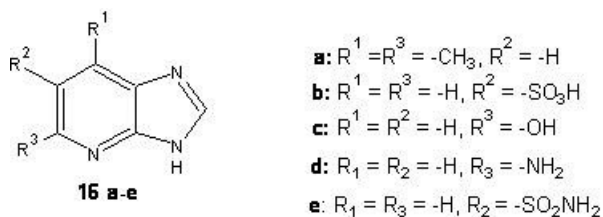
Rysunek 8

Figure 8

### 3. POCHODNE IMIDAZO[4,5-*b*]PIRYDINY O AKTYWNOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWEJ

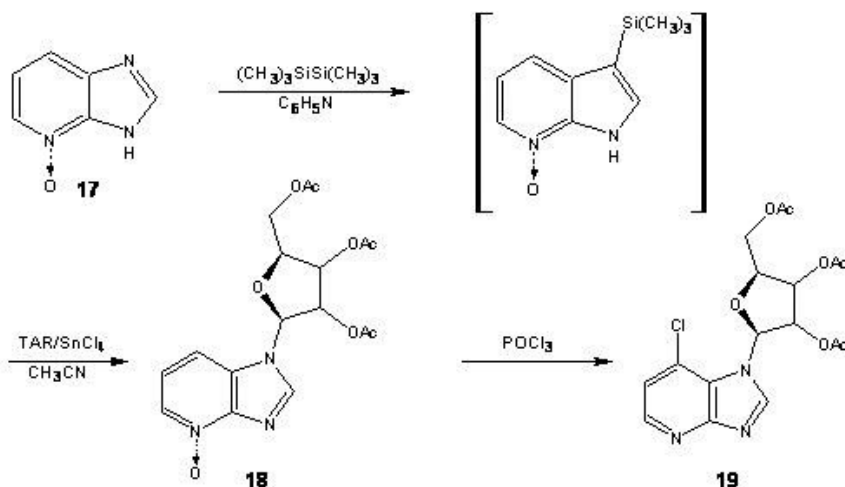
Pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydiny ze względu na podobieństwo strukturalne do puryn, mogą być ich antymetabolitami. Antymetabolity wbudowują się w miejsce jednostek budulcowych – puryn, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania komórek [13]. Gwałtownie rosnąca tkanka nowotworowa, pobiera więcej antymetabolitu i dlatego w większym stopniu zostaje uszkodzona.

Graboyes i Day [14] otrzymali szereg pochodnych **16a-e** imidazo[4,5-*b*]pirydiny o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*.



Rysunek 9  
Figure 9

Z serii nukleozydów działających jako antymetabolity puryn, najwyższą aktywność wykazywała 7-chloro-1-(2-acetoksymetylo-3,5-diacetoksy- $\beta$ -D-rybofuranozyl)-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pirydyna (**19**) otrzymana przez Itoh i in. [15].

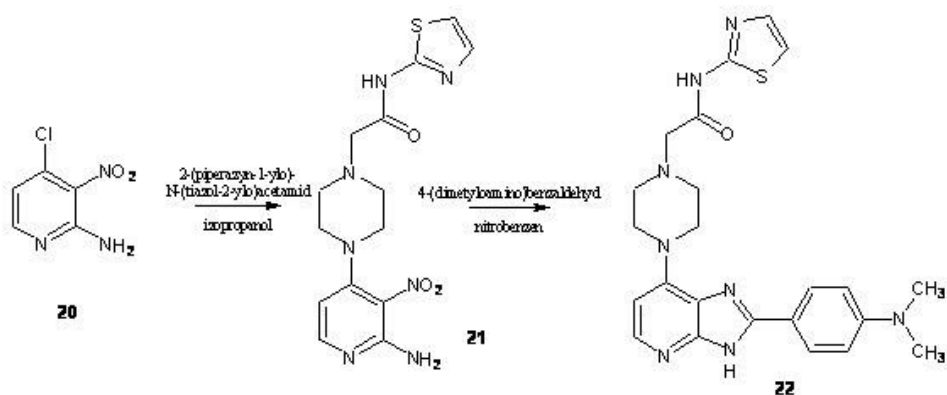


Schemat 3  
Scheme 3

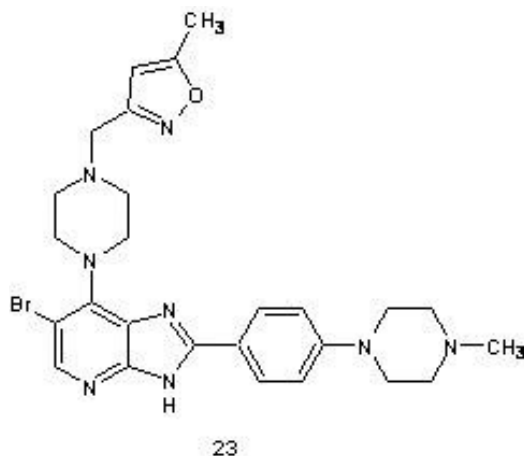
Kinazy Aurora to grupa serynowo-treoninowych enzymów odpowiedzialnych za kontrolę procesu mitozy i mejozy w komórkach ssaków. Aktualnie zidentyfikowano trzy rodzaje enzymów Aurora: A, B i C. Kinazy te ze względu na mutację komórek zmienionych nowotworowo, są nadprodukowane w wielu rodzajach nowotworów np.: piersi, jajnika, okrężnicy czy jąder. Stwierdzono, że hamowanie aktywności wymienionych wyżej kinaz powoduje zaburzenie tworzenia się wrzeciona podziałowego, co w konsekwencji może być wykorzystane w terapii nowotworowej [16].

Inhibitorem kinaz Aurora, wykazującym najwyższą zdolność hamowania proliferacji komórek raka jelita grubego *in vitro* był związek **22**, zsyntezowany i przebadany przez Bavetsias i in. [17].



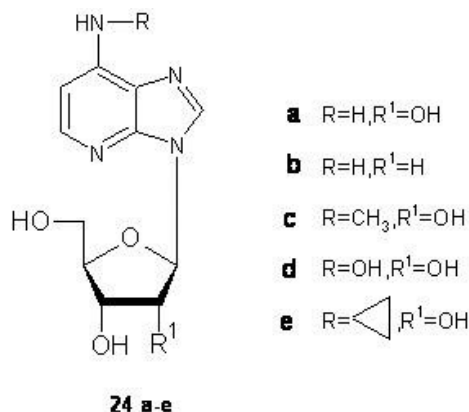


Taką samą aktywność biologiczną wykazywał także związek **23**, który charakteryzował się wysoką biodostępnością po podaniu *per os* (doustnie). W badaniach *in vivo* hamował wzrost komórek raka okrężnicy przy braku toksyczności, definiowanej przez spadek masy ciała [18]. Oprócz działania przeciwnowotworowego, wykazywał małą aktywność hamującą wobec cytochromu P-450.



Rysunek 10  
Figure 10

Deaminaza adenozykowa (ADA) jest enzymem katalizującym przemianę adenozyne do inozyne. Pełni istotną rolę w różnicowaniu i dojrzewaniu komórek układu limfatycznego. Hamowanie aktywności tego enzymu może być wykorzystywane w leczeniu białaczek i chłoniaków. Inhibitorami deaminazy adenozykowej są zmodyfikowane nukleozydy: 1-deazaadenozyne czyli 3- $\beta$ -D-rybofuranozylo-7-amino-3H-imidazo[4,5-*b*]pirydyna (**24a**) [19] oraz pochodne **24 b-e** [20].

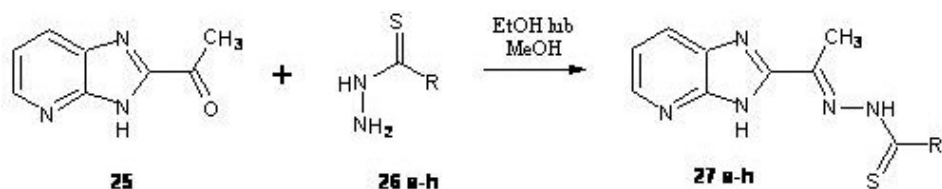


Rysunek 11

Figure 11

Reduktaza rybonukleotydowa (RNR) jest enzymem, z grupy redukaza, który bierze udział w syntezie deoksyrybonukleotydów, redukując difosforany nukleotydów. Ze względu na jej wysoką aktywność w komórkach nowotworowych jest atrakcyjnym celem chemioterapii. Enzym ten wykazuje silne oddziaływanie na czynniki wzrostu nowotworu.

Obecność ugrupowań tiosemikarbazydowych w pozycji 2 cząsteczek imidazo[4,5-*b*]pirydyny warunkuje, według Mylonasa i Mammalisa [21], wysoką aktywność przeciwnowotworową związków **27a-h**. Związki te są inhibitorami reduktazy rybonukleotydowej. Wykazują one pewną specyficzność, na przykład **27g** hamowała rozrost komórek czerniaka, pochodna **27e** raka jajnika.

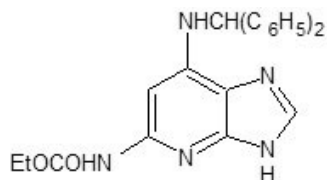


<b>27</b>	R	<b>27</b>	R
<b>a</b>	-NH <sub>2</sub>	<b>e</b>	-NHC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
<b>b</b>	-NHCH <sub>3</sub>	<b>f</b>	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
<b>c</b>	-NHCH(CH <sub>3</sub> )	<b>g</b>	-4-chlorofenylamino
<b>d</b>	-NHCH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	<b>h</b>	-4-nitrofenylamino

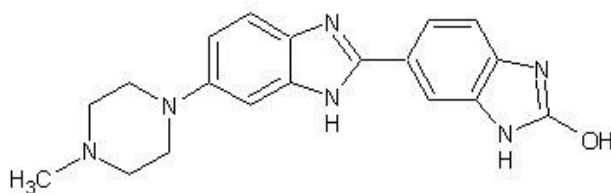
Schemat 5

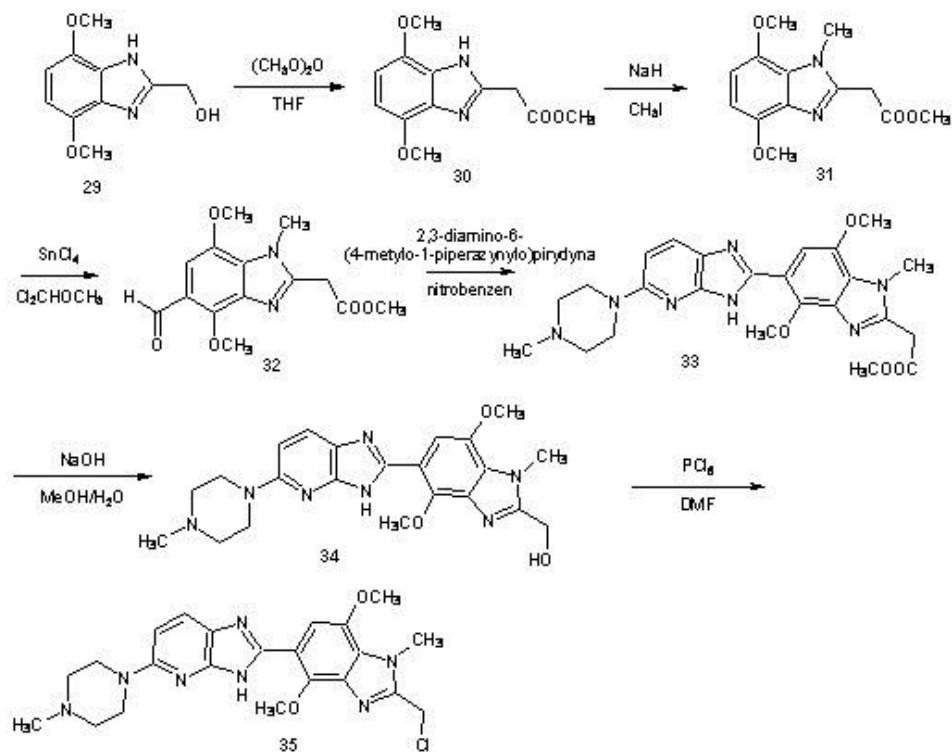
Scheme 5

Temple i in. [22] otrzymali związek **28** o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym.

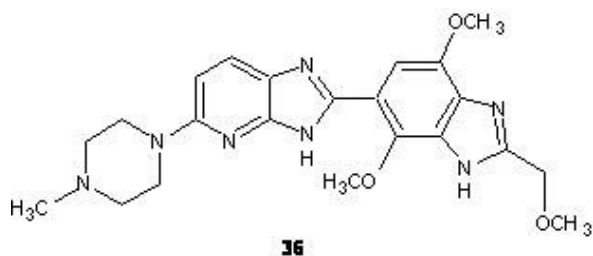
**28**Rysunek 12  
Figure 12

Blokerem podziału DNA komórek nowotworowych była 5-(4-metylo-1-piperazylo)-2-[(2-chlorometylo-1-metylo-4,7-dimetoksybenzimidazoilo)]-imidazo[4,5-*b*]pirydyna (**35**), otrzymana przez Singh i Lown [23], będąca azaanalogiem barwnika fluorescencyjnego HOECHST 33258 (2'-(4-hydroksyfenyleno)-5-(4-metylo-1-piperazylo)-2,5'-bis-1*H*-benzimidazol).

**HOECHST 33258**Rysunek 13  
Figure 13

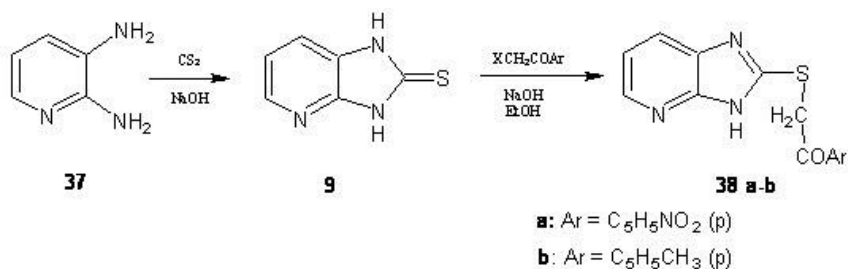


Ci sami autorzy, kontynuując syntezy i testy antyproliferacyjne *in vitro*, uzyskali następny azaanalog barwnika fluorescencyjnego HOECHST 33258 – związek **36**, który wykazał powinowactwo do wewnątrzkomórkowego DNA [24].



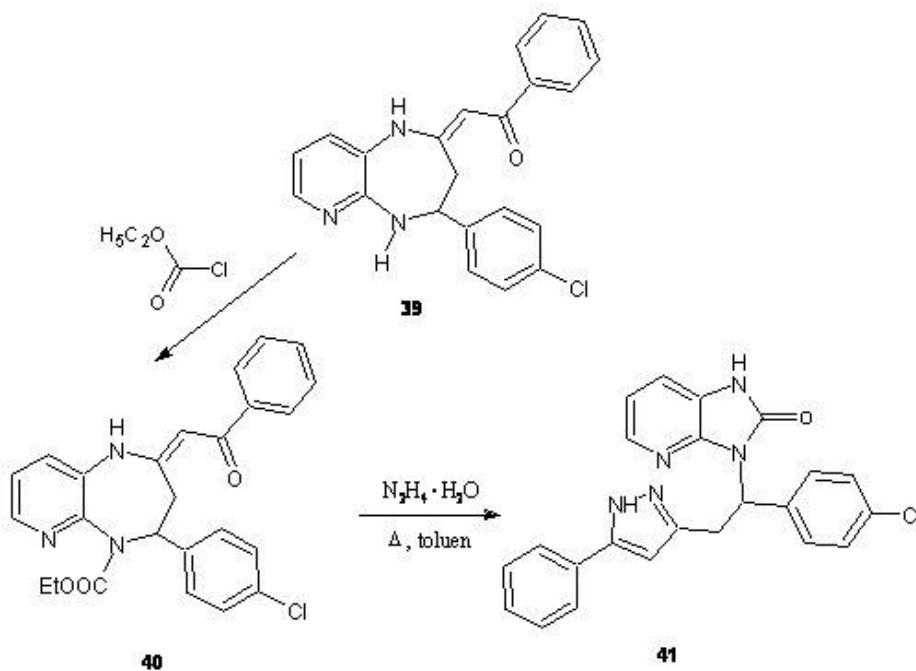
Rysunek 14  
Figure 14

Liszkiewicz i in. [25] otrzymali szereg pochodnych imidazo[4,5-*b*]pirydyny o działaniu antyproliferacyjnym *in vitro* wobec komórek raka piersi, a najwyższą aktywność wykazywały pochodne **38 a i b**.



Schemat 7  
Scheme 7

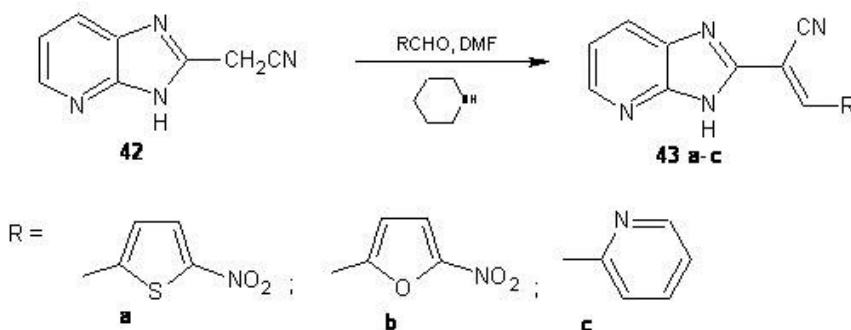
Kontynuując syntezy Liszkiewicz i in. [26] w wyniku konwersji układu tetrahydropirydo[2,3-*b*][1,4]diazepiny **40** otrzymały 3-(1-(*p*-chlorofenyleno)-2-(5-fenyl-1H-pirazol-3-yl)-etylo)-1,3-dihydroimidazol[4,5-*b*]pirydyn-2-on (**41**). W badaniach *in vitro* wykazywał on aktywność cytotoksyczną wobec ludzkich komórek nowotworowych: białaczki (HL-60), gruczolaka odbytnicy (SW-707), raka pęcherza moczowego (HCV-295), mięsaka macicy (MES-SA) i raka wątroby (HepG2).



Schemat 8  
Scheme 8

Właściwości cytotoksyczne *in vitro* i przeciwbakteryjne wobec *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* wykazywała seria 2-(3-H-imidazo[3,4-*b*]piry-

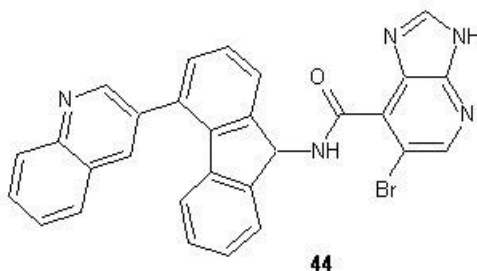
dyn-2-ylo)akrylonitryli **43 a-c** otrzymana przez Sączewskiego i in. [27]. W testach *in vitro* związki te powodowały zaburzenia podziału komórek rakowych w fazach G0/G1 oraz G2/M.



Schemat 9  
Scheme 9

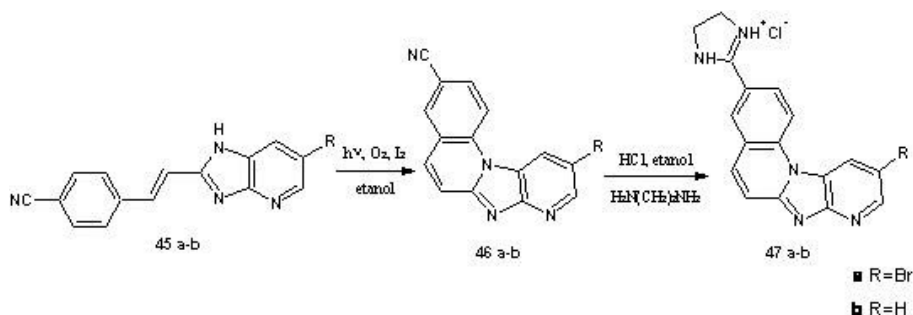
Białko HSP90 należy do rodziny cząsteczek opiekuńczych o właściwościach antyapoptotycznych. W warunkach fizjologicznych indukcja białek HSP następuje w odpowiedzi na zaistniałe czynniki stresowe: temperaturę, podwyższone stężenie jonów metali ciężkich, trucizny metaboliczne, wirusy czy bakterie [28]. W komórkach nowotworowych występuje nadekspresja białka HSP 90. Inhibitory ATP-azy HSP90 indukują proces apoptozy w komórkach rakowych, co powoduje utratę nieśmiertelności tych komórek.

Pochodna imidazo[4,5-*b*]pirydyny **44** jest inhibitorem ATP-azy białka szoku termicznego (HSP90) [29].



Rysunek 15  
Figure 15

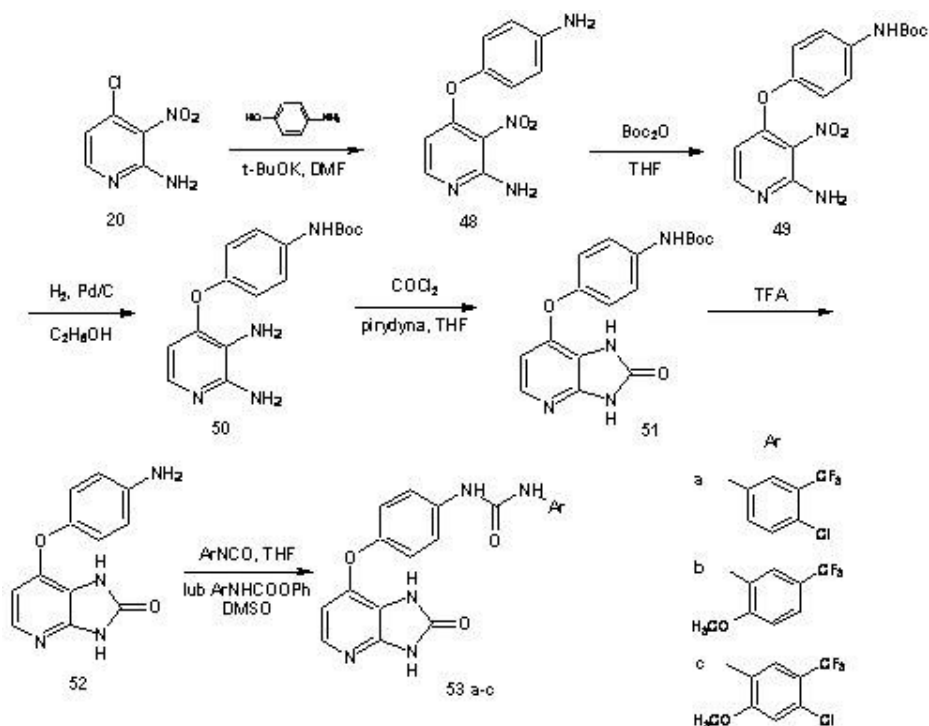
Zespół chorwackich badaczy [30] opublikował pracę dotyczącą aktywności biologicznej pochodnych imidazo[4,5-*b*]pirydyny. Testy *in vitro* potwierdziły silne działanie cytostatyczne *in vitro* na ludzkich komórkach nowotworowych, w sposób zależny od dawki. Związki **47a-b** indukowały apoptozę komórki, poprzez wiązanie się z cząsteczką DNA.



Schemat 10  
Scheme 10

Kinaza BRAF jest zmutowaną kinazą serynowo-treoninową RAF, która powstaje wskutek mutacji polegającej na zamianie waliny w pozycji 600 na kwas glutaminowy. Ta zamiana powoduje 500-krotny wzrost aktywności kinazy. Kinaza BRAF wchodzi w skład szlaku sygnałowego MAPK, który uczestniczy w regulacji wzrostu i różnicowania komórek oraz ich proliferacji w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne [31]. Czerniak, rak jajnika, tarczycy i jelita grubego charakteryzują się nadekspresją kinazy BRAF. Nowotwory te są odporne na powszechnie stosowane leki cytotoksyczne i bardzo szybko dają przerzuty do innych tkanek.

Inhibitorem BRAF są pochodne imidazo[4,5-*b*]pirydyny **53a-c** [32].



Schemat 11  
Scheme 11

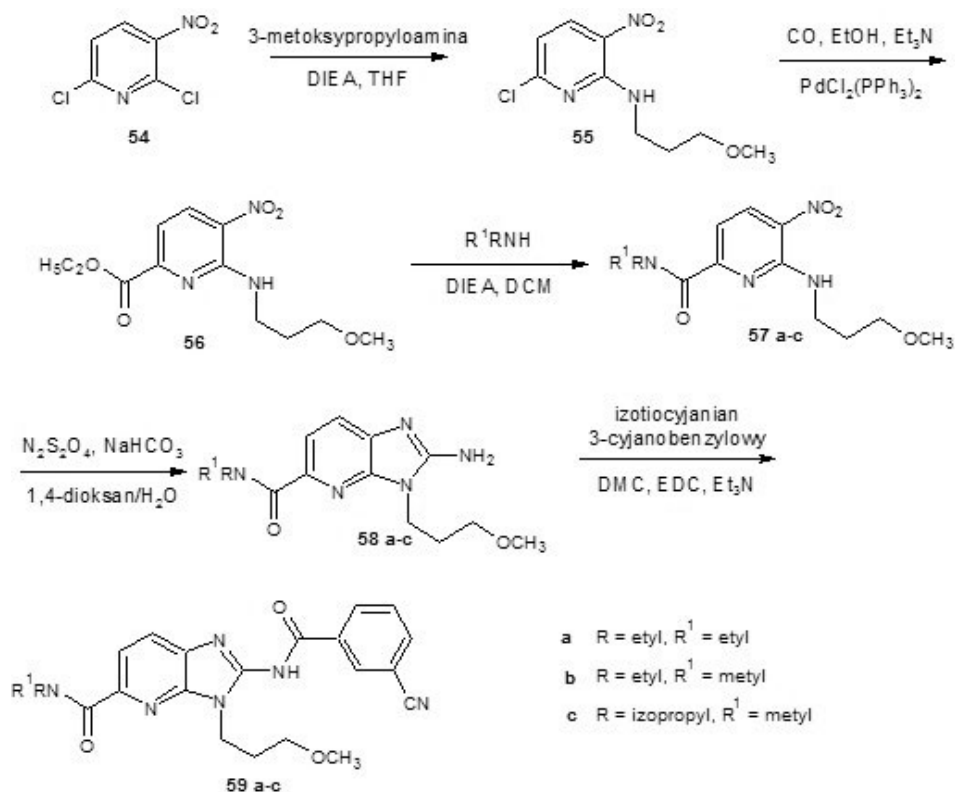
#### 4. POCHODNE IMIDAZO[4,5-*b*]PIRYDINY O AKTYWNOŚCI ANTYNEURODEGENERACYJNEJ

Do chorób neurodegeneracyjnych zalicza się, między innymi choroby: Parkinsona, Alzheimer, płasawicę Huntingtona oraz stwardnienie rozsiane. Charakteryzują się one postępującym obumieraniem neuronów w określonych obszarach mózgu, co w konsekwencji prowadzi do zaburzenia równowagi biochemicznej w układzie nerwowym.

Adenozyna jest neuroprzekaznikiem hamującym aktywność neuronalną. Wiąże się z czterema podtypami receptorów adenozynowych:  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  i  $A_3$ . Receptory  $A_{2A}$ , znajdujące się w prążkowie (część kresomózgowia), modelują aktywność neuronów dopaminergicznych [33]. Ich uszkodzenie powoduje niedoczynność układu dopaminergicznego i rozwój choroby Parkinsona. Antagoniści receptora  $A_{2A}$  powodują wzrost aktywności neuronów dopaminergicznych, poprzez hamowanie wpływu adenozyny.



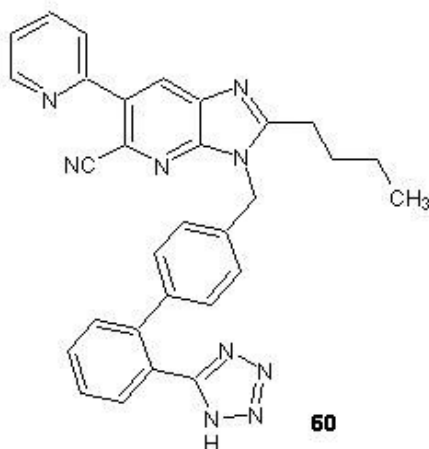
Inhibitorami receptorów adenozynowych  $A_{2A}$  były związki **59a-c**, otrzymane McGuinness i in. [34]. Mogą one być wykorzystane w leczeniu choroby Parkinsona.



Schemat 12  
Scheme 12

Nieneuronalne komórki mikroglejowe o właściwościach immunologicznych, uczestniczą w utrzymaniu homeostazy układu nerwowego. Uszkodzenie mózgu lub infekcja może doprowadzić do nadmiernego pobudzenia mikrogleju a przez to do uruchomienia postępującego procesu neurodegeneracji [35].

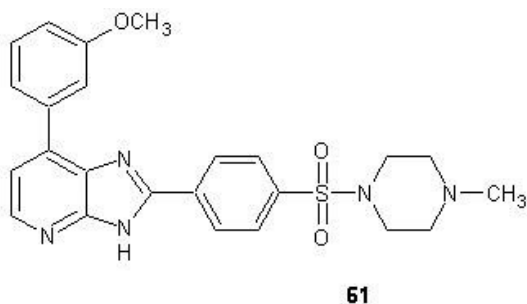
Pochodna imidazo[4,5-*b*]pirydyny **60** (KR-31360) hamuje nadaktywny mikroglej, poprzez zmniejszenie wydzielania mezoglejowego tlenu azotu i czynników prozapalnych (tj.  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$ ) [36]. Związek ten działał neuroprotekcynie w modelu neurozapalnym *in vivo* i, według autorów, ma szansę być stosowany w leczeniu chorób neurozapalnych.



Rysunek 16  
Figure 16

Kinaza syntazy glikogenu-3 (GSK 3), należąca do grupy kinaz serynowo-treoninowych, odpowiada za fosforylację białek m.in. białka tau czy dehydrogenazy pirogronianowej [37]. Zmiany aktywności GSK-3 obserwuje się w chorobie Alzheimera, a ostatnie wyniki badań wskazują na jej znaczenie w chorobie Parkinsona. Zwiększona aktywność GSK 3 prowadzi do powstania hiperfosforylowanego białka tau, które tworzy wewnątrz neuronów agregaty (splątki neurofibrylarne), przyspieszające obumieranie neuronów.

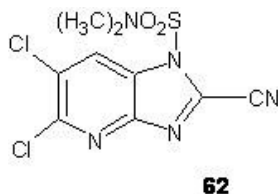
Zdolność hamowania kinazy syntazy glikogenu 3 posiada 7-(3-metoksyfenyleno)-2-(4-((4-metylopiperazyn-1-ylo)sulfonylo)-fenyleno)-3H-imidazo[4,5-*b*]pirydyna (**61**), otrzymana przez Arvidsson'a i in. [38].



Rysunek 17  
Figure 17

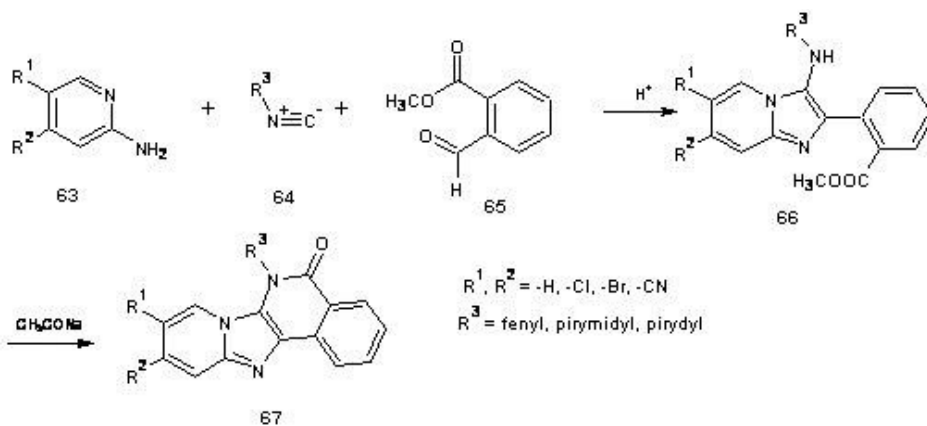
## 5. POCHODNE IMIDAZO[4,5-*b*]PIRYDINY O RÓŻNEJ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ

Wysoką **aktywność przeciwgrzybiczą** wykazywał związek **62**, otrzymany przez Giraudona i in. [39].



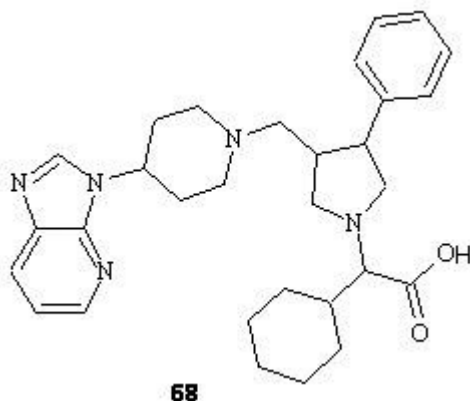
Rysunek 18  
Figure 18

Związki policykliczne, pochodne 3,4-dihydroimidazo[4,5-*b*]pirydyn-5-onów **67** [40], wykazywały w badaniach *in vitro* i *in vivo* **aktywność przeciw wirusowi HIV**. Hamowały one odwrotną transkryptazę zmutowanych szczepów wirusa HIV opornych na leki antyretrowirusowe.

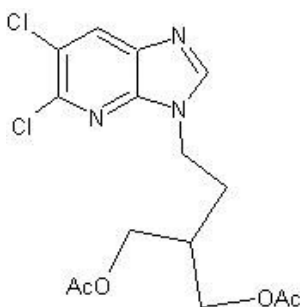


Schemat 13  
Scheme 13

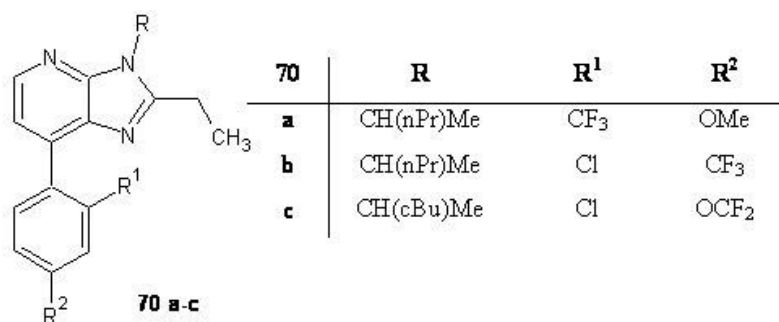
Antagonistą receptora CCR5 była pochodna **68** otrzymana przez Kim'a i in. [41]. Receptor CCR5 jest koreceptorem koniecznym do fuzji wirusa do komórki. W badaniach genetycznych wykryto, że osoby z mutacją genu kodującego CCR5, powodującą zmniejszenie występowania tego receptora na powierzchni komórek, są wysoce odporne na infekcje wywołane wirusem HIV-1, a zainfekowani wykazują znaczne opóźnienie rozwoju AIDS.

**68**Rysunek 19  
Figure 19

Najwyższą aktywność **przeciw wirusowi cytomegalii, wirusowi *Herpes simplex* oraz wirusowi półpaśca** wykazał związek **69**, otrzymany przez Cundy i in. [42]. Odczyn zapalny wywołany przez miejscowe lub uogólnione zakażenie wirusami cytomegalii lub opryszczki może być częściowo odpowiedzialny za powstawanie miażdżycy.

**69**Rysunek 20  
Figure 20

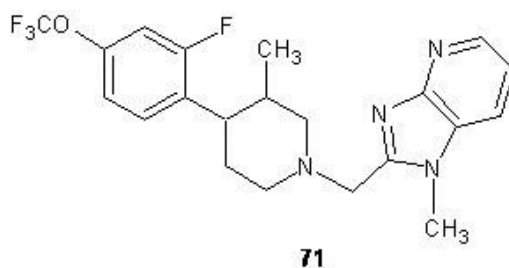
Arvanitis i in. [43] zsyntezowali serię **pochodnych 70a-c** o potencjalnym **działaniu anksjolitycznym (przeciwlękowym)**. Ich mechanizm działania polegał na blokowaniu działania kortykoliberyny (CRH). Hormon ten wzmacnia wydzielanie kortykotropiny przysadkowej i kortyzolu w nadnerczach. Hamowanie aktywności CRH może prowadzić do tłumienia lęku i objawów depresji [44].



Rysunek 21

Figure 21

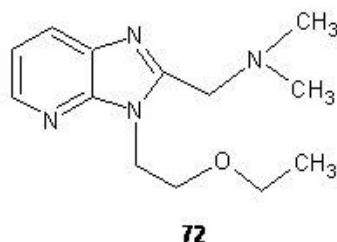
**Działanie przeciwpsychotyczne** wykazał związek **70** otrzymany przez Zhanga i in. [45].



Rysunek 22

Figure 22

**Aktywności przeciwalergiczną i przeciwhistaminową** wykazywała 3-etoksyetylo-2-*N,N*-dimetyloaminometyloimidazo[4,5-*b*]pirydyna (**72**), którą opatentowali Giani i in. [46].

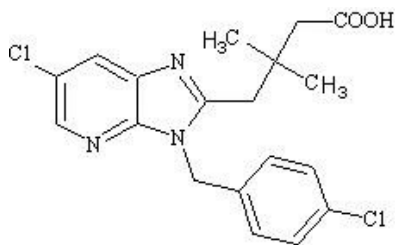


Rysunek 23

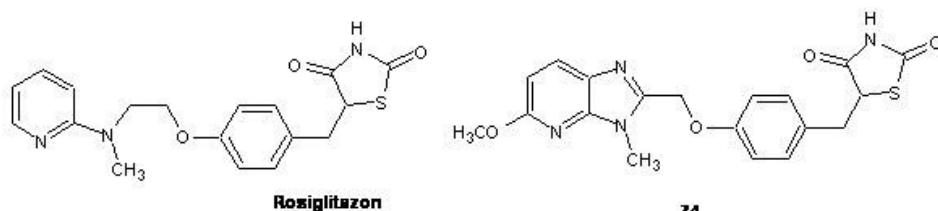
Figure 23

**Działanie antyagregacyjne** płytek krwi wykazuje związek **73** [37]. Jest antagonistą receptora tromboksanu (TXA<sub>2</sub>) [47]. TXA<sub>2</sub> jest jednym z głównych metabolitów powstających w kaskadzie przemian kwasu arachidonowego. Jego działanie

polega na kurczeniu mięśni gładkich naczyń krwionośnych i wpływie na agregację trombocytów.

**73**Rysunek 24  
Figure 24

Japońscy naukowcy [48] otrzymali 5-[4-(5-metoksy-3-metylo-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pirydyn-2-ylometoksy)benzylo]-tiazolidyn-2,4-dion (74), analog leku przeciwcukrzycowego – Rosiglitazonu. W badaniach odznaczał się dobrą dostępnością biologiczną i aktywnością hipoglikemiczną po podaniu *per os*, przy braku działań niepożądanych.

**Rosiglitazon****74**Rysunek 25  
Figure 25

## PODSUMOWANIE

Na świecie zarejestrowano kilka leków o różnorodnym działaniu farmakologicznym, zawierających w swej budowie układ imidazo[4,5-*b*]pirydyny. Są to: Norblastyna o działaniu przeciwhistaminowym, Tenatoprazol o aktywności przeciwwrzodowej i Sulmazol działający inotropowo dodatnio.

W pracy przedstawiono wybrane syntezy chemiczne, struktury i mechanizmy działania pochodnych imidazo[4,5-*b*]pirydyny aktywnych przeciwwrzodowo, przeciwnowotworowo *in vitro*, antyneurodeneneracyjnie oraz przeciwcukrzycowo. Pochodne te są w różnych fazach badań i niektóre z nich mają szansę znaleźć zastosowanie w medycynie.

## PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] W.J. Parsons, V. Ramkumar, G.L. Stiles, *Mol. Pharmacy*, 1988, **33**, 441.
- [2] M. Zajęc, E. Pawełczyk, A. Jelińska, *Chemia leków*, Wydawnictwo Naukowe Akademii Medycznej w Poznaniu, 2006.
- [3] P. Barraclough, J.W. Black, D. Cambridge, D. Collard, D. Firmin, V.P. Gerskowitch, R.C. Glen, H. Giles, A.P. Hill, R.A.D. Hull, R. Iyer, W.R. King, C.O.Kneen, J.C. Lindon, M.S. Nobbs, P. Randall, G.P.Shah, S. Smith, S.J. Vine, M.V. Whiting, J.M. Williams, *J. Med. Chem.* 1990, **33**, 2231.
- [4] M.M.L. Janssens, P.H. Howarth, *Clin. Rev. Allergy*, 1993, **11**, 111.
- [5] N. Matsuishi, H. Takeda, K. Izumi, K. Murakami, A. Hisamitsu, patent US 4808596; [www.ip.com](http://www.ip.com) (accessed 10.03 2012).
- [6] Y. Mao, X. Zhang, L. Li, B. Yuan, G. Lu, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2008, **50**, 75.
- [7] J.P. Galmiche, S. Bruley Des Varannes, P. Ducrotté, S. Sacher-Huvelin, F. Vavasseur, A. Taccoen, P. Fiorentini, M. Homerin, *Aliment Pharmacol. Ther.*, 2004, **19**, 655.
- [8] S. Sripathi, R.R. Bojja, V.R. Karnati, V.V.N.K.V. Prasada Raju, M.D. Khunt, *Org. Process Res. Dev.*, 2009, **13**, 804.
- [9] S. Piras, M. Loriga, G. Paglietti, *Il Farmaco*, 1993, **48**, 1249.
- [10] P.J. Zimmermann, Ch. Brehm, A. Palmer, M.V. Chiesa, W.A. Simmon, S. Postius, W. Kromer, E. Sturm, W. Buhr, WO 2005/123730, 2005, CA. **144**, 88289.
- [11] F.E. Janssens, J.E.G. Guillemont, F.M. Sommen, J.F. Bonfanti, WO 2008/090200, CA: 2008, **149**, 200952.
- [12] H.Y. Yoo, K.J. Chung, M.S. Chang, S.G. Kim, W.S. Choi, D P. Kang, J.M. Lee, J.H. Paek, K.B. Kim, S.H. Park, Y.H. Kim, K.H. Seo, patent WO/1997/003077, [www.ip.com](http://www.ip.com) (accessed 21.04. 2012).
- [13] W. Janiec, *Farmakodynamika*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2008.
- [14] H. Graboyes, A.R. Day, *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 6421.
- [15] T. Itoh, K. Ono, T. Sugawara, Y. Mizuno, *J. Heterocycl. Chem.*, 1982, **19**, 513.
- [16] P. Lan, W.N. Chen, W.M. Chen, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 77.
- [17] V. Bavetsias, C. Sun, N. Boulouc, J. Reynisson, P. Workman, S. Linardopoulos, E. MacDonald, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 6567.
- [18] V. Bavetsias, J.M. Large, C. Sun, N. Boulouc, M. Kosmopoulou, M. Matteucci, N.E. Wilsher, V. Martins, J. Reynisson, B. Atrash, A. Faisal, F. Urban, M. Valenti, *J. Med. Chem.*, 2010, **53**, 5213.
- [19] I. Gillerman, B. Fischer, *J. Med. Chem.* 2011, **54**, 107.
- [20] G. Cristalli, S. Costanzi, C. Lambertucci, G. Lupidi, S. Vittori, R. Volpini, E. Camaioni, *Med. Res. Rev.*, 2001, **21**, 105.
- [21] S. Mylonas, A. Mamalis, *J. Heterocycl. Chem.*, 2005, **42**, 1273.
- [22] C. Temple Jr, B.H. Smith, R.D. Elliott, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, 1973, **16**, 292.
- [23] A.K. Singh, J.W. Lown, *Synth. Commun.*, 1998, **28**, 4059.
- [24] A.K. Singh, J.W. Lown, *Synth. Commun.*, 2000, **30**, 923.
- [25] H. Liszkiewicz, M.W. Kowalska, W. Nawrocka, A. Wójcicka, J. Wietrzyk, A. Nasulewicz, M. Pełczyńska, A. Opolski, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 2003, **12**, 2725.
- [26] H. Liszkiewicz, W.P. Nawrocka, B. Sztuba, J. Wietrzyk, J. Jaroszewicz, A. Nasulewicz, M. Pełczyńska, *Acta Pol Pharm.*, 2011, **68**, 349.
- [27] F. Sączewski, A. Stencel, A.M. Bieńczak, K.A. Langowska, M. Michaelis, W. Werel, R. Hałasa, P. Reszka, P.J. Bednarski, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, **43**, 1847
- [28] A. Kaźmierczuk, Z.M. Kiliańska, *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2009, **63**, 502.
- [29] Y.L. Janin, *Drug Discovery Today*, 2010, **15**, 342.
- [30] M. Hranjec, B. Lučić, I. Ratkaj, S.K. Pavelić, I. Piantanida, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 2748.

- [31] P.T. Wan, M.J. Garnett, S.M. Roe, S. Lee, D. Niculescu-Duvaz, V.M. Good, C.M. Jones, C.J. Marshall, et al., *Cell*, 2004, **116**, 855.
- [32] D. Niculescu-Duvaz, C. Gaulon, H. Dijkstra, I. Niculescu-Duvaz, A. Zambon, D. Menard, B.M.J.M. Suijkerbuijk, A. Nourry, L. Davies, H. Manne, F. Friedlos, L. Ogilvie, D. Hadley, S. Whitaker, R. Kirk, A. Gill, et al., *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 2255.
- [34] D. Turzyńska, A. Skórzewska, A. Sobolewska, A. Płaźnik, *Postępy Psychiatrii i Neurologii*, 2005, **14**, 1.
- [35] B.F. McGinness, A.G. Cole, G. Dong, M.R. Brescia, Y. Shao, I. Henderson, P.G. Wines, E. Quadros, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 6845.
- [36] K. Nakajima, S. Kohsaka, *Neurosci. Res.*, 1993, **17**, 187.
- [37] J. Ock, S. Kim, K.Y. Yi, N.J. Kim, H.S. Han, *Biochem. Pharmacol.*, 2010, **79**, 596.
- [38] G.V. Rayasam, *Br. J. Pharmacol.*, 2009, **156**, 885.
- [39] P.I. Arvidsson, E. Arzel, J. Burrows, M. Claesson, C. Ray, T. Rein, D. Rotticci, P. Soederman, WO 2007/040438, 2007, [www.ip.com](http://www.ip.com).
- [40] R. Giraudon, G. Santini, patent US 4579853, [www.ip.com](http://www.ip.com) (accessed 30.04 2012).
- [41] B.R.R. Kesteleyn, W.B.G. Schepens, K.I.E. Amssoms, WO 2007/113290, 2007, [www.ip.com](http://www.ip.com).
- [42] D. Kim, L. Wang, J.J. Hale, Ch.L. Lynch, R.J. Budhu, M. MacCoss, S.G. Mills, L. Malkowitz, S.L. Gould, J.A. DeMartino, M.S. Springer, D. Hazuda, M. Miller, J. Kessler, R.C. Hrin, G. Carver, A. Carella, K. Henry, J. Lineberhger, W.A. Schleif, E.A. Emini, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 2129.
- [42] D.J. Cundy, G. Holan, M. Otaegui, G.W. Simpson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1997, **7**, 669; J.L. Anderson, J.F. Carlquist, J.B. Muhlestein, et. Al., *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998, **32**, 35.
- [43] A.G. Arvanitis, J.T. Rescinito, C.R. Arnold, R.G. Wilde, G.A. Cain, J.H. Sun, Jia-Sheng Yan, C.A. Teleha, L.W. Fitzgerald, J. McErloy, R. Zaczek, P.R. Hartig, S. Grossman, S.P. Arneric, P.J. Gilligan, R.E. Olson, D.W. Robertson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, **13**, 125.
- [44] W. Kostowski, Z.S. Herman, *Farmakologia, Podstawy farmakoterapii*, Wyd. PZWL, 2005, Wyd. **III**, Tom I-II.
- [45] L. Zhang, M.A. Brodney, J. Candler, A.C. Doran, A.J. Duplantier, I.V. Efremov, E. Evrard, K. Kraus, A.H. Ganong, J.A. Haas, A.N. Hanks, K. Jenza, J.T. Lazzaro, N. Maklad, S.A. McCarthy, W. Qian, B.N. Rogers, M.D. Rottas, C.J. Schmidt, J.A. Siuciak, F.D. Tingley, A.Q. Zhang, *J. Med. Chem.*, 2011, **54**, 1724.
- [46] R. Giani, patent EP 0397615 A3, [www.ip.com](http://www.ip.com) (accessed 22.03 2012).
- [47] E. Nicolai, J. Goyard, T. Benchetrit, J.M. Teulon, F. Caussade, A. Virone, Ch. Delchambre, A. Cloarec, *J. Med. Chem.*, 1993, **36**, 1175.
- [48] M. Oguchi, K. Wada, H. Honma, A. Tanaka, T. Kaneko, S. Sakakibara, J. Ohsumi, N. Serizawa, T. Fujiwara, H. Horikoshi, T. Fujita, *J. Med. Chem.* 2000, **43**, 3052.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 października 2012



## PROTEOLITYCZNY KOMBINAT I JEGO REGULATORY

### THE PROTEOLYTIC MACHINERY AND ITS REGULATORS

**Julia Stój, Przemysław Karpowicz**

*Katedra Chemii Medycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański  
ul. Sobieskiego 18, 80-952 Gdańsk  
e-mail: jstoj@wp.pl, przemek@chem.univ.gda.pl*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Proteasom 20S
2. Kompleksy proteasomu 20S z aktywatorami
3. Mechanizm otwierania bramy proteasomu
4. Mechanizm działania układu ubikwityna – proteasom
  - 4.1. Ubikwitynacja
  - 4.2. Mechanizm proteolizy
  - 4.3. Sygnały do degradacji białek
5. Inhibitory proteasomu
  - 5.1. Małocząsteczkowe inhibitory kompetycyjne
    - 5.1.1. Peptydyloaldehydy
    - 5.1.2. Peptydowe kwasy boronowe
    - 5.1.3. Peptydowe epoksyketony
    - 5.1.4. Peptydowe winylosulfony
    - 5.1.5. TMC-95
  - 5.2. Inhibitory niekompetycyjne
    - 5.2.1. Rytonawir
    - 5.2.2. Peptydy bogate w prolinę i argininę (peptydy PR)
    - 5.2.3. Białko HIV-1 Tat

Piśmiennictwo cytowane

---

**mgr Julia Stój**, absolwentka Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Pracę magisterską pt. „Allosteryczne modulatory aktywności proteasomu oparte o strukturę zasadowej domeny białka Tat” wykonała w Katedrze Chemii Medycznej. Od roku akademickiego 2011/2012 słuchaczka Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemii i Biochemii, podczas których kontynuuje badania nad allosterycznymi modulatorami aktywności proteasomu.

**mgr Przemysław Karpowicz**, absolwent Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, od 2010 roku doktorant Studium Chemii i Biochemii przy Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Swoją pracę naukową realizuje w Katedrze Chemii Medycznej tejże uczelni oraz od 2011 roku w The University of Texas Health Science Center at San Antonio, Institute of Biotechnology, gdzie przebywa na długoterminowym stażu naukowym. Od kilku lat zajmuje się projektowaniem i syntezą peptydów oraz peptydomimetyków zdolnych do allosterycznej modulacji ludzkiego proteasomu 20S.

Główne zainteresowania naukowe to: synteza peptydów i peptydomimetyków, modulacja proteasomu 20S oraz jego zaangażowanie w patogenezę chorób neurodegeneracyjnych i nowotworowych, wykorzystanie spektroskopii sił atomowych (AFM) w badaniu morfologii białek.

## ABSTRACT

One of the proteolytic pathways existing in a cell is ubiquitin- proteasome system (UPS). This highly organized and ATP-dependent system is based on the multi-functional enzyme – the proteasome. Ubiquitin in this pathway plays a role of a tag which marks proteins intended for destruction.

Ubiquitylated proteins are recognized and degraded by the 26S proteasome. It consists of a cylindrical-shaped proteolytic core – the proteasome 20S, and attached to it regulatory particles 19S (Fig. 2). The core is composed of four rings, each of them formed by seven subunits. The inner  $\beta$ -rings harbour active sites (in *Eukaryota* two of each kind: chymotrypsin-like (ChT-L), trypsin-like (T-L) and peptidyl-glutamyl (PGPH)). The outer,  $\alpha$ -rings create a gated channel leading to the catalytic chamber [8]. In a latent proteasome the gate is closed by tightly packed *N*-terminal residues of  $\alpha$  subunits (Fig. 4). Due to such architecture the active sites of the proteasome are not freely available for the substrates. An opening of the gate in physiological conditions occurs after binding the activators such as 11S, 19S or PA200.

By catalysing degradation of proteins, the UPS is deeply involved in regulation of cellular physiology. It is also involved in removing of misfolded or damaged proteins and supports the immune system by generating antigenic peptides. Defects in functioning of this proteolytic system play a causal role in the development of a number of diseases, including inflammation, neurodegenerative diseases and various cancers [2–6] what is the reason why the proteasome has become an important therapeutic target.

Detailed information about the structure, catalytic activities and mechanisms of functioning of the different proteasome complexes existing in cells is essential to understand their role in organisms as well as to develop new compounds which may find pharmaceutical application.

Keywords: proteasome, ubiquitin-proteasome system, inhibitors, allostery

Słowa kluczowe: proteasom, system ubikwityno-proteasomalny, inhibitory, allosteryczność

---

---

## WPROWADZENIE

Białka są podstawowym elementem budulcowym organizmu człowieka, a ich rola i właściwości są bardzo różnorodne. Czas życia każdego białka jest ograniczony i dlatego po spełnieniu swoich funkcji lub w przypadku nadmiaru, czy uszkodzenia, są one eliminowane z komórki w procesach określanych jako degradacja białek. W przypadku organizmów zdrowych codziennie usuwanych jest 3–5% białek, a w stanach patologicznych liczba ta proporcjonalnie wzrasta [1]. Z tego powodu przemiany białek muszą być ściśle kontrolowane.

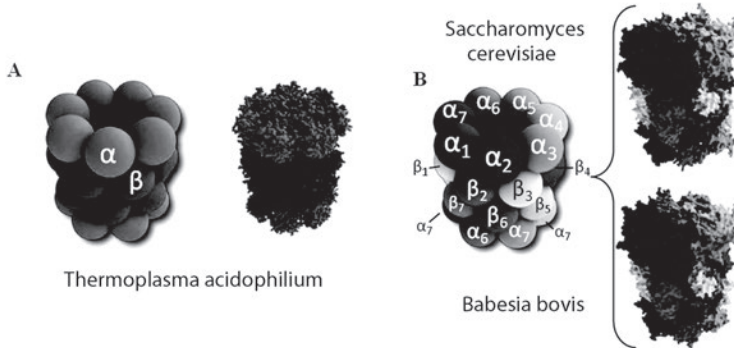
Jednym z systemów proteolitycznych funkcjonujących w komórce jest szlak ubikwityno-proteasomalny (UPS), w którym białka oznakowane przez ubikwitynę kierowane są na ścieżkę degradacji i rozkładane przez wielopodjednostkowe proteazy – proteasomy. W ten sposób degradowane jest ponad 90% białek komórkowych. Proteasomy, poprzez zmianę stężenia i stabilności białek regulatorowych, odgrywają ważną rolę w regulowaniu całego szeregu reakcji biochemicznych, umożliwiając komórce kontrolę takich procesów jak: cykl komórkowy, podział komórek, przewodnictwo komórek nerwowych, supresję nowotworów czy też transkrypcję i replikację DNA [2]. Proteasom pełni także funkcję ochronną usuwając z komórki białka uszkodzone i nieprawidłowo ukształtowane w wyniku mutacji lub pod wpływem czynników zewnętrznych powodujących stres oksydacyjny.

Prawidłowe działanie UPS zapewnia homeostazę między biosyntezą, a degradacją poszczególnych elementów komórki. Zaburzenia w funkcjonowaniu proteasomu mogą powodować nadmierny rozkład białek istotnych dla życia komórki lub hamować degradację uszkodzonych protein, powodując ich kumulację, a tym samym prowadząc do utraty homeostazy. Okazało się, że mechanizm ten jest powiązany z powstawaniem niektórych schorzeń nowotworowych takich jak: rak płuc, okrężnicy, nerki, czy białaczka mieloblastyczna oraz szeregu chorób neurodegeneracyjnych, m.in. choroby Alzheimera, Parkinsona czy płasawicy Huntingtona [3–6]. Z tego powodu podejmowane są próby otrzymywania inhibitorów proteasomu oraz enzymów katalizujących ubikwitynację, które mogłyby zostać wykorzystane w terapii.

### 1. PROTEASOM 20S

Proteasom został odkryty we wszystkich typach komórek eukariotycznych, a także u archebakterii i eubakterii. W komórce zlokalizowany jest przede wszystkim w cytozolu, gdzie jego zawartość szacowana jest na około 1% wszystkich białek komórkowych, a w mniejszych ilościach występuje w strukturach jądrowych oraz retikulum endoplazmatycznym [7]. Proteasom 20S kształtem przypomina wąską tubę lub baryłkę. Zarówno u eukariotów jak i większości prokariotów zbudowany jest z czterech heptametrycznych pierścieni, które przylegają do siebie według schematu  $\alpha\beta\beta\alpha$ . Każdy z pierścieni  $\alpha$  w proteasomie euka-

riotypycznym zbudowany jest z 7 różnych podjednostek  $\alpha$ , a każdy z pierścieni  $\beta$  – z 7 różnych podjednostek  $\beta$ . Proteasom prokariotyczny ma prostszą budowę i zbudowany jest z jednego typu podjednostek  $\alpha$  i jednego rodzaju podjednostek  $\beta$  (Rys. 1) [8].



Rysunek 1. Struktura krystalograficzna proteasomu 20S: A) archeoców (*Thermoplasma acidophilum*): podjednostki  $\beta$  zaznaczono kolorem ciemniejszym, a podjednostki  $\alpha$  – jaśniejszym. B) eukariotów (*Saccharomyces cerevisiae* i *Babesia bovis*): 14 różnych podjednostek  $\alpha$  i  $\beta$  oznaczono różnymi odcieniami szarości [9]

Figure 1. The crystal structure of 20S proteasome of: A) Archaea (*Thermoplasma acidophilum*): Subunits  $\beta$  are shown in dark and  $\alpha$  subunits in bright gray. B) Eukaryote (*Saccharomyces cerevisiae* and *Babesia bovis*): 14 different subunits  $\alpha$  and  $\beta$  are shown in different shades of gray [9]

Zewnętrzne pierścienie  $\alpha$  pozbawione są aktywności proteolitycznej. Ich rola polega na kontrolowaniu dostępu do ukrytych wewnątrz kanału katalitycznego miejsc aktywnych. Przyłączenie do podjednostek  $\alpha$  białek regulatorowych indukuje otwarcie bramy zamykającej wejście do kanału, umożliwiając dostęp substratów do komory katalitycznej i ich degradację [7].

Centra aktywne proteasomu znajdują się na *N*-końcach podjednostek  $\beta$ . Proteasomy prokariotów posiadają wyłącznie jeden typ podjednostek  $\beta$  i dlatego wszystkie wykazują ten sam rodzaj aktywności proteolitycznej – aktywność chymotrypsynopodobną. U eukariotów aktywnością cechują się jedynie trzy podjednostki każdego z pierścieni  $\beta$  –  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  i  $\beta_5$ , przy czym do każdej z podjednostek przypisany jest inny rodzaj aktywności [10]:

- $\beta_5$  wykazuje aktywność chymotrypsynopodobną (ChT-L od ang. *chymotrypsin-like*) hydrolizując wiązania peptydowe występujące po resztach aminokwasowych z rozbudowanym, hydrofobowym łańcuchem bocznym,
- $\beta_2$  cechuje się aktywnością trypsynopodobną (T-L od ang. *trypsin-like*): hydroliza wiązania peptydowego następuje po reszcie aminokwasowej z zasadowym łańcuchem bocznym,
- $\beta_1$  wykazuje aktywność kaspazopodobną (ang. *caspase-like*), zwaną też pokwasową (ang. *postacidic*) lub peptydylo-glutamylową (ang. *peptidyl-glutamyl peptide hydrolyzing*, PGPH): hydroliza wiązania peptydowego następuje po reszcie aminokwasowej z kwasowym łańcuchem bocznym.

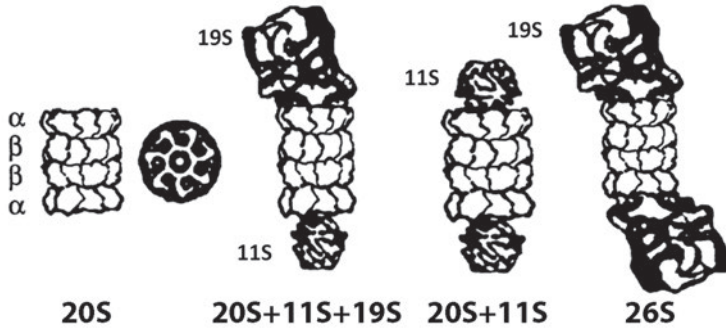
Selektywność podjednostek katalitycznych eukariotycznego proteasomu wynika z budowy kieszeni wiążących. Szczególne znaczenie ma reszta aminokwasowa znajdująca się na dnie kieszeni substratowej S1 – reszta 45 [8]. Preferencja podjednostki  $\beta 1$  do cięcia wiązań po resztach kwasowych wynika z zasadowego charakteru kieszeni S1 związanego z obecnością reszty Arg45. W kieszeni S1 podjednostki  $\beta 2$  znajduje się glicyna (Gly45), reszta aminokwasowa o niewielkich rozmiarach stwarzających miejsce dla łańcuchów bocznych rozgałęzionych aminokwasów. W podjednostce  $\beta 5$  kieszeń S1 ma charakter apolarny wynikający z obecności metioniny (Met45), co tłumaczy aktywność chymotrypsynopodobną tej podjednostki [10]. Coraz częściej, w przypadku ssaków, wyróżnia się także dwie inne peptydazowe aktywności, wiążące się z hydrolizą wiązania peptydowego pomiędzy małymi, obojętnymi resztami aminokwasowymi (ang. *small neutral amino acid-preffering*, SNAAP) lub po resztach aminokwasowych z rozgałęzionymi łańcuchami bocznymi (ang. *branched-chain amino acid-preffering*, BrAAP) [11, 12]. Aktywności te przypisywane są odpowiednio podjednostkom  $\beta 1$  i  $\beta 5$ .

Zróznicowana budowa miejsc aktywnych proteasomu sprawia, że jest on zdolny do zhydrolizowania niemal każdego wiązania w łańcuchu peptydowym. W przeciwieństwie do większości proteaz, które tną polipeptydy na dwa fragmenty, proteasomy hydrolizują białkowe substraty w wielu miejscach, powodując powstawanie oligopeptydów o długości od 3 do 25 reszt aminokwasowych, ze średnią ilością od 8 do 12 reszt w łańcuchu [13].

## 2. KOMPLEKSY PROTEASOMU

Istnieją trzy klasy ligandów, które wiążą się z zewnętrznymi pierścieniami  $\alpha$  proteasomu 20S i aktywują podjednostki katalityczne: regulator 19S (PA700) oraz aktywatory 11S (PA28/REG) i PA200 (Blm10). Do proteasomu 20S może przyłączyć się jedna cząstka regulatorowa 19S lub dwie cząstki, tworząc w ten sposób kompleks o nazwie 26S (około 2500 kDa) [7]. Z częścią rdzeniową może także asocjować białko multimetryczne zwane aktywatorem 11S [14]. W niektórych tkankach i typach komórek kompleks 19S–20S może łączyć się z 11S. Wyniki badań pokazują, że przyłączenie aktywatora 11S wpływa na specyficzność miejsc aktywnych. Pod pojęciem „kompleks proteasomalny” kryją się więc różne struktury; przedstawiono je na Rysunku 2.

Regulator 19S pośredniczy w rozpoznawaniu, rozfałdowywaniu i przenoszeniu ubikwitynowanych białkowych substratów do wnętrza proteasomu w ATP-zależny sposób. Degradacji ubikwitynowanego białka (*in vivo*) dokonywać może proteasom zarówno z jednym, jak i dwoma regulatorami 19S przyłączonymi do rdzenia 20S. U ssaków występują także kompleksy 11S/20S/11S oraz wolne proteasomy 20S. Działają one niezależnie od energii pozyskiwanej z ATP, ale nie są zdolne do rozpoznawania i degradacji ubikwitynowanych substratów. Kompleks 11S/20S/11S (o masie około 1000 kDa) stymuluje produkcję antygenów [15, 16].



Rysunek 2. Schematyczne przedstawienie kompleksów proteasomu. Po lewej – proteasom 20S, widok z boku, ukazujący ułożenie czterech pierścieni ( $\alpha\beta\beta\alpha$ ) oraz widok z góry na siedmiokrotną oś symetrii. W środku – proteasom mieszany powstały przez przyłączenie regulatora 19S i aktywatora 11S do rdzenia 20S oraz proteasom aktywowany przez przyłączenie aktywatora 11S (PA28) z dwóch stron rdzenia 20S. Po prawej – widok z boku na proteasom 26S, powstały przez przyłączenie dwóch regulatorów 19S do rdzenia 20S [7]

Figure 2. Schematic representations of various types of proteasome complexes. Left: 20S proteasome, in side-view visible four rings ( $\alpha\beta\beta\alpha$ ), top view shows seven-fold symmetry. Middle: mixed-type proteasome complex created by attaching 19S and 11S to the 20S core (20S+11S+19S), and the proteasome activated by 11S attached on both ends of the 20S (20S+11S). Right: side-view of the 26S proteasome consisting of the 20S core and two 19S regulatory particles [7]

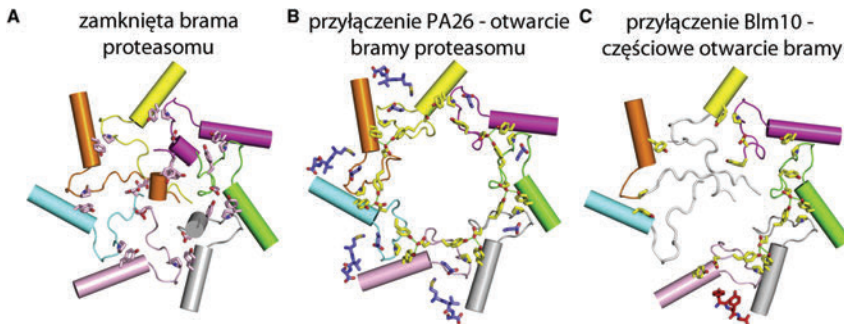
Białko regulatorowe 19S zbudowane jest z dwóch różniących się funkcją części: podstawy oraz wieka. Wieko, w skład którego wchodzi 9 podjednostek, odpowiedzialne jest za rozpoznanie substratu oraz odszczepienie od niego łańcucha poliubikwitynowego. Podstawa zbudowana jest z 10 podjednostek, z czego sześć to homologi ATPaz (ang. *Regulatory particle ATPase*, Rpt) należących do rodziny enzymów zwanej AAA (ang. *ATPase associated with various cellular activities* – ATPazy związane z różnorodnymi aktywnościami w komórce). Białka te charakteryzują się obecnością konserwatywnej domeny wiążącej ATP, zbudowanej z 230 aminokwasów, która występuje w każdej z sześciu podjednostek Rpt. Cztery pozostałe podjednostki białkowe podstawy to Rpn1, Rpn2, Rpn10 i Rpn13 (ang. *Regulatory particle non-ATPase*). Podstawa, która wiąże się z proteasomem, pozwala na bezpośrednie oddziaływanie ATPaz z podjednostkami  $\alpha$  rdzenia proteolitycznego 20S. W wyniku hydrolizy ATP następuje rozwijanie łańcucha polipeptydowego substratu, indukcja zmian konformacyjnych proteasomu 20S skutkująca otwarciem kanału w pierścieniu  $\alpha$ , oraz przenoszenie substratu do komory katalitycznej [17].

### 3. PROTEASOM JAKO BIAŁKO REGULOWANE ALLOSTERYCZNIE

Proteasom, ze względu na swoją strukturę wielopodjednostkową jest idealnym przykładem enzymu allosterycznego. Po pierwsze, wszystkie centra aktywne znajdują się wewnątrz proteasomu, w jednej komorze, gdzie współpracują ze sobą bezpośred-

nio oraz pośrednio. Po drugie, wejście do kanału centralnego i komory katalitycznej proteasomu jest zamknięte przez bramę tworzoną przez pierścienie  $\alpha$ , której otwarcie następuje pod wpływem sygnałów allosterycznych. Sygnały allosteryczne odpowiadają także za oddziaływania pomiędzy centrami katalitycznymi i aktywatorami: 11S i PA200, centrami katalitycznymi i podjednostkami regulatora 19S, ligandami i bramą [18], a także centrami katalitycznymi i bramą [19]. Wiązanie liganda, substratu lub inhibitora w pobliżu centrum katalitycznego może zarówno hamować jak i pobudzać miejsca aktywne [20].

U eukariotów dostęp substratów do wnętrza proteasomu ograniczony jest przez dwa strukturalne elementy. Jednym z nich jest wąski kanał –  $\alpha$ -annulus, o niewielkiej średnicy 13 Å wymuszającej rozwijanie substratów białkowych przed wejściem do komory katalitycznej [21]. Drugim elementem jest wymieniona wcześniej brama formowana przez *N*-końce podjednostek  $\alpha$  stanowiąca potencjalny cel działania sygnałów allosterycznych. Delecja w *N*-końcowej sekwencji podjednostki  $\alpha 3$ , która tworzy najważniejszy fragment bramy, powoduje trwałe otwarcie kanału katalitycznego i aktywację proteasomu [22]. W warunkach naturalnych przez większość czasu brama proteasomu jest zamknięta, a jej otwarcie następuje w wyniku przyłączenia aktywatorów 11S i PA200 lub regulatora 19S (Rys. 3).



Rysunek 3. Widok z góry na bramę proteasom *Saccharomyces cerevisiae*. A) Proteasom z zamkniętą bramą. B) Proteasom aktywowany PA26 – konformacja otwarta stabilizowana przez zaznaczone na żółto reszty Tyr8, Asp9, Pro17 i Tyr26. Na niebiesko zaznaczono trzy C-końcowe reszty aminokwasowe znajdujące się w kieszeniach pomiędzy pierścieniami  $\alpha$ . C) Proteasom aktywowany Blm10 – częściowo otwarta konformacja. W kieszeni pomiędzy podjednostkami  $\alpha 5/\alpha 6$ , kolorem czerwonym, oznaczono C-końcowe aminokwasy aktywatora [21]

Figure 3. Top view of the *Saccharomyces cerevisiae* proteasome gate. A) Proteasom gate in the closed conformation. B) The PA26 complex – open conformation stabilized by Tyr8, Asp9, Pro17, and Tyr26 colored yellow. The C-terminal three residues of PA26 (blue) are shown in the proteasome pockets between  $\alpha$  subunits. C) The Blm10 complex – partially open conformation. The C-terminal residues of Blm10 (red) bind in the  $\alpha 5/\alpha 6$  pocket [21]

Istnieją dowody pozwalające przypuszczać, że modulatory te wiążąc się z pierścieniem  $\alpha$  nie tylko powodują otwarcie bramy, ale także wywołują sygnały allosteryczne indukujące zmiany konformacyjne, które docierają aż do miejsc katalitycznych i wpływają na ich aktywność [19, 20, 23]. Otwarcie bramy może nastąpić także

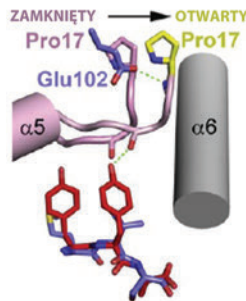


w wyniku aktywności katalitycznej każdego z miejsc aktywnych, jak i być wywołane poprzez substraty lub przez białka takie jak np. inhibitory cyklino-zależnych kinaz (ang. *cyclin-dependent kinase inhibitors*, CKI) [20]. Wszystkie te procesy wymagają transdukcji sygnału na duże odległości i stanowią niezwykle przykładowy przykład oddziaływań allosterycznych.

### 3.1. AKTYWATOR 11S

W strukturze kompleksu białkowego 11S wyróżnia się dwa rejony odpowiadające za jego oddziaływanie z proteasomem 20S: siedmioaminokwasowy fragment C-końcowy oraz sześćoaminokwasową pętlę aktywną (ang. *activation loop*) [24]. Najprawdopodobniej aktywator 11S otwiera bramę proteasomu dzięki oddziaływaniom pętli aktywnej, co jest możliwe dzięki zakotwiczeniu się C-końcowego fragmentu białka między podjednostkami  $\alpha$  [25]. Przeprowadzone badania dowiodły, że usunięcie z sekwencji aktywatora C-końcowej reszty tyrozyny uniemożliwia jego wiązanie się do powierzchni proteasomu [21].

Zamknięcie bramy prowadzącej do wnętrza proteasomu stabilizowane jest przez liczne wiązania wodorowe i oddziaływania van der Waalsa. Pętla aktywna aktywatora 11S, zawierająca kwas glutaminowy (Glu102), powoduje przesunięcie Pro17 o około 0,5–3,5 Å w każdej z siedmiu podjednostek  $\alpha$  proteasomu (Rys. 4). Ta niewielka zmiana położenia zaburza oddziaływania wodorowe destabilizując zamkniętą konformację pozwalając na otwarcie bramy. Otwarta konformacja stabilizowana jest przez cztery reszty aminokwasowe podjednostek  $\alpha$ : Tyr8, Asp9, Pro17 oraz Tyr26 [21].



Rysunek 4. Zmiany w rejonie bramy wywołane wiązaniem PA26 i Blm10 z pierścieniem  $\alpha$ . PA26 wpływa na położenie Pro17 we wszystkich siedmiu podjednostkach  $\alpha$  poprzez Glu102 z tzw. pętli aktywnej (niebieski). Natomiast w Blm10 (czerwony), którego C-koniec kotwiczy w kieszeni pomiędzy podjednostkami  $\alpha 5$  i  $\alpha 6$ , grupa hydroksylowa przedostatniej w sekwencji reszty Tyr tworzy wiązanie wodorowe z atomem tlenu Gly19 powodując tym samym przesunięcie Pro17, ale tylko w podjednostce  $\alpha 5$  [21].

Figure 4. Superposition of the PA26 (11S) and Blm10 (PA200) complexes in the  $\alpha 5/\alpha 6$  pocket illustrating the different mechanisms of displacing the Pro17 reverse turn. PA26 displaces Pro17 in all seven subunits by contacting adjacent residues with activation loop residue Glu102 (blue). Blm10 (red) stabilizes the same Pro17 displacement by forming a hydrogen bond between its Tyr side chain and the main-chain oxygen of Gly19 but only in  $\alpha 5$  subunit [21]

### 3.2. AKTYWATORY PA200 (BLM10)

PA200 występuje jedynie w jądrach komórkowych komórek ssaków, jednak w komórkach drożdży znajduje się jego odpowiednik oznaczany jako Blm10. Białko to funkcjonuje, podobnie jak aktywator 11S, w sposób niezależny od energii pozyskiwanej z hydrolizy ATP, ale w przeciwieństwie do pozostałych regulatorów proteasomu – 11S oraz 19S, jest monomerem o masie około 200 kDa [26]. Niewiele jest informacji na temat pełnionych przez nie funkcji. Wiadomo, że odpowiada ono za rozkład peptydów, a nie białek, przy czym preferowane są substraty zawierające reszty kwasowe [8]. Bierze też udział w procesie naprawy uszkodzeń DNA, wywołanych działaniem czynników utleniających lub promieniowania jonizującego, jako kompleks hybrydowy z proteasomem (PA200+20S+19S). Przypuszcza się, że PA200 aktywuje, niezbędną dla przetrwania napromieniowanych komórek, podjednostkę  $\beta 1$  proteasomu [9].

PA200 wiąże się z proteasomem 20S oddziałując z podjednostkami  $\alpha 1$ – $\alpha 6$ , a Blm10 wiąże się do wszystkich siedmiu podjednostek  $\alpha$  [26]. Otrzymana w ostatnich latach struktura krystaliczna kompleksu Blm10 z proteasomem 20S [22] ujawniła, że dla oddziaływań z proteasomem najważniejszy jest C-koniec białka, obejmujący trzy ostatnie reszty aminokwasowe Tyr-Tyr-Ala, wnikały w kieszeń pomiędzy podjednostkami  $\alpha 5$  i  $\alpha 6$  proteasomu. C-końcowe reszty aminokwasowe tworzą wiązania wodorowe z resztami aminokwasowymi podjednostek  $\alpha 5$  i  $\alpha 6$  oraz mostek solny między grupą karboksylową na C-końcu aktywatora, a grupą aminową łańcucha bocznego lizyny w pozycji 66 ( $\alpha 6$ Lys66). O roli tego fragmentu łańcucha świadczy fakt, że białka Blm10 i PA200 wykazujące 8% homologii sekwencyjnej, w rejonie oddziałującym z podjednostkami  $\alpha 5$  i  $\alpha 6$  mają procent homologii wynoszący 28% [22].

W mechanizmie otwierania bramy proteasomu przez aktywator Blm10 najważniejszą funkcję pełni przedostatnia reszta tyrozyny (w niektórych analogach fenyloalaniny). Struktura krystaliczna kompleksu tego białka z proteasomem 20S wykazała, że grupa hydroksylowa w łańcuchu bocznym reszty Tyr tworzy wiązanie wodorowe z atomem tlenu  $\alpha 5$ Gly19, stabilizując przyległą  $\alpha 5$ Pro17 w takiej samej konformacji, jaka występuje w kompleksie proteasomu z aktywatorem 11S (Rys. 4). Różnica polega na tym, że stabilizacja ułożenia reszty proliny w przypadku kompleksu z Blm10 występuje tylko w podjednostce  $\alpha 5$ , a nie we wszystkich podjednostkach, i dlatego brama proteasomu zostaje tylko częściowo otwarta [22].

### 3.3. REGULATOR 19S

Mechanizm otwierania bramy proteasomu przez regulator 19S jest do tej pory najmniej poznany. Wiadomo jedynie, że podjednostki ATPazowe podstawy (Rpt1–Rpt6) tworzą sześciocłonowy pierścień, który w kontakcie z proteasomem powoduje zmiany konformacyjne w obrębie kanału wejściowego, umożliwiające substra-

tom wnikięcie do komory katalitycznej [27]. Przypuszcza się, że w mechanizmie allosterycznego otwierania bramy przez 19S, podobnie jak w aktywatorze Blm10, kluczową rolę odgrywa przedostatnia C-końcowa reszta tyrozyny [21]. Różnica polega na tym, że Blm10 będący pojedynczym łańcuchem białkowym stabilizuje ułożenie Pro17 wyłącznie w podjednostce  $\alpha 5$ , powodując tylko częściowe otwarcie bramy, natomiast kompleks białkowy, jakim jest 19S może stabilizować ułożenie Pro17 w każdej z siedmiu podjednostek  $\alpha$ , powodując pełne otwarcie kanału katalitycznego. Znajduje to swoje odzwierciedlenie w degradacji substratów – Blm10 aktywuje proteasom przyspieszając hydrolizę peptydów, a 19S umożliwia hydrolizę białek [21].

#### 4. MECHANIZM BIOLOGICZNEJ AKTYWNOŚCI UKŁADU UBIKWITYNA-PROTEASOM

##### 4.1. UBIKWITYNACJA

Białka ulegają degradacji w proteasomach w sposób nieprzypadkowy. Wieloletnie badania mechanizmów rozkładu białek wykazały istnienie zarówno enzymów wyszukujących białka mające ulec degradacji, jak również enzymów znakujących, które pomagają w rozpoznaniu przez proteasom polipeptydu przeznaczanego do destrukcji. Mechanizm znakowania białek jest związany z przyłączeniem małego białka – ubikwityny (Ub), a proces ten zwany ubikwitynacją, może przebiegać zarówno w cytoplazmie, jak i w jądrze komórkowym [28].

Przyłączenie ubikwityny katalizowane jest przez kaskadę trzech enzymów: enzymu aktywującego ubikwitynę (E1), enzymu koniugującego (E2) oraz ligazy ubikwitynowo-białkowej (E3). Komórki organizmów eukariotycznych zawierają jeden lub kilka rodzajów enzymu E1, natomiast enzymy E2 i E3 występują w wielu różnych odmianach strukturalnych, przy czym E2 tworzą rodzinę białek spokrewnionych ewolucyjnie, natomiast E3 tworzą kilka rodzin [29]. Wiele z tych enzymów należy do supresorów nowotworowych lub onkogenów, co wiąże proces ubikwitynacji z początkami kancerogenezy [30].

C-koniec ubikwityny (reszta Gly76) pełni aktywną rolę podczas procesu przyłączania białek przeznaczonych do degradacji. Już w pierwszym etapie ubikwitynacji następuje utworzenie wiązania tioestrowego między C-końcową grupą karboksylową ubikwityny, a grupą hydrosulfidową enzymu E1, co wymaga udziału ATP. Następnie ubikwityna zostaje przeniesiona na grupę hydrosulfidową kluczowej reszty cysteiny enzymu E1. Drugim etapem jest przemieszczenie aktywowanej ubikwityny na grupę hydrosulfidową enzymu E2, a ostatnim – przeniesienie ubikwityny z E2, przy pomocy E3, na grupę  $\epsilon$ -aminową białka przeznaczanego do degradacji lub grupę  $\epsilon$ -aminową reszty lizyny (najczęściej Lys48) następnej cząsteczki ubikwityny.

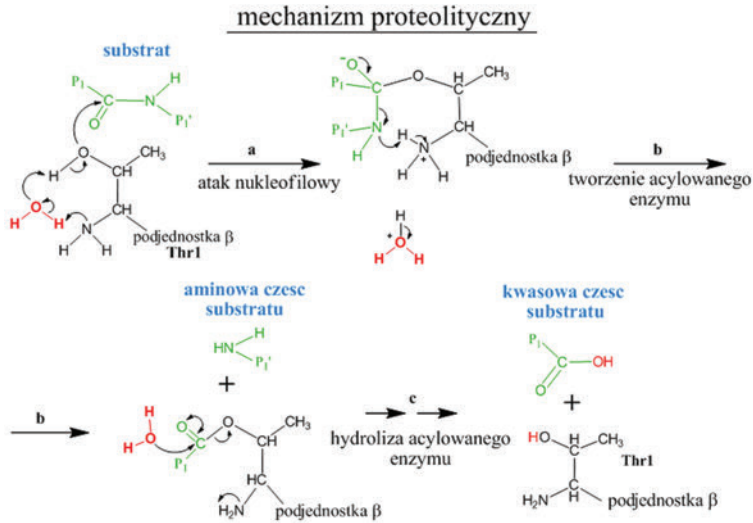
Pomiędzy dwoma białkami, dzięki wykorzystaniu energii pochodzącej z hydrolizy ATP, tworzy się w miarę stabilne wiązanie izopeptydowe [31]. Przyłączenie do docelowego białka tylko jednej cząsteczki ubikwityny stanowi słaby sygnał degradacji, dlatego też proces ubikwitynacji powtarza się aż do momentu, gdy zostanie utworzony odpowiedni łańcuch poliubikwityny zbudowany z czterech lub więcej cząsteczek tego białka [28].

Proteasom 26S rozkłada ubikwitynowane białko, korzystając z energii ATP i nie powodując przy tym degradacji ubikwityny, co umożliwia ponowne jej wykorzystanie.

#### 4.2. MECHANIZM PROTEOLIZY

Jak już wspomniano miejsca aktywne proteasomu u eukariotów zlokalizowane są w podjednostkach  $\beta$  proteasomu 20S. Reszty treoniny w pozycji 1 (Thr1), mające kluczowe znaczenie dla aktywności proteolitycznej, znajdują się w podjednostkach  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  i  $\beta 5$ . Aktywne podjednostki  $\beta$  proteasomu należą do *N*-końcowych hydrolaz nukleofilowych tzw. Ntn-hydrolaz (ang. *N-terminal nucleophile hydrolase*). Są one syntezowane w postaci nieczynnych prekursorów, które ulegają następnie autokatalizie [8].

Pierwszy etap proteolizy polega na deprotonowaniu grupy hydroksylowej łańcucha bocznego Thr1. Reakcja ta katalizowana jest przez *N*-końcową grupę aminową, która jest akceptorem protonu. Potem następuje nukleofilowy atak anionu alkoholowego aktywowanego proteasomu na węgiel karbonylowy wiązania peptydowego hydrolizowanego łańcucha peptydowego, co prowadzi do powstania tetraedrycznego stanu przejściowego. W kolejnym etapie w wyniku przegrupowania następuje odłączenie aminowej części substratu (z wolną *N*-końcową grupą aminową), a w ostatnim – hydroliza produktu pośredniego z uwolnieniem kwasowej części substratu (z wolną *C*-końcową grupą karboksylową) oraz cząsteczki katalizatora, czyli proteasomu (Rys. 5).



Rysunek 5. Proteolityczny mechanizm hydrolizy wiązania peptydowego przez *N*-końcową Thr aktywnej podjednostki β: a) atak nukleofilowy, b) tworzenie acylowanego enzymu, c) hydroliza acylowanego enzymu [8]

Figure 5. Proteolytic mechanism leading to substrate peptide bond hydrolysis by the *N*-terminal Thr residue of a proteasomal active β subunit: a) nucleophilic attack, b) formation of an acyl-ester intermediate, c) hydrolysis of the acyl-ester bond [8]

### 4.3. SYGNAŁY DO DEGRADACJI BIAŁEK

Istnieją sygnały wskazujące enzymom biorącym udział w procesie ubikwitynacji, które białko ma zostać przeznaczone do degradacji. Jednym z takich czynników decydujących o okresie półtrwania białek cytoplazmatycznych są reszty aminokwasowe występujące na ich aminowych końcach (Tab. 1). Zależność ta, nazywana regułą *N*-końca, została sformułowana przez Aleksandra Varshavsky'ego w 1986 roku [32]. Białka ulegające degradacji często posiadają na *N*-końcu odpowiednią sekwencję aminokwasową, składającą się z 8–10 aminokwasów, nazywaną sygnałem destrukcji. Motyw ten umożliwia ich rozpoznanie przez enzymy E3 [33]. Przykładowo, okres półtrwania białek drożdżowych zawierających na *N*-końcu metioninę wynosi około 20 godzin, podczas gdy obecność argininy w tej pozycji skraca czas półtrwania tylko do 2 min. Reszty destabilizujące białko, takie jak arginina lub leucyna, silnie stymulują ubikwitynację. Natomiast aminokwasy stabilizujące, np. metionina, działają odwrotnie (Tab. 1) [28].

Tabela 1. Różnice w czasie półtrwania białka ze względu na obecność w jego sekwencji reszty *N*-końcową  
 Table 1. Differences in proteins half-life depending on the *N*-terminal amino acid

Reszty silnie stabilizujące ( $t_{1/2} > 20$ godz.)		
Ala	Cys	Gly
Pro	Ser	Thr
Val	Met	
Reszty bezpośrednio destabilizujące ( $t_{1/2} = 2$ do 30 min.)		
Arg	His	Ile
Lys	Phe	Trp
Reszty destabilizujące po modyfikacji chemicznej ( $t_{1/2} = 3$ do 30 min.)		
Asn	Asp	Gln

Innym sygnałem degradacji jest tzw. „kaseta destrukcyjna” (D-box) – sekwencja występująca w niektórych cyklinach i decydująca o degradacji tych białek cyklu komórkowego. Sygnałami degradacji mogą być również szczególne sekwencje aminokwasowe w obrębie polipeptydów, np. bogata w prolinę, kwas glutaminowy, serynę i treoninę sekwencja PEST [28], a także obecna na *N*-końcu, zakodowana w DNA, sekwencja ubikwityny. Takie białka podlegają obligatoryjnej degradacji. Ma ona miejsce np. w przypadku enzymów dokonujących naprawy uszkodzonego DNA, których stabilność mogłaby prowadzić do wystąpienia mutacji [31]. Uważa się, że większość polipeptydów występujących w komórce ma w swojej sekwencji sygnały degradacji. Gdy białka są prawidłowo zwinęte, sygnały kontrolne ukryte są w ich wnętrzu, lecz na skutek denaturacji lub nieprawidłowego sfałdowania mogą one zostać ujawnione, co powoduje skierowanie polipeptydu na ścieżkę degradacji [31].

## 5. INHIBITORY PROTEASOMU

Czynniki regulatorowe wpływające na aktywność proteasomu dzielą się przede wszystkim na aktywatory i inhibitory. Oprócz modulatorów białkowych Huang i Chen [34] wspominają również o małocząsteczkowych aktywatorach – oleuropeinie oraz kwasach: linolenowym, linolowym i betulinowym. Mogą one wpływać na wszystkie rodzaje aktywności proteasomu (oleuropeina) lub tylko na jedną z nich (selektywna aktywacja aktywności ChT-L przez kwas betulinowy).

Z kolei inhibitory proteasomu można podzielić na niskocząsteczkowe związki otrzymywane syntetycznie oraz związki pochodzenia naturalnego. Pierwsze inhibitory proteasomu otrzymano pod koniec lat 80. ubiegłego wieku. Stosowano je jako narzędzia laboratoryjne w celu określenia fizjologicznej roli proteasomu w komórce [35]. Pomysł wynalezienia terapii skierowanej na szlak ubikwityno-proteasomowy jeszcze w latach 90. spotykał się z dużym sceptycyzmem, ze względu na rolę, jaką ten szlak pełni w utrzymaniu prawidłowej homeostazy w komórce. Jednak po zatwier-

dzeniu w 2003 roku pierwszego leku będącego inhibitorem proteasomu – bortezomibu – do leczenia opornego szpiczaka mnogiego, intensywność badań nad regulacją systemu ubikwityno – proteasomalnego gwałtownie wzrosła.

Inhibitory proteasomu mogą działać na kilka sposobów. Inhibitor może dezaktywować centrum aktywne proteasomu w wyniku przyłączenia się do *N*-końcowej treoniny i/lub do kieszeni substratowych rozpoznających i przyłączających białka przeznaczone do degradacji [31].

Inhibitory różnią się od siebie grupami funkcyjnymi, które wpływają na ich sposób wiązania się z centrum aktywnym, specyficzność oraz odwracalność wiązania. W celu opracowania kontrolowanego hamowania aktywności proteasomu, zaprojektowano wiele różnorodnych związków chemicznych.

### 5.1. MAŁOCZĄSTECZKOWE INHIBITORY KOMPETYCYJNE

Inhibitory kompetycyjne są jak dotąd najlepiej poznaną grupą inhibitorów proteasomu. Mają strukturę krótkich peptydów zbudowanych z 2 do 4 aminokwasów. Są one podobne do substratów proteasomu zarówno pod względem struktury jak i właściwości hydrofobowych. Ich farmakofory wiążą się z treoniną tworząc tetraedryczny stan przejściowy lub acylo-enzym. Inhibitory kompetycyjne mogą wiązać się kowalencyjnie lub niekowalencyjnie i to zarówno z rdzeniem 20S jak i z 20S związanym z 11S lub 19S [36]. Najczęściej hamują one aktywność ChT-L proteasomu, ale mogą też wpływać na wszystkie trzy rodzaje peptydazowych aktywności. Poniżej omówione zostaną główne grupy inhibitorów proteasomu o szkielecie peptydowym.

#### 5.1.1. Peptydyloaldehydy

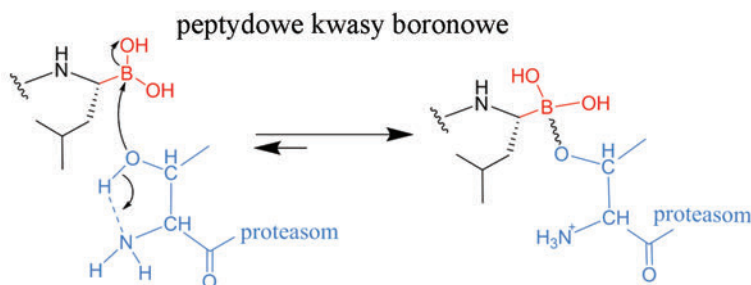
Peptydyloaldehydy to pierwsza i jak dotąd najlepiej poznana grupa inhibitorów proteasomu, będących także inhibitorami proteaz serynowych i cysteinowych [15]. Mechanizm inhibicji polega na utworzeniu wiązania kowalencyjnego między grupą aldehydową inhibitora, a grupą hydroksylową reszty treoniny, co prowadzi do utworzenia ugrupowania hemiacetalowego. Reakcja ta jest odwracalna w warunkach fizjologicznych [19].

W literaturze często spotyka się inhibitory o numeracji MG-XXX. Są to związki opracowane przez zespoły badawcze współpracujących ze sobą naukowców Adamsa i Steina. Najlepiej zbadanym przedstawicielem tej grupy związków jest MG-132 (Z-LLL-H). Jest on inhibitorem odwracalnym, selektywnie hamującym aktywność ChT-L proteasomu. W komórkach białaczkowych indukuje apoptozę zależną od białka p53 [30].

### 5.1.2. Peptydowe kwasy boronowe

Przeprowadzono wiele badań, które udowodniły rolę proteasomu w terapii przeciwnowotworowej. Ponieważ dostępne inhibitory nie działały wybiórczo na szlak proteasomalny, Adams wraz z współpracownikami, poszukując związków bardziej selektywnych, zaprojektowali inhibitory będące pochodnymi kwasu boronowego, które wykazują wprawdzie aktywność także wobec proteaz serynowych, ale w przeciwieństwie do peptydyloaldehydów, nie hamują aktywności proteaz cysteinowych. Większość związków z ugrupowaniem boronowym wykazało aktywność w obrębie panelu 60 nowotworowych linii komórkowych zgromadzonych w Narodowym Instytucie Raka (NCI) [37].

Istnieje przypuszczenie, że przyczyną znacznej aktywności peptydowych pochodnych kwasu boronowego jest tworzenie pseudokowalencyjnego wiązania pomiędzy wolnym orbitalem  $p$  atomu boru, a wolną parą elektronową atomu tlenu z grupy hydroksylowej Thr1. Prowadzi to do powstawania stabilnych, tetraedrycznych produktów przejściowych, których szybkość dysocjacji jest znacznie mniejsza niż w przypadku adduktów proteasomu z grupami aldehydowymi (Rys. 6) [15].

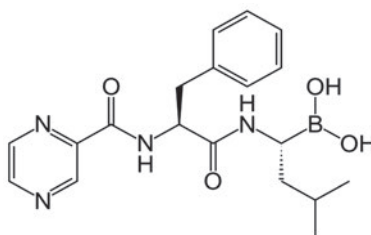


Rysunek 6. Mechanizm inhibicji proteasomu przez peptydowe kwasy boronowe [15]

Figure 6. Mechanism of proteasome inhibition by peptide boronic acids [15]

Spośród przebadanych w NCI związków, opierając się na ich specyficzności działania oraz efekcie cytotoksycznym, do dalszych badań klinicznych wybrano MG-341 (PS-341, bortezomib, (2-Pyz)-C(O)-FL-B(OH)<sub>2</sub>) (Rys. 7), który specyficznie hamuje aktywność podjednostek  $\beta 1$  oraz  $\beta 5$ , nie wpływając na aktywność  $\beta 2$ . Jest to pierwszy inhibitor proteasomu, który przeszedł wszystkie testy kliniczne i został zaakceptowany jako lek. Stosuje się go w leczeniu szpiczaka mnogiego oraz chłoniaka nieziarnicznego, a ostatnie badania pokazują, że może być on także skuteczny w leczeniu innych nowotworów złośliwych: raka płuc, niedrobnokomórkowego raka oskrzeli, raków nosogardzieli oraz raka nerki [38, 39].



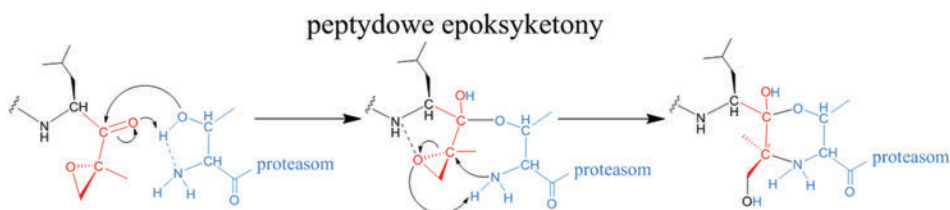


Rysunek 7. Bortezomib jako przykład peptydowego inhibitora proteasomu z C-kończącą grupą kwasu boronowego

Figure 7. Bortezomib as an example of peptidic proteasome inhibitors with C-terminal boronate

### 5.1.3. Peptydowe epoksyketony

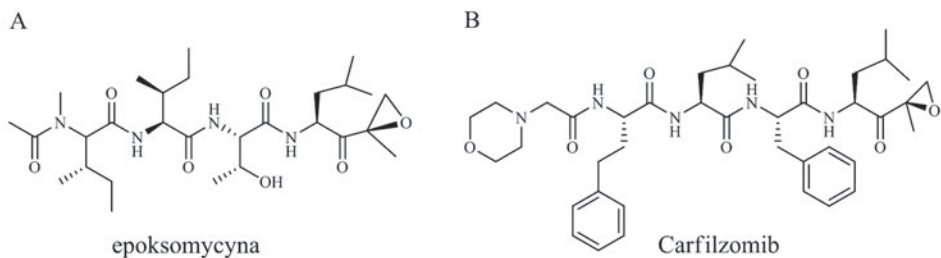
Ta klasa związków charakteryzuje się największą specyficnością wśród inhibitorów proteasomu. Peptydowe epoksyketony nie hamują innych proteaz, takich jak: kalpaina, tripsyna, chymotrypsyna, papaina oraz katepsyny [40]. Ich selektywność wynika z mechanizmu inhibicji – związki te jako jedyne tworzą nieodwracalne wiązanie zarówno z grupą hydroksylową jak i aminową Thr1, co prowadzi do powstania sześcioczłonowego pierścienia morfolinowego (Rys. 8) [15].



Rysunek 8. Mechanizm inhibicji proteasomu przez peptydowe epoksyketony [15]

Figure 8. Mechanism of proteasome inhibition by peptide epoxyketone [15]

Do przedstawicieli  $\alpha,\beta'$ -epoksyketonów należą zarówno związki pochodzenia naturalnego np. epoksomycyna (Rys. 9A) jak i syntetycznego np. Carfilzomib (Rys. 9B). Carfilzomib jest jedynym związkiem tej klasy będącym w trakcie badań klinicznych (obecnie w trzeciej fazie). Jest to nieodwracalny inhibitor aktywności ChT-L, który wykazuje wysoką aktywność porównywalną do aktywności bortezomibu, ale znacznie wyższą selektywność [41].



Rysunek 9. Przykłady inhibitorów proteasomu z grupą epoksyketonową: a) pochodzenia naturalnego – epoksomycyna, b) syntetyczne – Carfilzomib

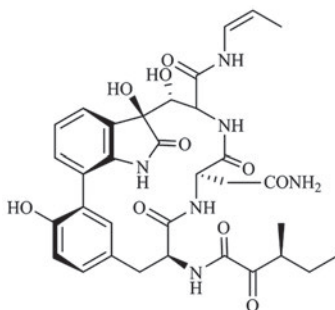
Figure 9. Examples of peptide epoxyketone as proteasome inhibitors: a) natural-epoxomicin, b) synthetic – Carfilzomib

#### 5.1.4. Peptydowe winylosulfony

Peptydowe winylosulfony są syntetycznymi, nieodwracalnymi inhibitorami proteasomu po raz pierwszy opisanymi przez Bogoy i współpracowników w 1997 roku [42]. Związki należące do tej klasy inhibitorów charakteryzują się niską selektywnością, wykazując duże powinowactwo do proteaz serynowych. Ich mechanizm działania polega na utworzeniu kowalencyjnego wiązania z resztą hydroksylową grupy Thr1 proteasomu w reakcji Michaela [15].

#### 5.1.5. TMC-95

W przeciwieństwie do wcześniej opisywanych inhibitorów kompetycyjnych TMC-95 oddziałuje z proteasomem w sposób niekowalencyjny. Ten naturalny, cykliczny związek, zbudowany z trzech zmodyfikowanych reszt aminokwasowych (Rys. 12), blokuje wszystkie miejsca aktywne proteasomu, wiążąc się za pomocą rozbudowanej sieci wiązań wodorowych z katalitycznymi podjednostkami  $\beta$ , i nie wywołując przy tym zmian w obrębie reszty Thr1 [43].



Rysunek 10. Struktura związku TMC-95

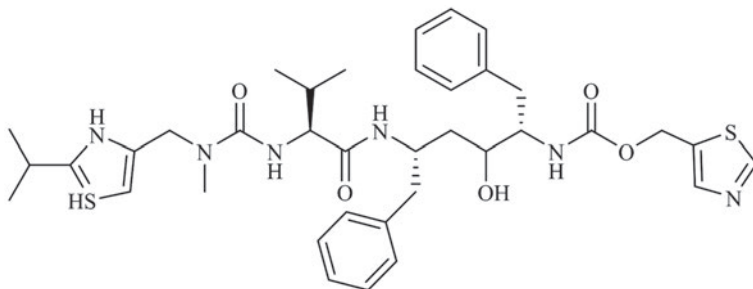
Figure 10. The structure of TMC-95

## 5.2. INHIBITORY NIEKOMPETYCYJNE

Inhibitory niekompetycyjne nie współzawodniczą z substratem o miejsce aktywne enzymu, zamiast tego oddziałują z podjednostkami niekatalitycznymi proteasomu, zwiększając lub zmniejszając skuteczność działania tego enzymu. Są one bardzo zróżnicowane pod względem chemicznym, należą do nich: białka i kompleksy białkowe, peptydy i ich pochodne, alkaloidy, antracykliny, a także produkty peroksydacji lipidów. Możliwości wpływania tego rodzaju związków na aktywność proteasomu są ogromne, choć jak dotąd słabo poznane. Oto kilka przykładowych niekompetycyjnych inhibitorów proteasomu.

### 5.2.1. Rytonawir

Rytonawir (Rys. 11) oddziałuje zarówno z centrum katalitycznym, jak i podjednostkami niekatalitycznymi proteasomu. Stosuje się go w terapii chorych na AIDS. Co ciekawe, został on zaprojektowany z myślą o kompetycyjnym blokowaniu centrum aktywnego proteazy aspartylowej wirusa HIV, jednak okazało się, że wpływa on również na hamowanie aktywności ChT-L proteasomu. Wiąże się on z enzymem niekowalencyjnie i odwracalnie [20].



Rysunek 11. Struktura rytonawiru – niekompetycyjnego inhibitora proteasomu

Figure 11. The structure of ritonavir – a noncompetitive inhibitor of the proteasome activity

### 5.2.2. Peptydy bogate w prolinę i argininę (peptydy PR)

Inhibitory tej grupy wywodzą się od PR39 – bogatego w reszty proliny i argininy 39-aminokwasowego peptydu (Rys. 12) o właściwościach przeciwbakteryjnych. Blokuje on także syntezę DNA oraz białek, indukuje angiogenezę, łagodzi stany zapalne, pomaga w leczeniu ran, chroni serce przed uszkodzeniami niedokrwienno-reperfuzyjnymi oraz blokuje przerzuty raka wątrobowo-komórkowego [20].

Badania wykazały, że 11-aminokwasowy *N*-końcowy fragment PR39 oddziałuje z pierścieniem  $\alpha$  proteasomu 20S, uniemożliwiając efektywne otwieranie kanału katalitycznego. Miejsce wiązania peptydu najprawdopodobniej zlokalizowane jest

na zewnętrznej krawędzi pierścienia  $\alpha$ , co sugeruje znaczną siłę allosterycznego oddziaływania [44]. Peptydy bogate w prolinę i argininę inhibują niekompetycyjnie i odwracalnie aktywność ChT-L oraz PGPH proteasomu, bardzo słabo wpływając na aktywność T-L [20].

### **R<sup>1</sup>RRRPPPYLPRRPPPPFFPPRLPPRIPPGFPPRFPPRF<sup>39</sup>**

Rysunek 12. Sekwencja PR39 – peptydu bogatego w reszty proliny i arginy

Figure 12. The sequence of PR39 – proline and arginine-rich peptide

### 5.2.3. Białko HIV-1 Tat

Białko Tat (transaktywator ekspresji genów) jest jednym z dwóch istotnych czynników ekspresji genów wirusa HIV. Jest to małe białko, zbudowane, w zależności od typu wirusa, z 86–104 aminokwasów, jednak niekompletne formy tego wirusowego białka, zawierające od 58 do 72 aminokwasów, również wykazują aktywność biologiczną [45].

Odkryto, że białko Tat powoduje inhibicję aktywności ChT-L proteasomu oraz konkuruje z aktywatorem 11S (REG) w wiązaniu się do proteasomu 20S [46]. Porównanie struktury białka Tat i aktywatora REGa wykazało, że na powierzchni obu tych białek znajdują się trzy naładowane reszty aminokwasowe. Dla Tat są to: Lys51, Arg52 i Asp67, a dla REGa: Glu235, Lys236 i Lys239. Ponieważ sekwencje obejmujące te aminokwasy pośredniczą w wiązaniu do proteasomu 20S zostały nazwane miejscem RTP (ang. *REG/Tat-20S proteasome-binding*). Miejsce RTP obejmuje sekwencję od reszty 37 do 72, w której najważniejszy fragment stanowi tzw. zasadowa domena RKKRRQRRR (reszty 49–57) (Rys. 13) [47].

### **CFITKGLGISYGR<sup>49</sup>KKRRQRRR<sup>57</sup>PSQGGQTHQDPIPKQ**

Rysunek 13. Fragment sekwencji białka Tat. Podkreślono aminokwasy tworzące zasadową domenę (reszty 49–57)

Figure 13. The part of Tat protein sequence. Underlined are amino acids forming a basic domain (residues 49–57)

Proteasomy są skomplikowanymi kombinatami proteolitycznymi zaangażowanym w wiele procesów zachodzących w komórce. Ich powiązanie z licznymi chorobami sprawiło, że stanowią cel działania projektowanych inhibitorów. Jednak wynalezienie skutecznego i selektywnego inhibitora bądź aktywatora proteasomu wymaga poznania dokładnej struktury oraz funkcji poszczególnych proteosomalnych kompleksów, a także zrozumienia ścieżek przekazywania sygnałów w tej ogromnej, proteolitycznej maszynie.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Ciechanover, Proc. Am. Thorac. Soc., 2006, **3**, 21.
- [2] G. Tan, T.A. Waldmann, Cancer Res., 2002, **62**, 1083.
- [3] S. Paul, Bioessays, 2008, **30**, 1172.
- [4] J. Pan, Q. Zhang, Y. Wang, M. You, *26S Proteasome Activity Is Down-Regulated in Lung Cancer Stem-Like Cells Propagated In Vitro* [online], PLOS One, [2011-05-20], dostępny w internecie: <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0013298>.
- [5] J. An, Y. Sun, M. Fisher, M.B. Rettig, Mol. Cancer Ther., 2004, **3**, 727.
- [6] H. Seo, K.C. Sonntag, W. Kim, E. Cattaneo, O. Isacson, *Proteasome activator enhances survival of Huntington's disease neuronal model cells* [online] PLOS One, [2011-06-02], dostępny w internecie: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1800909/?tool=pubmed>.
- [7] M. Gaczyńska, P.A. Osmulski, W.F. Ward, Mech. Ageing. Dev., 2001, **122**, 235.
- [8] A.J. Marques, R. Palanimurugan, A.C. Matias, P.C. Ramos, R.J. Dohmen, Chem. Rev., 2009, **109**, 1509.
- [9] T. Jung, B. Catalgol, T. Grune, Mol. Aspects Med., 2009, **30**, 191.
- [10] M. Groll, L. Ditzel, J. Löwe, D. Stock, M. Bochtler, H. Bartunik, R. Huber, Nature, 1997, **386**, 463.
- [11] C. Cardozo, A. Vinitzky, C. Michaud, M. Orlowski, Biochemistry, 1994, **33**, 6483.
- [12] D.L. Mykles, M.F. Haire, Biochem. J., 1995, **306**, 285.
- [13] L. Borissenko, M. Groll, Chem. Rev., 2007, **107**, 687.
- [14] J. Li, M. Rechsteiner, Biochimie, 2001, **83**, 373.
- [15] A.F. Kisselev, A.L. Goldberg, Chem. Biol., 2001, **8**, 739.
- [16] M. Rechsteiner, C. Realini, V. Ustrell, Biochem. J., 2000, **345**, 1.
- [17] D. Voges, P. Zwickl, W. Baumeister, Annu. Rev. Biochem., 1999, **68**, 1015.
- [18] M. Groll, M. Bajorek, A. Köhler, L. Moroder, D.M. Rubin, R. Huber, M.H. Glickman, D. Finley, Nat. Struct. Biol., 2000, **7**, 1062.
- [19] P.A. Osmulski, M. Gaczyńska, Biochemistry, 2002, **41**, 7047.
- [20] X. Tan, P.A. Osmulski, M. Gaczyńska, Curr. Med. Chem., 2006, **13**, 155.
- [21] B.M. Stadtmueller, C.P. Hill, Mol. Cell, 2011, **41**, 418.
- [22] K. Sadre-Bazzaz, F.G. Whitby, H. Robinson, T. Formosa, C.P. Hill, Mol. Cell, 2010, **37**, 728.
- [23] M. Groll, M. Bajorek, A. Köhler, L. Moroder, D.M. Rubin, R. Huber, M.H. Glickman, D. Finley, Nat. Struct. Biol., 2000, **7**, 1062.
- [24] Z. Zhang, A. Clawson, C. Realini, C.C. Jansen, J. R. Knowlton, C.P. Hill, M. Rechsteiner, Proc. Nat. Acad. Sci., 1998, **95**, 2807.
- [25] E. Jankowska, M. Gaczyńska, P. Osmulski, E. Sikorska, R. Rostankowski, S. Madabhushi, M. Tokmina-Łukaszewska, F. Kasprzykowski, Biopolymers, 2010, **93**, 481.
- [26] J. Ortega, J.B. Heyman, A.K. Kajava, V. Ustrell, M. Rechsteiner, A.C. Sterem, J. Mol. Biol., 2005, **346**, 1221.
- [27] K. Tanaka, Proc. Jpn. Acad. Ser. B, 2009, **85**, 12.
- [28] L. Stryer, *Biochemia*, PWN, Warszawa, 2005.
- [29] R. Debigare, S.R. Price, Am. J. Physiol. Renal Physiol., 2003, **285**, F1.
- [30] A. Jurszczyń, A.B. Skotnicki, Adv. Clin. Exp. Med., 2006, **15**, 309.
- [31] A. Kazula, E. Kazula, Farmacja Polska, 2009, **65**, 511.
- [32] A. Varshavsky, Genes Cells, 1997, **2**, 13.
- [33] M. Hochstrasser, Nature Cell Biol., 2000, **2**, E153.
- [34] L. Huang, C.H. Chen, Curr. Med. Chem., 2009, **16**, 931.
- [35] J. Löwe, D. Stock, B. Jap, P. Zwickl, W. Baumeister, R. Huber, Science, 1995, **268**, 533.
- [36] M. Gaczyńska, P.A. Osmulski, Curr. Med. Chem. – Immun., Endoc. Metab. Agents, 2002, **2**, 279.

- [37] J. Adams, V.J. Palombella, E.A. Sausville, J. Johnson, A. Destree, D.D. Lazarus, J. Maas, C.S. Pien, S. Prakash, P. J. Elliott, *Cancer Res.*, 1999, **59**, 2615.
- [38] C.E. Denlinger, M.D. Keller, M.W. Mayo, R.M. Broad, D.R. Jones, *J. Thorac. Cardio. Sur.*, 2004, **127**, 1078.
- [39] C. Aghajanian, S. Soignet, D. S. Dizon, C. S. Pien, J. Adams, P. J. Elliott, P. Sabbatini, V. Miller, M.L. Hensley, S. Pezzulli, C. Canales, A. Daud, D. R. Spriggs, *Clin. Cancer Res.*, 2002, **8**, 2505.
- [40] L. Meng, R. Mohan, B.H. Kwok, M. Elofsson, N. Sin, Crews C.M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**, 10403.
- [41] S.D. Demo, C.J. Kirk, M.A. Aujay et al., *Cancer Res.*, 2007, **67**, 6383.
- [42] M. Bogyo, J. S. McMaster, M. Gaczyńska, D. Tortorella, A. L. Goldberg, H. Ploegh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 6629.
- [43] M. Groll, M. Götz, M. Kaiser, E. Weyher, L. Moroder, *Chem. Biol.*, 2006, **13**, 607.
- [44] M. Gaczynska, P.A. Osmulski, Y. Gao, M.J. Post, M. Simons, *Biochemistry*, 2003, **42**, 8663.
- [45] A. Pugliese, V. Vidotto, T.S. Beltramo, S. Petrini, D. Torre, *Cell Biochem. Funct.*, 2005, **23**, 223.
- [46] M. Seeger, K. Ferrell, R. Frank, W. Dubiel, *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**, 8145.
- [47] X. Huang, U. Seifert, U. Salzmann, P. Henklein, R. Preissner, W. Henke, A.J. Sijts, P.M. Kloetzel, W. Dubiel, *J. Mol. Biol.*, 2002, **323**, 771.

Praca wpłynęła do Redakcji 13 sierpnia 2012

# HIPERWALENTNE ZWIĄZKI SIARKI, SELENU I TELLURU. CZĘŚĆ 4. SELENURANY I TELLURANY

## HYPERVALENT COMPOUNDS OF SULFUR, SELENIUM AND TELLURIUM. PART 4. SELENURANES AND TELLURANES

**Adrian Zając**

*Zakład Chemii Heteroorganicznej,  
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź  
e-mail: [adrian@cbmm.lodz.pl](mailto:adrian@cbmm.lodz.pl)*

---

### Abstract

1. Hiperwaleńtne związki selenu
  - 1.1. Połączenia 10-Se-4
  - 1.2. Połączenia 10-Se-5
  - 1.3. Perselenurany 12-Se-6
2. Hiperwaleńtne związki telluru
  - 2.1. Tellurany 10-Te-4
  - 2.2. Pertellurany 12-Te-6

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---



**Dr Adrian Zając** ukończył Wydział Matematyczno-Przyrodniczy Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie w 2005 roku. Tytuł doktora nauk chemicznych nadano mu w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi w 2011 roku po obronie rozprawy doktorskiej zatytułowanej: „Wybrane połączenia siarkoorganiczne z nisko- i/lub wysokokoordynacyjnym atomem siarki” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Józefa Drabowicza. Obecnie pracuje w Zakładzie Chemii Heteroorganicznej CBMiM PAN.

W kręgu jego zainteresowań znajduje się chemia prochiralnych i chiralnych związków heteroorganicznych, w szczególności siarko- i fosforoorganicznych, w tym związków hiperwaleńnych. Jest współautorem kilkunastu publikacji, zarówno oryginalnych, przeglądowych, jak i rozdziałów w książkach, takich jak *Science of Synthesis* czy *Patai's Chemistry of Functional Groups*.



**ABSTRACT**

In this part selenuranes (10-Se-4 and 10-Se-5) and perselenuranes 12-Se-6 as well as telluranes 10-Te-4 and pertelluranes 12-Te-6 will be presented. The main goal is to describe recent reports on the synthesis, chemical, physical, spectral and conformational behavior, stereochemistry, stability and biological activity of these compounds. Their occurrence as reaction intermediates will also be shown.

Keywords: hypervalency, 3c-4e bond, selenurane, perselenurane, tellurane, pertellurane, trigonal bipyramid, tetragonal bipyramid, synthesis, chirality, optical activity, isomerization, conical inversion

Słowa kluczowe: hiperwalentność, wiązanie 3c-4e, selenuran, perselenuran, telluran, pertelluran, bipyramida trygonalna, bipyramida tetragonalna, synteza, chiralność, aktywność optyczna, izomeryzacja, inwersja klinowa

---

---

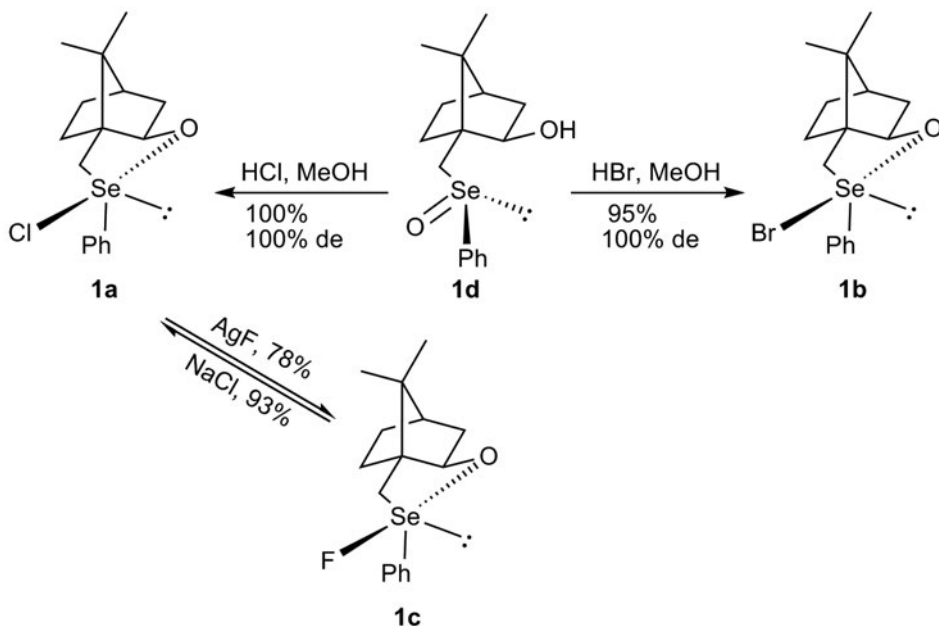
## 1. HIPERWALENTNE ZWIĄZKI SELENU

W rozdziale tym, podobnie jak w przypadku sulfuranów, przedstawione zostaną wyniki najnowszych badań dotyczących chemii selenuranów, czyli hiperwalentnych związków selenu, poczynając od tych z najbardziej elektroujemnymi podstawnikami, a na zawierających wszystkie ligandy węglowe kończąc.

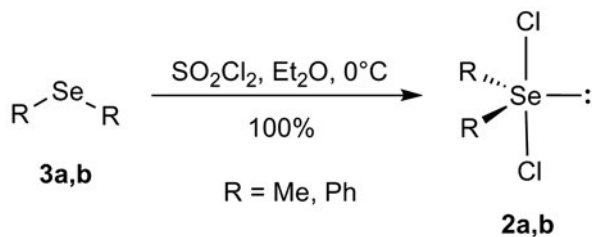
### 1.1. POŁĄCZENIA 10-Se-4

Optycznie czyste halogenooksaselenurany **1a,b** otrzymano wychodząc z diastereomerycznie czystego selenotlenku **1d** i działając na niego, odpowiednio, chlorowodorem lub bromowodorem w metanolu. Fluoroselenuran **1c** otrzymano przez substytucję nukleofilową w chloresulfuranie **1a** (Schemat 1). Wydajności, jak i stereoselektywność tych reakcji były bardzo wysokie [1–3].

Dichloroselenurany **2a** i **b** otrzymano w reakcji odpowiednich selenidów **3a** i **b** z chlorkiem siarczyny w eterze dietylowym jako rozpuszczalniku w temperaturze 0°C (Schemat 2). Reakcje przebiegały z ilościową wydajnością. Otrzymane związki w połączeniu z tryfenylofosfiną okazały się być wydajnymi odczynnikami przekształcającymi alkohole w chlorki alkilowe [4].



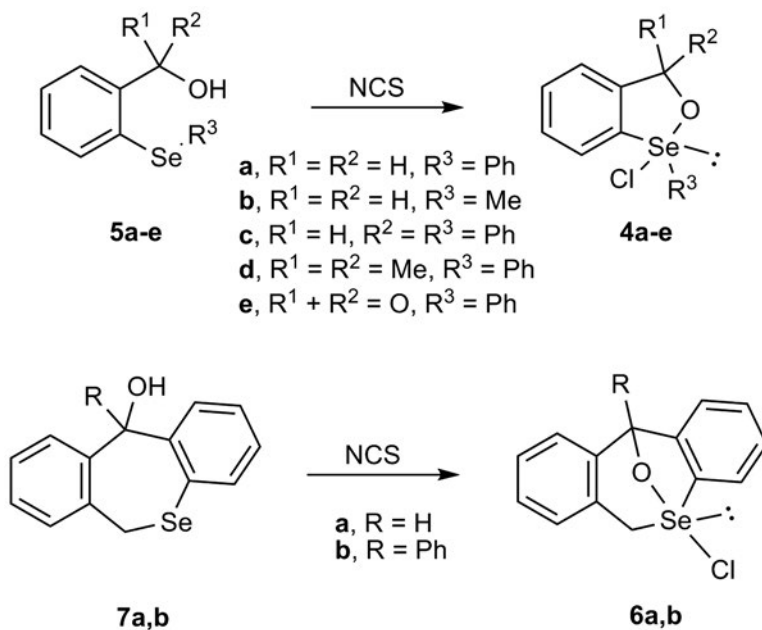
Schemat 1  
Scheme 1



Schemat 2  
Scheme 2

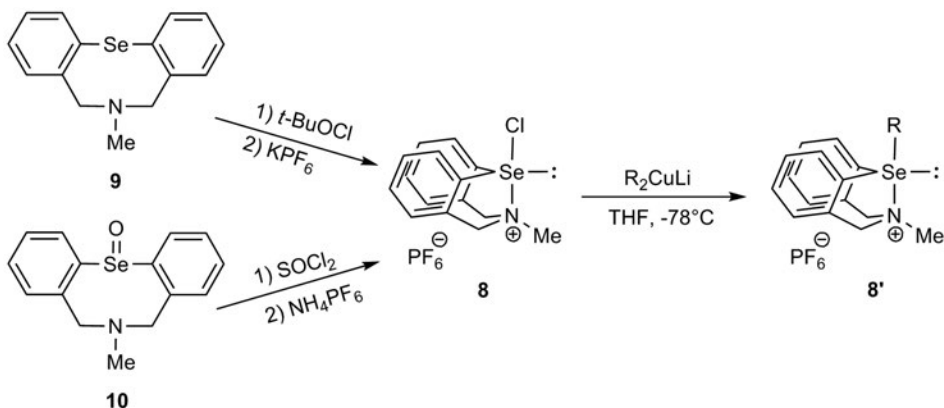
Serię różnorodnych chlorooksaselenuranów **4a–e** i **6a** i **b** otrzymano poprzez traktowanie odpowiednich selenidów **5a–e** i **7a** i **b** *N*-chloroimidem kwasu bursztynowego (Schemat 3) [5].

Heksafluorofosforan chloroamonioselenuranu **8** został zsyntetyzowany zarówno z azaselenidu **9** (działaniem chloranu(I) *tert*-butylu, a następnie heksafluorofosforanu potasu), jak i z selenotlenku **10** (potraktowanego chlorkiem tionylu, a następnie heksafluorofosforanem amonu) (Schemat 4). Otrzymany związek przekształcono w pochodną metylową i fenylową **8'** za pomocą odpowiednich odczynników organolitomiedziowych (Schemat 4). Otrzymane związki scharakteryzowano spektroskopowo i krystalograficznie [6, 7].

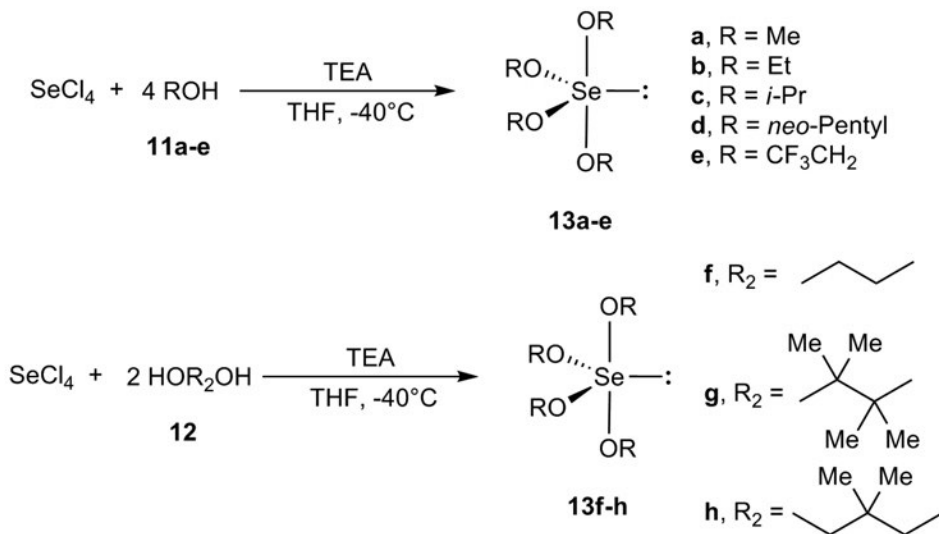


Schemat 3  
Scheme 3

Tetrachlorek selenu potraktowany odpowiednim alkoholem **11a-e** lub diolem **12** w obecności trietyloaminy w tetrahydrofuranie jako rozpuszczalniku przy  $-40^{\circ}\text{C}$  dostarczył odpowiednich tetraoksaselenuranów **13a-h** (Schemat 5). Struktury otrzymanych produktów określono metodami spektroskopowymi ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{77}\text{Se}$  NMR), i potwierdzono analizując dane krystalograficzne. Związków **13a,b** nie udało się wyizolować [8].

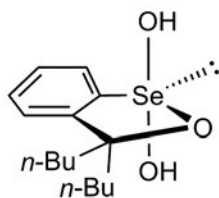


Schemat 4  
Scheme 4

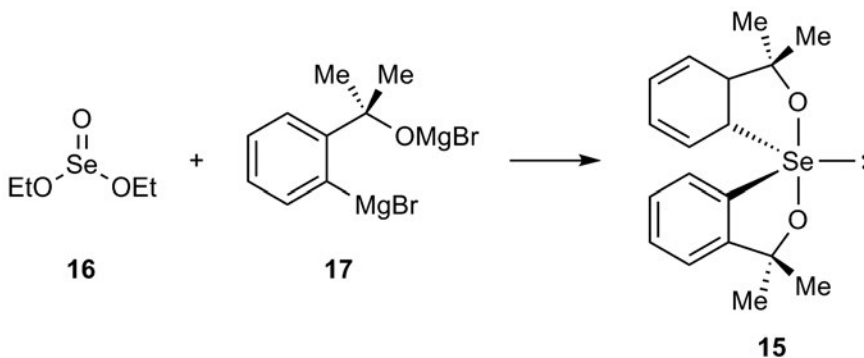


Schemat 5  
Scheme 5

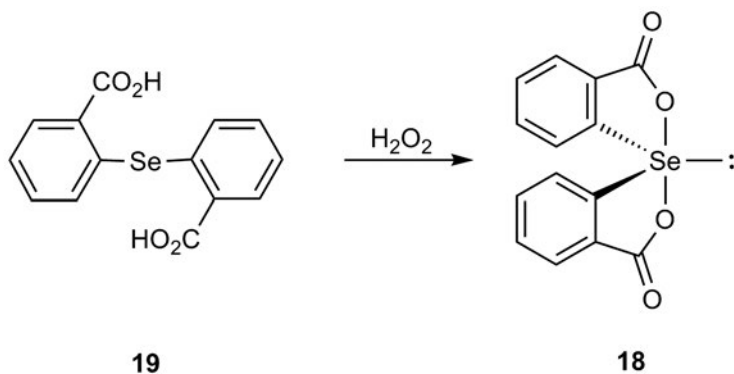
Oksadioksyselenuran **14** (Rys. 1) zaproponowano jako produkt przejściowy w procesie racemizacji cyklicznego seleninu w środowisku kwasowym [9]. Udowodniono także metodami NMR-owymi obecność aryloalkilodihydroksyselenuranów w procesie racemizacji odpowiednich selenotlenków w obecności wody [10, 11].

**14**Rysunek 1  
Figure 1

Dioksaselenuran **15** zsyntetyzowano na drodze reakcji selenianu(IV) dietylu **16** z di(bromomagnezowym) związkiem **17** (Schemat 6). Wyizolowano obydwa enancjomery **15** poprzez rozdział racematu techniką HPLC na kolumnach z wypełnieniem chiralnym [12–14].

Schemat 6  
Scheme 6

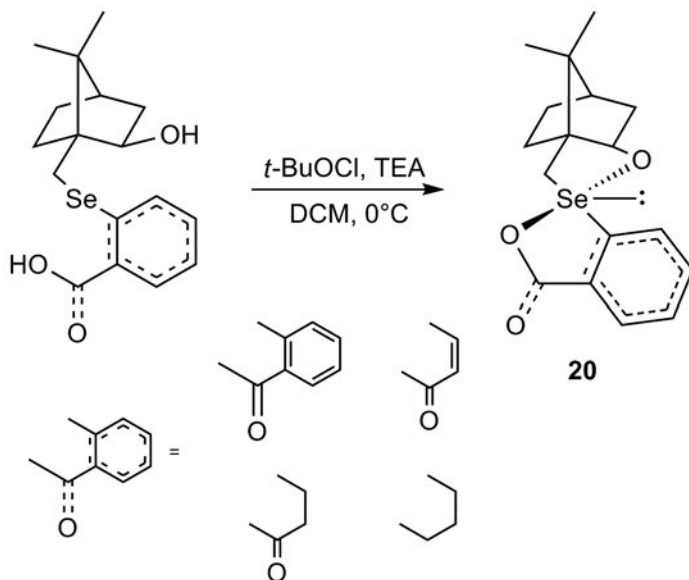
Selenuran **18** został otrzymany w reakcji utleniania selenidu **19** za pomocą nadtlenku wodoru (Schemat 7). Otrzymany związek również rozdzielono na poszczególne enancjomery przy wykorzystaniu techniki HPLC na kolumnach z wypełnieniem chiralnym [15]. Związek **18**, podobnie jak jego nie posiadające pierścieni benzenowych lub atomów tlenu karbonyłowego analogi wykazują działanie mimosenne peroksydazy glutationowej [16, 17].



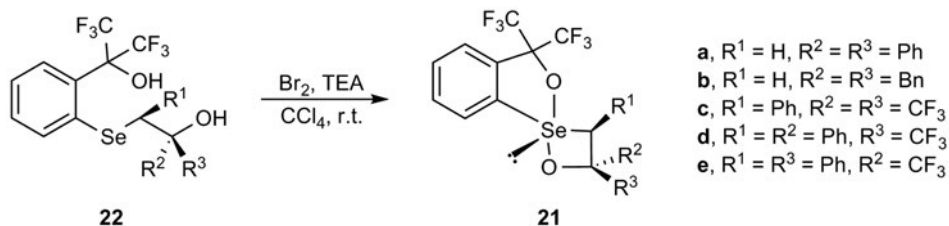
Schemat 7  
Scheme 8

Przeprowadzono także syntezę dioksaspiroselenuranu **20** opierając się na standardowej metodologii obejmującej użycie chloranu(I) *tert*-butylu (Schemat 8) [18].

1,2-Okaselenantany **21** otrzymano działając na odpowiednie hydroksylopopochodne alkoholu perfluorokumylowego **22** bromem w obecności trietyloaminy w tetrachlorku węgla jako rozpuszczalniku w temperaturze pokojowej z wydajnością ilościową lub bliską ilościową (Schemat 9). Scharakteryzowano je spektralnie i rentgenograficznie, a także zbadano procesy ich termolizy [19, 20].



Schemat 8  
Scheme 8

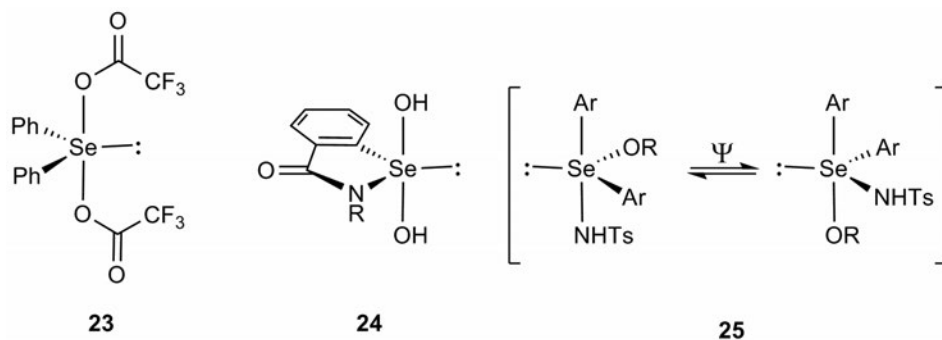


Schemat 9  
Scheme 9

Otrzymany w reakcji selenotlenku difenyłowego z bezwodnikiem trifluorocytowym w 1,2-dimetoksyetanie w 0°C selenuran **23** (Rys. 2) został z powodzeniem zastosowany jako biomimetyczny odczynnik utleniający aminy i aminokwasy [21].

Stwierdzono, że azadioksyseselenuran **24** (Rys. 2) jest produktem pośrednim w procesie racemizacji optycznie czynnych seleninamidów w roztworze, w obecności wody [22].

Odpowiedni nietrwały azooksyseselenuran **25** (Rys. 2) zaproponowano natomiast jako produkt pośredni reakcji tworzenia imidów selenoniowych z selenotlenków diarylowych [23].

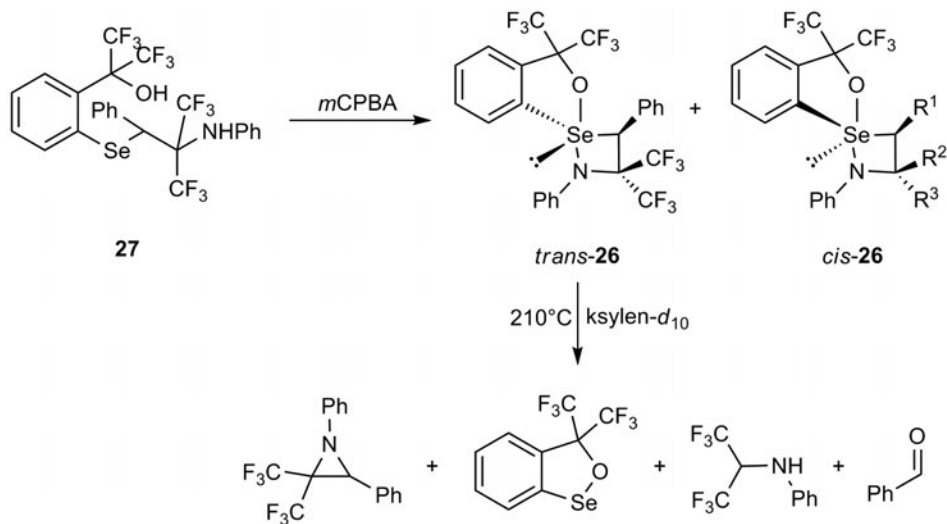


Rysunek 2  
Figure 2

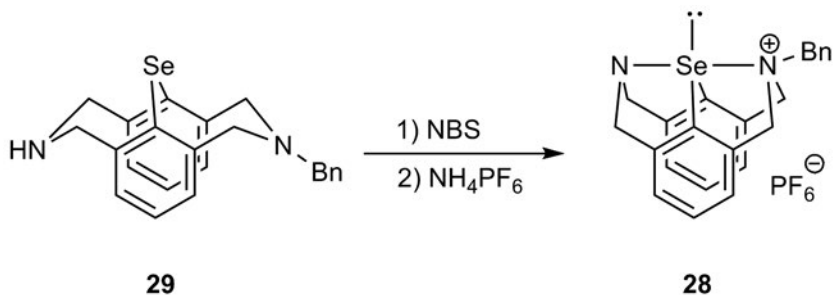
Azaoksaselenuran **26** otrzymany został z aminowej pochodnej alkoholu perfluorokumylowego **27** potraktowanej kwasem *meta*-chloronadbenzoesowym jako para stereoisomerów: *trans*-**26** (40%) i *cis*-**26** (8%) (Schemat 10). Czyste diastereoizomery zostały wyizolowane, a ich struktury określone w oparciu o dane spektroskopowe i analizy rentgenograficzne. Zbadano także proces termolizy *trans*-**26** (Schemat 10) [19, 24].

Diazaselenurany są na tyle nietrwałe, że pierwszą tego typu izolowaną strukturę **28** otrzymano dopiero w 1993 roku w reakcji diazaselenidu **29** z *N*-bromoimidem kwasu bursztynowego z utworzeniem bromku i przekształceniu go w odpowiedni heksafluorofosforan **28** (Schemat 11). Proces ten był odwracalny po dodaniu SmI<sub>2</sub>.

Na podstawie badań znaczonego azotem  $^{15}\text{N}$  selenuranu **28** technikami  $^{15}\text{N}$  i  $^{77}\text{Se}$  NMR wywnioskowano, że związek ten przyjmuje konformację podwójnej łódki [25–27].



Schemat 10  
Scheme 10

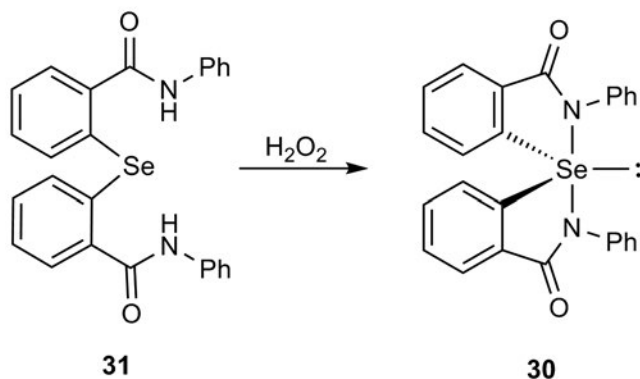


Schemat 11  
Scheme 11

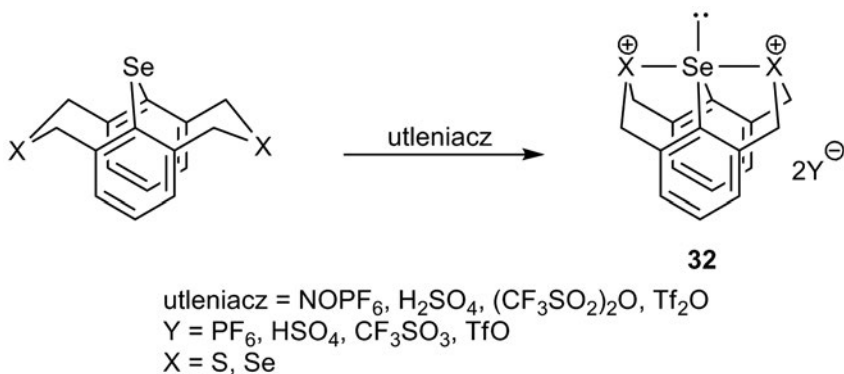
Inny stabilny diazaselenuran **30** otrzymano przez utlenianie selenidu **31** za pomocą nadtlenku wodoru (Schemat 12) [28].

Podobnie zsyntetyzowano z wysokimi wydajnościami serię selenuranów **32**, analogów selenuranu **28** (Schemat 13) [27, 29–31].



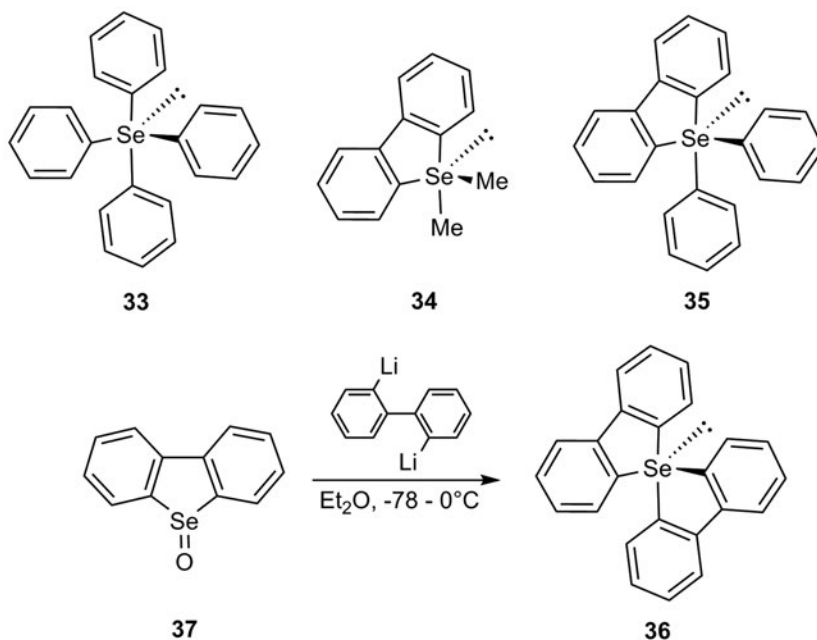


Schemat 12  
Scheme 12



Schemat 13  
Scheme 13

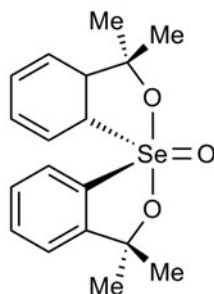
Selenurany typu 10-Se-4(C4) są z reguły nietrwałe. Tetrafenyloselenuran **33** (Schemat 14) wykryto technikami NMR jako produkt przejściowy w reakcji selenotlenku difenyloвого lub soli trifenyloseleniowej z fenylolitem [32–34]. W podobnych przemianach zidentyfikowano nietrwałe związki przejściowe **34** [35] i **35** (Schemat 14) [32, 33]. Relatywnie trwałe selenuran **36** otrzymano działając na Se-tlenek dibenzoselenofenu **37** 2,2'-dilitobifenylem w eterze dietylowym jako rozpuszczalniku w temperaturze od  $-78$  do  $0^\circ\text{C}$  (Schemat 14) [32].



Schemat 14  
Scheme 14

### 1.1. POŁĄCZENIA 10-Se-5

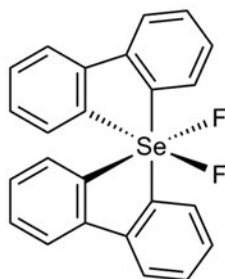
Znanych jest kilka Se-tlenków selenuranów, jednak dopiero w 2004 roku udało się uzyskać tlenek 3,3,3',3'-tetrametylo-1,1'-spirobi[3*H*,2,1]-benzoksaselenolu **38** (Rys. 3) w formie czystych enancjomerów. Racemiczny tlenek **38** otrzymano na drodze utleniania wyjściowego selenuranu **16** za pomocą kwasu *meta*-chloronadbenzoesowego, a jego chiralność potwierdzono techniką  $^1\text{H}$  i  $^{77}\text{Se}$  NMR (pomiary w obecności chiralnego odczynnika solwatującego). Następnie poddano go rozdzielności metodą HPLC z użyciem kolumny z wypełnieniem chiralnym, otrzymując jako pierwszy enancjomer lewoskrętny, któremu przypisano konfigurację absolutną *R* na podstawie analizy rentgenostrukturalnej, a drugiemu – prawoskrętnemu – konfigurację absolutną *S* [12, 36].

**38**

Rysunek 3  
Figure 3

## 1.2. PERSELENURANY 12-Se-6

W obrębie tej grupy związków w ostatnich latach udało się otrzymać difluoroperselenuran **39** (Rys. 4), wychodząc z selenuranu **36** i działając na niego difluorkiem ksenonu. Związek ten otrzymano w postaci trwałej substancji krystalicznej o konfiguracji *cis* (względem atomów fluoru), a jej strukturę potwierdzono spektralnie i rentgenograficznie [37].

**39**

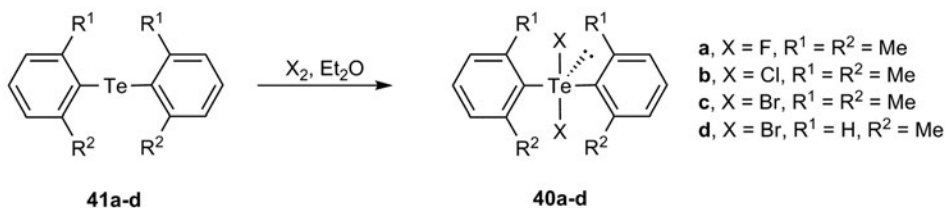
Rysunek 4  
Figure 4

## 2. HIPERWALENTNE ZWIĄZKI TELLURU

Hiperwalentne związki telluru, czyli tellurany to najstabilniejsze hiperwalentne związki z rozpatrywanych w niniejszym przeglądzie. Istnieje wiele prac na temat ich syntezy i właściwości, a poniżej zaprezentowane zostaną wyniki najnowszych badań tych połączeń.

## 2.1. TELLURANY 10-Te-4

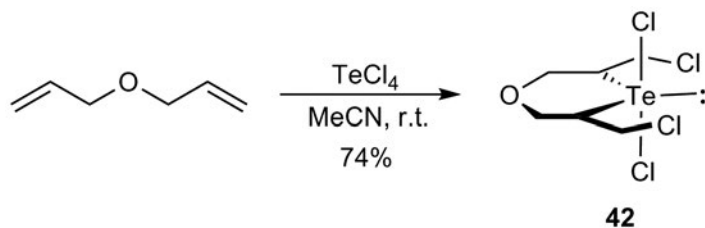
Dihalogenotellurany **40a-d** otrzymano z odpowiednich telluridów **41a-d**, działając na nie halogenowcami w eterze dietylowym (Schemat 15) [38, 39].



Schemat 15

Scheme 15

Potraktowanie eteru diallilowego tetrachlorkiem telluru w acetonitrylu jako rozpuszczalniku w temperaturze pokojowej prowadziło do tworzenia cyklicznego dichlorotelluranu **42** z wydajnością 74% (Schemat 16). Reakcja ta zachodziła w sposób stereospecyficzny dając tylko izomer *cis*, a pierścień sześcioczłonowy znajdował się w konformacji krzesłowej [40].

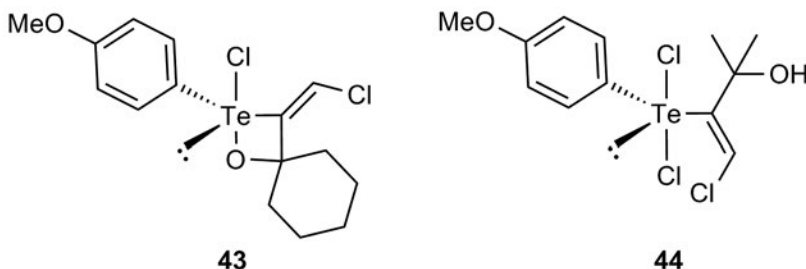


Schemat 16

Schemat 16

Opisywany powyżej dihalogenotelluran, jak i wiele analogicznych struktur tworzy w fazie stałej interesujące sieci krystaliczne typu wstążki, zig-zag, dwuwymiarowych gwiezd i trójwymiarowych sieci [40, 41].

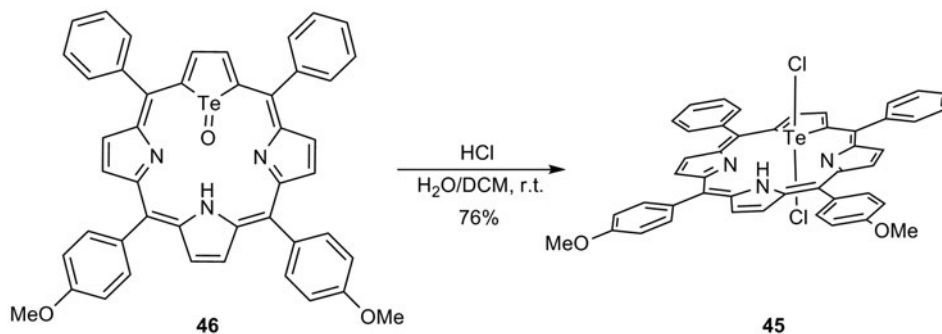
Otrzymane przez addycję elektrofilową trichlorku *p*-metoksyfenylotelluru do, odpowiednio, 1-etynylo-1-cykloheksanolu i 3-metylo-3-hydroksybutynu chloro-oksateelluran **43** i dichlorotelluran **44** (Rys. 5) okazały się być potencjalnymi antyoksydantami i związkami modelowymi w badaniach aktywności mitochondrialnej [42, 43].



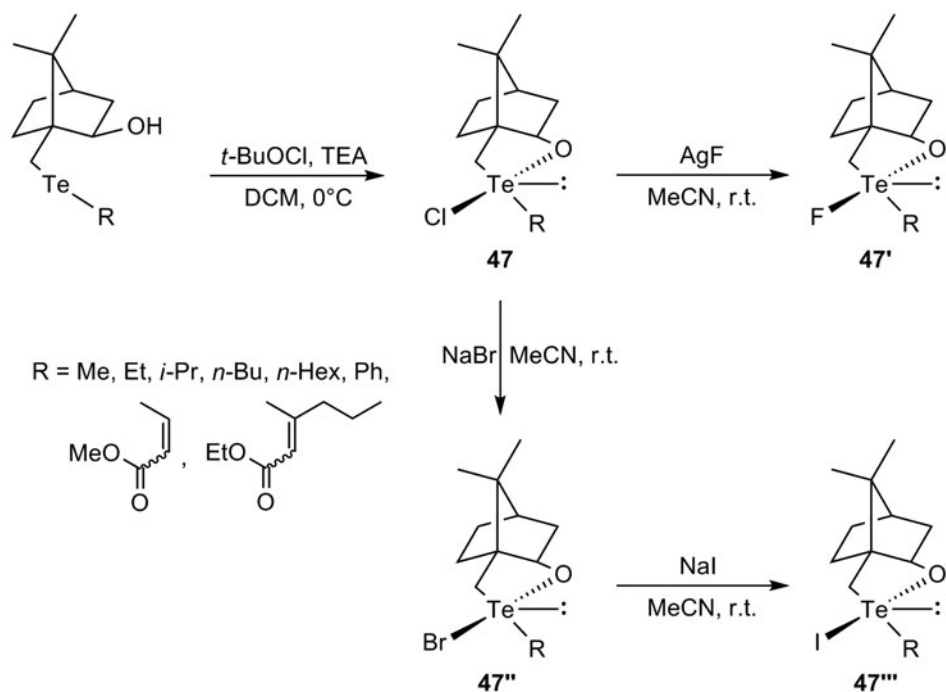
Rysunek 5  
Figure 5

Zsyntetyzowano również dichlorotelluraporfirynę **45** działając na tellurotlenek **46** roztworem chlorowodoru w układzie dwufazowym woda/dichlorometan (Schemat 17). Związek **45** posiadając wiązanie 3c-4e Cl-Te-Cl zachował również aromaticzność, co wykazały badania absorpcyjnych pasm Q [44].

Chlorooksasulfurany **47**, zawierające w swej budowie grupę 2-*exo*-hydroksy-10-bornylową, zostały otrzymane w podobny sposób jak ich analogi selenowe (patrz: Schemat 8) z wydajnościami 86–97% (Schemat 18). Co interesujące, reakcje te były wysoce diastereo selektywne [18, 45, 46]. Przekształcenie związków **47** w odpowiednie fluoro- **47'**, bromo- **47''** i jodopochodne **47'''** przeprowadzono na drodze substytucji nukleofilowej atomu halogenowca w łatwy sposób i z prawie ilościową wydajnością (Schemat 18) [45].



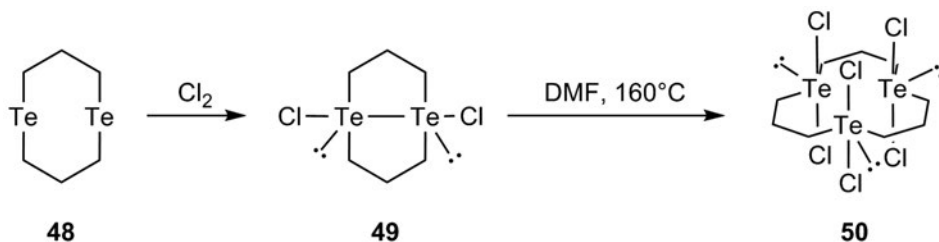
Schemat 17  
Scheme 17



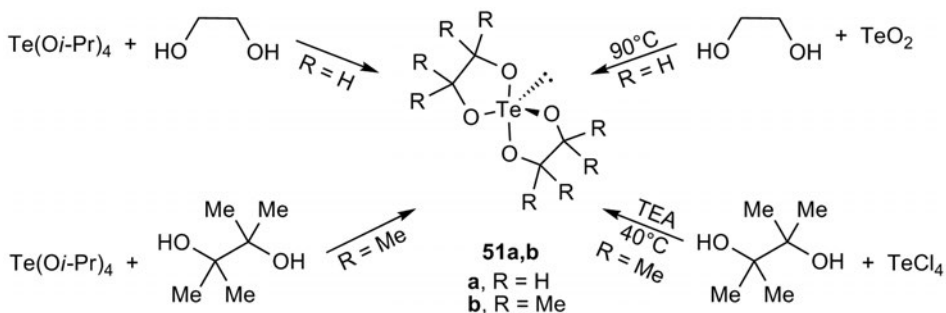
Schemat 18  
Scheme 18

Potraktowanie 1,5-ditelluracyklooktanu **48** chlorem prowadziło do uzyskania ditelluranu **49**, którego termoliza we wrzącym *N,N*-dimetyloformamidzie dostarczyła tritelluranu **50** z wydajnością 44% (Schemat 19). Hiperwalentność związków **49** i **50** potwierdzono za pomocą rentgenografii strukturalnej [47].

Tetraoksatellurany **51a** i **b** zostały otrzymane z ilościową wydajnością w dwójki sposób. Po pierwsze, przez potraktowanie tetraizopropoksytelluranu, odpowiednio, etano-1,2-diolem i 2,3-dimetylobutano-2,3-diolem (Schemat 20) [48]. Po drugie, w reakcji dwutlenku telluru z etano-1,2-diolem i w reakcji tetrachlorku telluru z 2,3-dimetylobutano-2,3-diolem w obecności trietyloaminy (Schemat 20) [8]. Na podstawie badań NMR stwierdzono, że związek **51a** ulegał nie pseudorotacji, ale zaproponowanej przez Martina inwersji klinowej [12].



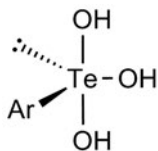
Schemat 19  
Scheme 19



Schemat 20  
Scheme 20

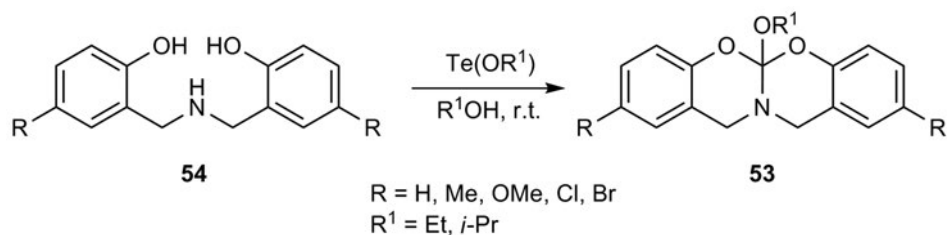
Za pomocą znaczenia izotopem  $^{18}\text{O}$  i wykorzystując technikę MS zidentyfikowano trihydroksytelluran **52** (Rys. 6) jako produkt przejściowy uczestniczący w procesie racemizacji kwasów tellurinowych w roztworze, w obecności wody [49].

Azodioksaoksytellurany **53** otrzymano metodą podobną do przedstawionej na Schemacie 20. Iminodiol **54** traktowano tetraetoksy- lub tetraizopropoksytelluranem w alkoholu, odpowiednio, etylowym lub izopropylowym jako rozpuszczalniku (Schemat 21). Związki **53** były trwale w inertyj atmosferze [50].



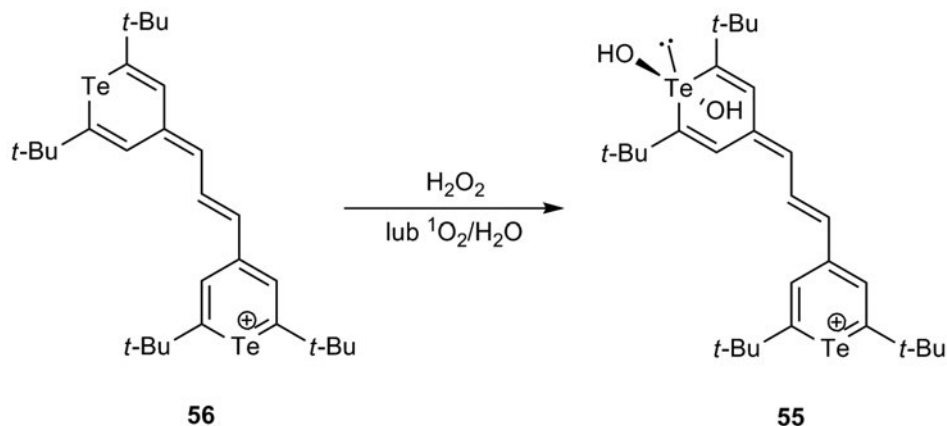
**52**

Rysunek 6  
Figure 6



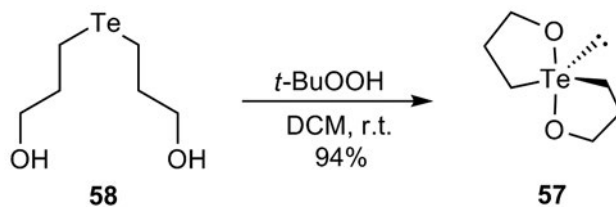
Schemat 21  
Scheme 21

Dihydroksytelluran **55**, otrzymany przez działanie na barwnik telluroniowy **56** nadtleniem wodoru lub singletowym tlenem w obecności wody (Schemat 22), okazał się być łagodnym utleniaczem [51, 52].



Schemat 22  
Scheme 22

Dioksattelluran **57** – efektywny mimetyk peroksydazy glutationowej – otrzymano w reakcji dihydroksytellurku **58** z wodoronadtlenkiem *tert*-butylu z wydajnością 94% (Schemat 23) [16].



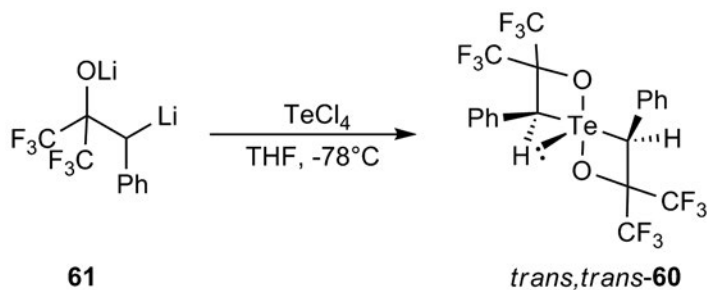
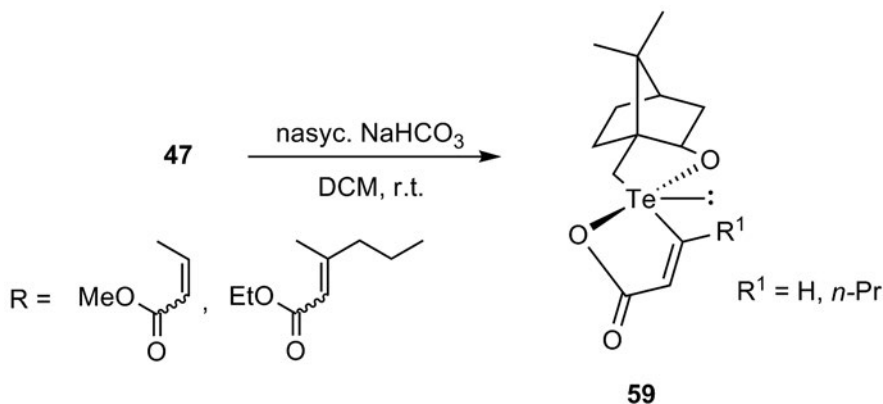
Schemat 23  
Scheme 23

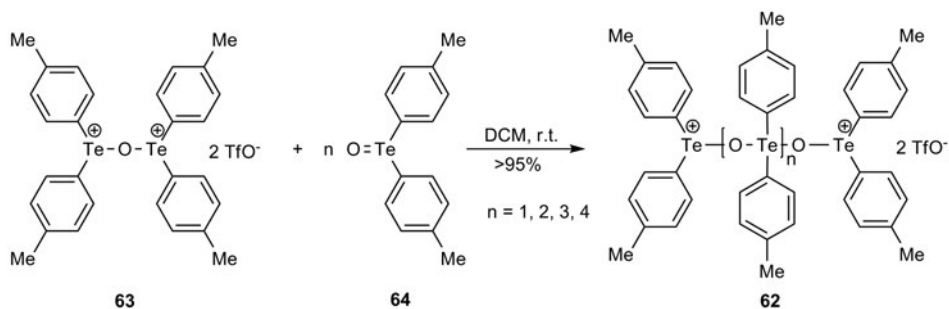


Opisywany wcześniej chlorotelluran **47**, a dokładniej jego *Z*-izomer, poddany hydrolizie w warunkach zasadowych, dostarczył dioksatelluranu **59** jako pojedynczego diastereoizomeru z dobrą wydajnością (Schemat 24) [18].

Spirobisoksyranową strukturę **60** w postaci czystego izomeru *trans,trans* otrzymano w reakcji nadmiarowej ilości tetrachlorku telluru z dilitopochodną odpowiedniego alkoholu **61** w tetrahydrofuranie jako rozpuszczalniku w  $-78^{\circ}\text{C}$  z wydajnością 13% (Schemat 25). W widmie  $^{125}\text{Te}$  NMR zaobserwowano multiplet ze względu na oddziaływanie dalekiego zasięgu jąder Te i F [19, 53].

Znane są także oligomeryczne struktury dioksytelluranowe. Związek **62** otrzymano z bardzo wysoką wydajnością przez potraktowanie soli ditelluroniowej **63** tellurotlenkiem **64** (Schemat 26) [54].

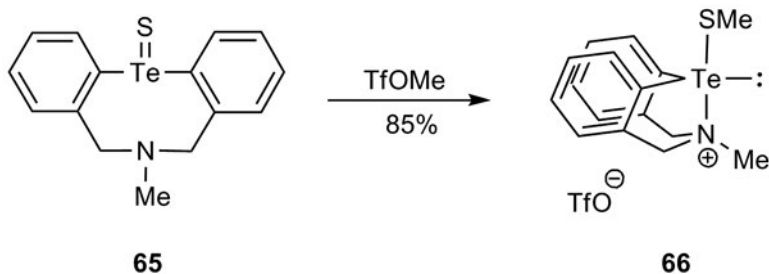




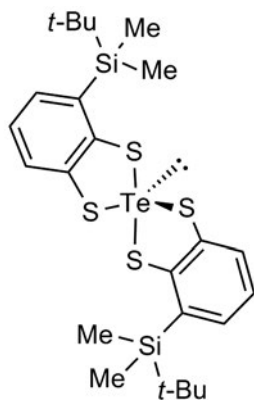
Schemat 26  
Scheme 26

Reakcja selektywnego metylowania azatiotellurotleku **65** za pomocą triflanu metylu skutkowała tworzeniem intramolekularnego wiązania Te-N i powstawaniem (metylotio)amoniotelluranu **66** z wydajnością 85% (Schemat 27). Istnieje on jako konformer łódkowy w zakresie temperatur od  $-50$  do  $100^{\circ}\text{C}$ , co wykazały badania  $^1\text{H NMR}$  [55].

Nieznane są trwałe hiperwaleńne struktury siarki ani selenu zawierające cztery ligandy siarkowe, natomiast używając tetrachlorku telluru i odpowiednich odczynników otrzymano stabilny krystaliczny tego typu telluran **67** (Rys. 7) z wydajnością 83% [56].



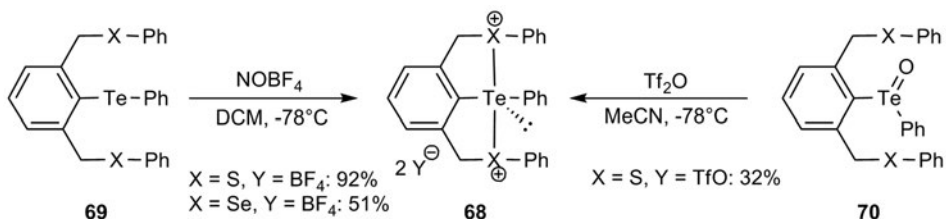
Schemat 27  
Scheme 27



67

Rysunek 7  
Rysunek 7

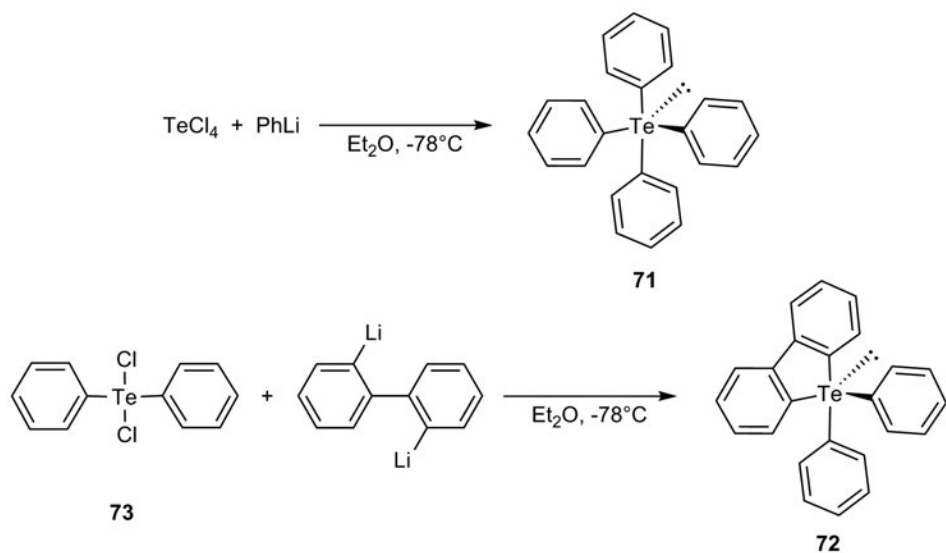
Znane są też tellurany posiadające dwa apikalnie usytuowane dodatkowo naładowane atomy siarki lub selenu **68**. Otrzymano je w reakcji odpowiedniego tellurku **69** z tetrafluoroboranem nitrozyłu w dichlorometanie jako rozpuszczalniku przy  $-78^{\circ}\text{C}$ , a także z tellurotlenku **70**, działając na niego bezwodnikiem triflanowym w acetonitrylu jako rozpuszczalniku przy tej samej temperaturze (Schemat 28). Dla związku **68**,  $\text{X} = \text{Se}$ , zarejestrowane widma  $^{125}\text{Te}$  i  $^{77}\text{Se}$  NMR w  $-40^{\circ}\text{C}$  pokazały nie tylko sprzężenia spinowo-spinowe między jądrem telluru a apikalnie położonymi jądrami selenu, ale także między samymi jądrami selenu [57, 58].



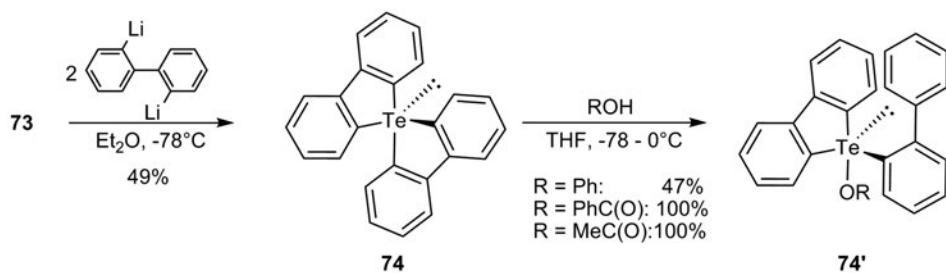
Schemat 28  
Scheme 28

W przeciwieństwie do sulfuranów i selenuranów, tellurany posiadające cztery podstawniki węglowe są z reguły trwałe i możliwe do wyizolowania w stanie czystym. Tetrafenylotelluran **71** otrzymano w reakcji tetrachlorku telluru z czterema ekwiwalentami fenylolitu w eterze dietylowym jako rozpuszczalniku prowadzonej w  $-78^{\circ}\text{C}$  (Schemat 29) [32]. 2,2'-Bifenylenodifenylotelluran **72** był produktem reakcji dichlorodifenylotelluranu **73** z 2,2'-dilitobifenylem w tych samych warunkach (Schemat 29) [32, 33]. Potraktowanie związku **73** dwoma ekwiwalentami

2,2'-dilitobifenylu w tetrahydrofuranie w temperaturze  $-78^{\circ}\text{C}$  skutkowało tworzeniem bis(2,2'-bifenyleno)telluranu **74** (Schemat 30) [32, 59, 60, 61]. Co interesujące, telluran **74** ulegał reakcji otwarcia jednego z pierścieni pięciocłonowych pod wpływem fenolu [59, 60] lub kwasów karboksylowych [61] w tetrahydrofuranie w temperaturach od  $-78$  do  $0^{\circ}\text{C}$  (Schemat 30). Badania rentgenostrukturalne wykazały hiperwalentną strukturę produktu **74'**.



Schemat 29  
Scheme 29

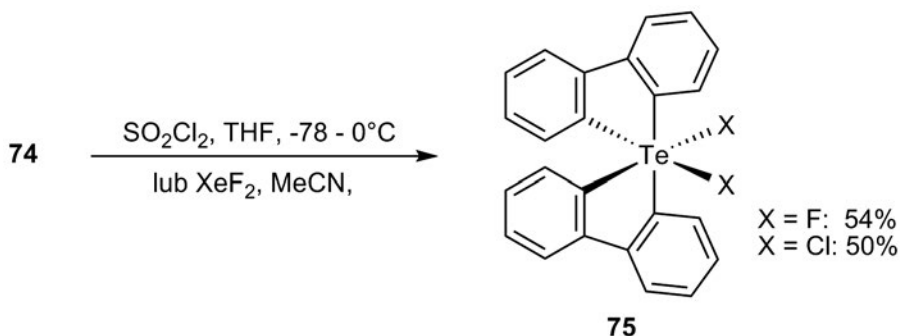


Schemat 30  
Scheme 30

## 2.2. PERTELLURANY 12-Te-6

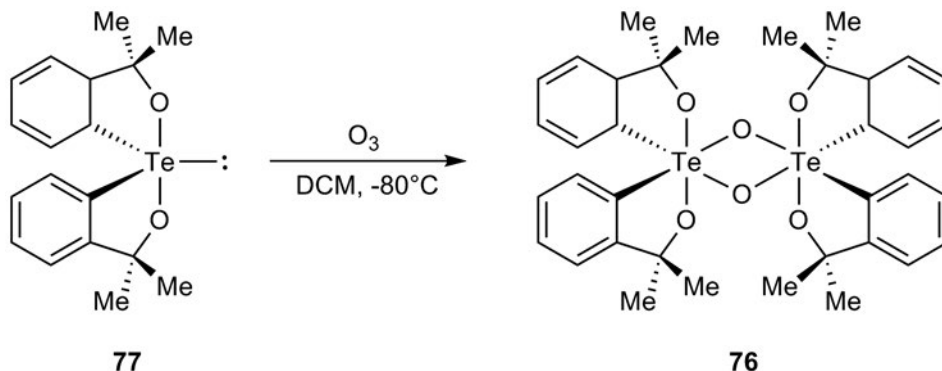
Dihalogenopertellurany **75** otrzymano poprzez działanie na telluran **74** odpowiednim czynnikiem halogenującym: chlorkiem sulfurylu w tetrahydrofuranie jako

rozpuszczalniku przy  $-78^{\circ}\text{C}$  lub difluorkiem ksenonu w acetonitrylu jako rozpuszczalniku w temperaturze  $-40^{\circ}\text{C}$  (Schemat 31). Otrzymane produkty posiadały konfigurację *cis* [37, 62, 63].



Schemat 31  
Scheme 31

Tetraoksadipertelluran **76** otrzymano działaniem ozonu na telluran **77** w dichlorometanie jako rozpuszczalniku w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  (Schemat 32) [64]. Podobny efekt uzyskano działając ozonem w tych samych warunkach na telluran **74** [65] oraz przez zasadową hydrolizę pertelluranu **75** z użyciem wodorotlenku sodu w obecności eteru koronowego 15-korona-5 w dichlorometanie [37, 63].

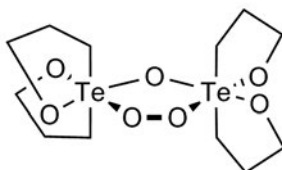


Schemat 32  
Scheme 32

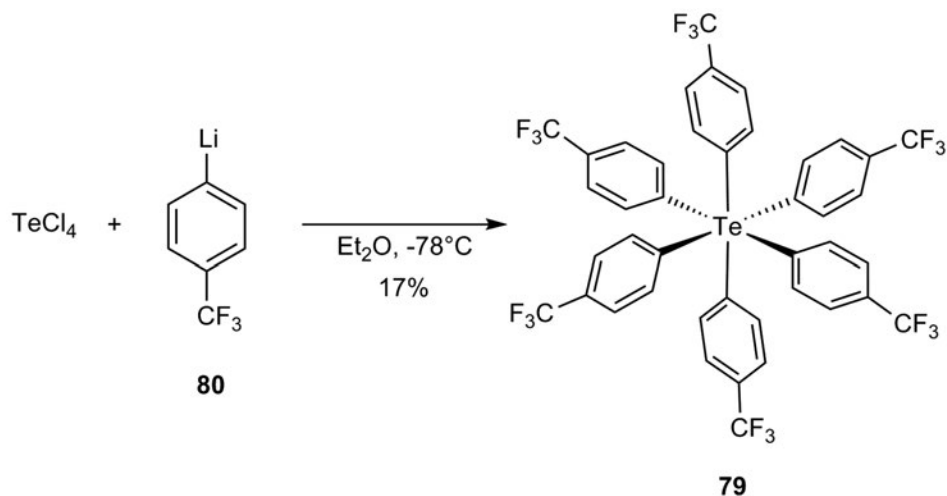
Z kolei potraktowanie telluranu **57** perhydrolem niespodziewanie prowadziło do otrzymania trwałego dipertelluranu **78** (Rys. 8) posiadającego wiązanie nadtlenkowe [16].

Interesującym osiągnięciem w chemii związków hiperwalentnych była synteza trwałego acyklicznego pertelluranu **79** posiadającego tylko podstawniki węglowe. Został on otrzymany z wydajnością 17% w reakcji 4-(trifluorometylo)litobenzenu **80** z tetrachlorkiem telluru w stosunku molowym 4:1 prowadzonej w eterze die-

tylowym jako rozpuszczalniku w temperaturze  $-78^{\circ}\text{C}$  (Schemat 33). Otrzymany związek był odporny na ogrzewanie zarówno w roztworze, jak i w fazie stałej do temperatury topnienia, podczas gdy związki typu 10-Te-4 ulegają w tych warunkach reakcji sprzęgania ligandów. Był też odporny na fotolizę, odczynniki halogenujące, a nawet na działanie związków litoorganicznych [66].



78

Rysunek 8  
Figure 8Schemat 33  
Scheme 33

## PODSUMOWANIE

W niniejszej czteroczęściowej pracy przeglądowej przedstawiona została historia odkrycia, rozwój metod syntetycznych oraz możliwości zastosowania hiperwalentnych związków siarki, selenu i telluru. Pomimo stosunkowo długiej obecności tego typu związków w chemii organicznej, jest to ciągle prężnie rozwijająca się dziedzina. W najnowszej literaturze fachowej przedstawiane są nowe metody syntezy nieopisanych dotąd trwałych związków hiperwalentnych o ciekawych właściwo-

ściach fizykochemicznych. Ponadto, w wielu przypadkach stanowią one podstawę wyjaśnienia lub weryfikacji mechanizmów i stereochemii wybranych reakcji oraz procesów chemicznych.

### PODZIĘKOWANIE

Niniejszy czteroczęściowy przegląd został przygotowany w ramach grantu promotorskiego KBN N204 323137 pt.: „Wybrane chiralne połączenia siarkoorganiczne charakteryzujące się równowagą pomiędzy strukturami o różnej liczbie koordynacyjnej centrum stereogenicznego”.

### PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] T. Takahashi, N. Kurose, S. Kawanami, Y. Arai, T. Koizumi, *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 3262.
- [2] J. Zhang, S. Saito, T. Koizumi, *Tetrahedron: Asymm.*, 1997, **8**, 3357.
- [3] N. Kurose, T. Takahashi, T. Koizumi, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 12115.
- [4] J. Drabowicz, J. Łuczak, M. Mikołajczyk, *J. Org. Chem.* 1998, **63**, 9565–9568.
- [5] T. Kataoka, T. Iwamura, H. Tsutsui, Y. Kato, Y. Banno, Y. Aoyama, H. Shimizu, *Heteroatom Chem.*, 2001, **12**, 317.
- [6] H. Fujihara, H. Mima, M. Ikemori, N. Furukawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 6337.
- [7] H. Mima, H. Fujihara, N. Furukawa, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 743.
- [8] D.B. Denney, D.Z. Denney, P.J. Hammond, Y.F. Hsu, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 2340.
- [9] Y. Nakashima, T. Shimizu, K. Hirabayashi, F. Iwasaki, M. Yamasaki, N. Kamigata, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 5020.
- [10] T. Umezawa, Y. Sugihara, A. Ishii, J. Nakayama, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 12351.
- [11] Y. Miyake, M. Oda, A. Oyamada, H. Takada, K. Ohe, S. Uemura, *J. Organomet. Chem.*, 2000, **611**, 475.
- [12] S. Allenmark, *Chirality*, 2008, **20**, 544.
- [13] A.G. Petrovic, P.L. Polavarapu, J. Drabowicz, Y. Zhang, O.J. McConnell, H. Duddeck, *Chem. Eur. J.*, 2005, **11**, 4257.
- [14] J. Drabowicz, J. Łuczak, M. Mikołajczyk, Y. Yamamoto, S. Matsukawa, K.-y. Akiba, *Tetrahedron: Asymm.*, 2002, **13**, 2079.
- [15] S. Claeson, V. Langer, S. Allenmark, *Chirality*, 2000, **12**, 71.
- [16] T.G. Back, D. Kuzma, M. Parvez, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 9230.
- [17] D.J. Press, E.A. Mercier, D. Kuzma, T.G. Back, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 4252.
- [18] J. Zhang, S. Takahashi, S. Saito, T. Koizumi, *Tetrahedron: Asymm.*, 1998, **9**, 3303.
- [19] a) T. Kawashima, *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **244**, 137; b) T. Kawashima, F. Ohno, R. Okazaki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1994, **33**, 2094.
- [20] T. Kawashima, F. Ohno, R. Okazaki, *J. Am. Chem. Soc.* 1993, **115**, 10434.
- [21] J.P. Marino, R.D. Larsen Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 4642.
- [22] Y. Nakashima, T. Shimizu, K. Hirabayashi, N. Kamigata, *J. Org. Chem.* 2005, **70**, 868.
- [23] T. Shimizu, N. Seki, H. Taka, N. Kamigata, *J. Org. Chem.* 1996, **61**, 6013.
- [24] N. Kano, Y. Daicho, N. Nakanishi, T. Kawashima, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 691.
- [25] H. Fujihara, H. Mima, T. Erata, N. Furukawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 9826.
- [26] H. Fujihara, H. Mima, N. Furukawa, *Tetrahedron* 1996, **52**, 13951.
- [27] A.J. Mukherjee, S.S. Zade, H.B. Singh, R.B. Sunoj, *Chem. Rev.*, 2010, DOI: 10.1021/cr900352j.

- [28] B.K. Sarma, D. Manna, M. Minoura, G. Mugesh, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 5364.
- [29] a) V.G. Nenajdenko, N.E. Shevchenko, E.S. Balenkova, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 229; b) H. Fujihara, J.J. Chiu, N. Furukawa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1986, 1359.
- [30] H. Fujihara, H. Mima, T. Erata, N. Furukawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 3117.
- [31] H. Fujihara, H. Mima, N. Furukawa, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 10375.
- [32] S. Sato, O. Takahashi, N. Furukawa, *Coord. Chem. Rev.*, 1998, **176**, 483.
- [33] S. Sato, N. Furukawa, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 2803.
- [34] T. Kataoka, S. Watanabe, K. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 2153.
- [35] S. Sato, M. Matsuo, T. Nakahodo, N. Furukawa, T. Nabeshima, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 8091.
- [36] J. Drabowicz, J. Łuczak, M. Mikołajczyk, Y. Yamamoto, S. Matsukawa, K.-y. Akiba, *Chirality*, 2004, **416**, 598.
- [37] N. Furukawa S. Sato, *Heteroatom Chem.*, 2002, **13**, 406.
- [38] Y. Takaguchi, H. Fujihara, N. Furukawa, *Organometallics*, 1996, **15**, 1913.
- [39] Y. Takaguchi, H. Fujihara, N. Furukawa, *J. Organomet. Chem.*, 1995, **498**, 49.
- [40] T. Laitalainen, M.R. Sundberg, R. Uggla, J. Bergman, *Polyhedron*, 1997, **16**, 2441.
- [41] P.C. Srivastava, S. Bajpai, R. Lath, S.M. Bajpai, R. Kumar, R.J. Butcher, *Polyhedron*, 2004, **23**, 1629.
- [42] F.S. Pessoto, P.A. Faria, R.L.O.R. Cunha, J.V. Comasseto, T. Rodrigues, I.L. Nantes, *Chem. Res. Toxicol.*, 2007, **20**, 1453.
- [43] D.S. Persike, R.L.O.R. Cunha, L. Juliano, I.R. Silva, F.E. Rosim, T. Vignoli, F. Dona, E.A. Cavaleiro, M.J.S. Fernandes, *Neurobiol. Dis.*, 2008, **31**, 120.
- [44] M. Abe, M.R. Detty, O.O. Gerlits, D.K. Sukumaran, *Organometallics*, 2004, **23**, 4513.
- [45] T. Takahashi, J. Zhang, N. Kurose, S. Takahashi, T. Koizumi, *Tetrahedron: Asymm.*, 1996, **7**, 2797.
- [46] J. Zhang, S. Saito, T. Koizumi, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 5423.
- [47] Y. Takaguchi, E. Horn, N. Furukawa, *Organometallics*, 1996, **15**, 5112.
- [48] H.E. Gottlieb, S. Hoz, I. Elyashiv, M. Albeck, *Inorg. Chem.*, 1994, **33**, 808.
- [49] Y. Nakashima, T. Shimizu, K. Hirabayashi, M. Yasui, M. Nakazato, F. Iwasakib, N. Kamigata, *Tetrahedron: Asymm.*, 2004, **15**, 3791.
- [50] I. Elyashiv, Z. Goldschmidt, I. Ben-Arie, P. Aped, M. Cojocar, H.E. Gottlieb, M. Albeck, *Polyhedron*, 1997, **16**, 4209.
- [51] M.R. Detty, *Organometallics*, 1992, **11**, 2310.
- [52] M.R. Detty, Scott L. Gibson, *Organometallics*, 1992, **11**, 2147.
- [53] N. Kano, T. Takahashi, T. Kawashima, *Tetrahedron Lett.*, 2002, **43**, 6775.
- [54] K. Kobayashi, N. Deguchi, O. Takahashi, K. Tanaka, E. Horn, O. Kikuchi, N. Furukawa, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, **38**, 1638.
- [55] H. Fujihara, T. Uehara, N. Furukawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 6388.
- [56] R. Steudel, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 3905.
- [57] K. Kobayashi, S. Sato, E. Horn, N. Furukawa, *Angew. Chem.*, 2000, **112**, 1374.
- [58] N. Furukawa, K. Kobayashi, S. Sato, *J. Organomet. Chem.*, 2000, **611**, 116.
- [59] S. Sato, N. Kondo, N. Furukawa, *Organometallics*, 1994, **13**, 3393.
- [60] S. Sato, N. Kondo, N. Furukawa, *Organometallics*, 1995, **14**, 5393.
- [61] S. Sato, N. Kondo, E. Horn, N. Furukawa, *Organometallics*, 1998, **17**, 1897.
- [62] S. Sato, T. Yamashita, E. Horn, N. Furukawa, *Organometallics*, 1996, **15**, 3256.
- [63] S. Sato, T. Yamashita, E. Horn, O. Takahashi, N. Furukawa, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 12183.
- [64] R.S. Michalak, S.R. Wilson, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 1529.
- [65] S. Sato, T. Ueminami, E. Horn, N. Furukawa, *J. Organomet. Chem.*, 1997, **543**, 77.
- [66] M. Minoura, T. Sagami, M. Miasato, K.-Y. Akiba, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 12195.



FELIETON NAUKOWY



OKRUCHY XXVII.  
O CHEMIKACH MENNICY 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 pięcioro się habilitowało. Autor 9 książek, 275 prac oryginalnych i ponad 140 artykułów przeglądowych oraz dotyczących historii nauki. W latach 1983–1994 Redaktor Naczelny „Wiadomości Chemicznych”. Obecnie opiekun Gabinetu Historii Chemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Jednym z pierwszych poczynań króla Stanisława Augusta, jakie podjął po objęciu tronu polskiego, było uporządkowanie gospodarki monetarnej. W roku 1765 powołano do życia mennicę warszawską. W tym samym roku, 10 stycznia, król powołał Komisję Menniczą. O wadze tego poczynania może świadczyć jej skład. Weszli do niej obydwaj kanclerze, koronny i litewski. Znaleźli się tam także między innymi przyjaciel króla, August Muszyński i podkomorzy inflancki, Jan Borch, ojciec przyszłego przyrodnika polskiego, Michała Jana Borch. W Komisji znalazł się też mianowany dyrektorem mennicy Aleksander Unruh. Wiadomości o wczesnych latach historii mennicy znaleźć można w publikacji Władysława Terleckiego [1].

Fachowy trzon poczynania stanowili dwaj przybyli z Gdańska bracia, Antoni i Justus Karol Schröderowie. Pierwszy z nich, w późniejszych latach wybitny działacz warszawskiego wolnomularstwa, został probierzem Komisji Skarbu Koronnego, drugi – mincmajstrem w mennicy. Była to ceniona i dobrze opłacana praca. Antoni Schröder miał pensję 550 dukatów i dodatkowo 4 tys. złotych polskich na koszty mieszkania i opału. Pierwszym probierzem mennicy był Antoni Partenstein, po kilku latach z mennicy wydany za nadużycia.

Mennica była silnym przyczółkiem chemii analitycznej. Pracujący tam ludzie musieli się znać na sztuce probierczej, umieć oznaczać zawartość poszczególnych metali w stopach i surowcach mennicznych, wykrywać fałszywą monetę. Wśród rękopisów Ossolińskich znajduje się nieznanego autorstwa skrypt, noszący tytuł „Rękopis dziennika dla pamięci od roku 1770 do 1781”. Pisał ten dziennik jakiś oficjalista mennicy, wyraźnie obarczony poufną misją baczenia na to, co się w mennicy dzieje. Od dawna zabierałem się do przeczytania tego rękopisu. Ale cóż – nie pozwoliły na to inne bieżące prace. Odkładałem rzecz do emerytury. Przyszła razem z poważnym osłabieniem wzroku. Praca ta stała się więc dla mnie niewykonalna. Wracam więc do dawnych notatek, obejmujących pierwszy rok dziennika (1770), z zamiarem, by w ten sposób zwrócić uwagę na ten interesujący dokument, dotyczący w jakimś stopniu dziejów znajomości chemii w Polsce.

Dziennik pisał człowiek wprawdzie w chemii i metalurgii nie nazbyt biegły, ale przecież żądny poznania tajemnic menniczego zawodu. Jego notatki pozwalają z jednej strony poznać codzienny bieg życia w mennicy, ale z drugiej strony śledzić jego usiłowanie poznania sekretów zawodu, zrozumienia tajemnic chemii metali.

I tak, pod datą 7 lutego nasz kronikarz zanotował: „szedł tygiel w nocy na półzłotówki”, 8 lutego: „tyglarnia srebrna na szyny miedziane miedź topiła”. 9 Lutego przyjmowano „od biskupa kijowskiego, kosztowności kościelne. „Był przy ważeniu p. Unrug, Schröder Mincmajster, Lebe’ Buchalter, Brendel Probierz”. I wreszcie ogólniejsza wiadomość: „od dnia 10 lutego prawie przez cały tydzień miedź topiono, wyciągano i stemplowano”. Dobytek mennicy służył nie tylko na potrzeby własne. Użyczano go innym osobom prowadzącym jakieś chemiczne operacje. I tak np. 30 marca nasz kronikarz zanotował: „Wzięto z Magazynu Menniczego tyglów wielkich auszpurkich Nr 4; zawieźli Nr 2 do Jeg. Moszyńskiego, stolnika K<sup>o</sup>, a Nr 2 do Moskalów na Pragę”.

10 Kwietnia, o 12 godzinie w południe „był król w mennicy”. Niestety, dyrektor Unrug „już był wyjechał na wizyty”. 29 Maja „tyglarz Jaxa powiadał, że się spodziewają z Gór Polskich srebra nowo dobytego”. Dalej znajdujemy interesującą wiadomość o specjaliście niemieckim, wykorzystywanym w pracach prowadzonych przez Moszyńskiego: „Dziad z Niemiec, nazwiskiem Knur z Saxonii u Melicha znajdował się (Melich prowadził w mennicy rachunkowość, I.S.), który na kruszczach miał się znać i już dla tego przed czasem brał Pensyą z skarbu królewskiego. Temuż od JM Moszyńskiego miano różne kruszce poprzynosić do próbowania”.

Koniec maja przyniósł niecodzienną awanturę. Mincmajster Schröder pobił się z „unteroficyjerem”. 23 Czerwca „szedł tygiel na 2 złotówki, brał próbę Partensztejm i Brandel i Schröder, ani Fryz nie był”. Potem rozwinęła się większa awantura. Stanisław Szmalczerz złożył zeznania obciążające kierowników mennicy. „Potym dopiero sfałszowanie srebra wzięli przyszedłszy Partensztejm i Brandel, w papierku szrut na próbę”. 3 Lipca mennice wizytował Komisarz Skarbu Moszyński w towarzystwie byłego nadzorcy mennicy krakowskiej, „Pana Jabłonowskiego”. Pod datą 14 sierpnia znajdujemy wiadomość, że gdy Partensztejm jeździł po pieniądze do Czech, przywiózł w podarunku dla dyrektora Unruga „różne kamienie czeskie”. I tak dzień po dniu staje nam przed oczyma codzienny bieg spraw w mennicy.

Ale, jak powiedzieliśmy, nieznanym nam z imienia kronikarz chciał poznać tajemnice menniczego zawodu. Wszystko, czego się dowiedział, skrupulatnie zapisywał. Jego notatki dają więc niezłe pojęcie o poziomie wiedzy chemicznej w kręgach ludzi zawodowo z chemią nie związanych, a więc są dla nas szczególnie ciekawe. Spójrzmy więc i od tej strony na notatnik naszego kronikarza. „Miedź – notuje on wśród zasłyszanych wiadomości – z wszystkich kruszców najgłośniejsza. Żelazo rozpalone octem zalawszy uczyni się kruche i do niczego zdatne. Do miedzi nie tylko ołów, ale i żelazo mieszane być może na robienie pieniędzy”.

Ciekawa uwaga dotyczy szlachty krakowskiej. „W Krakowie – dowiadujemy się – są szlachta, którzy umieją około kruszców chodzić i ciż wiele srebra złotnikom sprzedają krakowskim”. Pojawia się też w zapiskach wiadomość o cenach metali. „Szmul – czytamy – żyd, który u mincmajstra i Drosta szeydowywa złoto od srebra, czyli odpędza, albo oddziela złoto od srebra, powiedział, że cetnar miedzi płaci się w Królewcu po czerwonych złotych 12”. Tutaj zwraca uwagę niecodzienne słowo „szeydowywa”. Oznacza ono oddzielenie złota od srebra przy pomocy kwasu azotowego. „Scheidewasse” – to w dawnej niemczyźnie kwas azotowy. Napotykać dalej ciekawą informację o chemicznych własnościach srebra. „Gdy się srebro – notuje kronikarz – czyści przez serwaser, a wrzucił by kto soli prostej odrobinę, serwaser zgęstnieje jako mleko i nie puści się na dno srebro, aż za wrzuceniem kawałka miedzi”. Autor notatek nie umie powiedzieć, co się właściwie tutaj dzieje, ale skrupulatnie notuje zasłyszane wiadomości.

Dowiadował się też u znających się na rzeczy, jak prowadzić stapianie srebra. Powiedziano mu, że „w tygielku z gliny białej, ustawionym między cegłami węglami obłożonymi topi się srebro, gdy się roztopi (wrzucają) w niego kawałek weynsz-

tejnu, czyli winokamienia, on ma różności srebra dobrze mieszać między sobą; mieszają srebro cienkim żelazkiem czyli drutem, ale wprzód rozgrzanym by do niego srebro przylegało i dlatego trzeba tak tygiel, jak też naczynie, gdzie się srebro wylewa rozgrzać; przed wylaniem; miejsce to trochę rozetrzeć a potem, żeby było białe, w wodzie z weynsztejnem i solą zmieszaną wygotować”. Inny przepis dotyczy użycia boraksu do oczyszczaniu srebra i złota. „Borax –notuje kronikarz – kładzie się do złota i do srebra; gdy się roztopi, tak iż srebra, jako i złota brud zostanie po wierzchu, a czysta materia u spodu”. I wreszcie mamy też dowód, że fachowcy menniczy stosowali sięgającą dawnych czasów metodę oddzielenia srebra od miedzi przy pomocy tzw. likwacji z ołowiem. Pisałem kiedyś o tym procesie w innym miejscu [2]. W omawianych notatkach wygląda on następująco: „Szeydują zaś tak, że wprzód na popiołku ubitym kawałami w ołowiu odpędzają miedź od srebra, potym to srebro granują, to jest stopiwszy śrut z niego leją przez miotełkę na wodę i potym w retorty szklane włożywszy, według wagi sypią i serwaser leją i tak serwaser srebro w się weźmie, a złoto opadnie”.

Wśród notatek znajdujemy też wypiski z gazet, które wydały się kronikarzowi ważne lub interesujące. Notuje więc on, że w gazecie z 8 sierpnia, drukowanej w Drukarni Jezuickiej zamieszczono sposób preparowania „octu czterech złodziei”. Rzecz jasna natychmiast poszedłem tym tropem, ale luki w zbiorach starych czasopism nie pozwoliły mi odnaleźć tego wielce interesującego przepisu. Nie wiem zatem, czym się różnił „ocet czterech złodziei” od bardziej znanego „octu siedmiu złodziei”. Ten zaś ostatni był lekiem przeciwko dżumie. By go otrzymać, w occie winnym przez 12 dni moczono mieszaninę ziół lekarskich, złożoną z bylicy, piołunu, ruty, rozmarynu, szaławii lekarskiej i innych roślin. Można przypuszczać, że ocet czterech złodziei różnił się od octu siedmiu złodziei kompozycją roślinną.

Inna wiadomość „z gazet”, jaką podaje nasz kronikarz, jest taka, że „u Gröbla” jest do dostania „Sztuka węglarska” i „Sztuka szafrannika”. Pierwszą napisał francuski inżynier i botanik, H.L. Duhamel de Monceau (1700–1782). W roku 1770 zaczęto też wydawać w polskim przekładzie jego sześciotomowe dzieło o rolnictwie. Drugie, wymienione tu dziełko, to „Sposób wyprawiania safianów, czyli sztuka szafrannika, w języku francuskim przez pana De La Lande napisana i staraniem i kosztem J.W. Imci Pana Hiacynta Małachowskiego, Referendarza W.K., Piotrkowskiego i Grodzieńskiego Starosty na ojczysty język przełożona, w Warszawie 1770”.

Nasz kronikarz obracał się w kręgu ludzi w jakiejś mierze twórczych, otwartych na techniczne i technologiczne nowości. Nie można powiedzieć, by go ludzie ci zachwycali. „Taka jest – pisał – zazdrość między uczonemi, iż gdy o którym co wynajdującym nowego usłyszą, zaraz kładą w Gazety, że w tamtym a w tamtym kraju to i to ktoś inny pierwszy wynalazł, od czego zaraz wstręt swemu Polskiemu człowiekowi czynią do dochodzenia swego wynalazku”.

Jak poświadcza tekst omawianej kroniki prace mennicze opierały się w pierwszych latach jej działania na kadrach importowanych. Sytuacja ta ulegała dość szybkim zmianom. Król wyraźnie też wspierał kształcenie młodych, polskich fachowców. Jak czytamy u Korzona [3], w roku 1789 Komisja Skarbu Koronnego zdecydowała

się wysłać trzech ludzi na naukę w Akademii Górniczej w Bańskiej Szczawnicy. W tym poczynaniu ważną rolę odegrał powołany do Komisji Kruszcowej Tadeusz Czacki [4]. Stypendystami tymi byli Bieńkowski, Mieroszewski i Okraszewski. Pierwsi dwaj byli młodymi kandydatami do zawodu, Okraszewski, chemik królewski, był człowiekiem starszym i doświadczonym. Nasuwa się przypuszczenie, że jego wyjazd mógł mieć charakter wywiadowczy. Profesor w Szczawnicy, Antoni Ruprecht (1748–1814), uczestniczył wraz z wiedeńskim mineralogiem, Ignacym Bornem, w pracach nad amalgamacyjną technologią wydzielania złota ze złóż. Technologią tą interesował się bardzo król i nie można wykluczyć, że to chęć dowiedzenia się o wszystkim u źródła skłoniła króla, by włączyć Okraszewskiego do wysyłanej trójki. Jak głosiła decyzja Komisji Skarbu, delegowani na naukę mieli się tam uczyć „mineralogii, metalurgii, documazji, szychty, wardajnostwa, i podziemnego miernictwa”.

Ignacy Jakub Bieńkowski (1771–1838), bo nim się tu bliżej zajmiemy, po ukończeniu studiów w Bańskiej Szczawnicy związał się zawodowo z mennicą warszawską. Rozpoczął w niej prace jako subaltern (młodszy urzędnik), potem był probierzem, generalnym inspektorem, a w latach 1816–1838 – dyrektorem. W swoim czasie w leksykonie chemiczno-farmaceutycznym Ferchla [5] natknąłem się na wzmiankę o publikacji chemicznej Bieńkowskiego, którą jakby zamieścił w paryskim „Journal de Physique” w roku 1788. Wiele czasu poświęciłem, by tę pracę odszukać. Miała to być praca o maszynie do zapalania wodoru [6]. Komplet czasopisma znalazłem w bibliotece Seminarium Ewangelickiego w Tybindze. Znajdował się na najwyższej półce magazynowej w bardzo wysokiej sali starego budynku. Bibliotekarka nie miała dość siły, by przynosić mi kolejne grube tomy. Wpuściła mnie po prostu do magazynu. Tam spędziłem wiele godzin siedząc sobie na wysokim podeście i przekładając stare foliały. Były to niezapomniane chwile, znamionujące mój bardzo bliski kontakt ze starą książką. Ale cóż – nie znalazłem tam pracy Bieńkowskiego. Potem jeszcze raz zarzuciłem sieć. Poprosiliśmy Bibliotekę Narodową w Paryżu, by nam pomogła. Przeszukano tam obszerną część zbiorów tego czasopisma. Bez rezultatu. Najwiśdziej u Ferchla zdarzyła się jakaś pomyłka. Ale pomocni Francuzi znaleźli inną publikację dwóch naszych studentów w Bańskiej Szczawnicy. Jest to wyciąg z ich listu do redakcji paryskiego czasopisma „Annales de Chimie” z roku 1791 [7].

Było to niedługo po przyjeździe Polaków do Szczawnicy. Profesor Ruprecht pracował nad swoim wielkim, jak mu się pewnie wydawało, odkryciem życia. Udało mu się, jak sądził, zredukować do postaci metalu tlenki wapnia, baru, magnezu i glinu. Dzisiaj to „odkrycie” figuruje na liście rzekomych odkryć pierwiastków chemicznych, sporządzonej przez V. Karpenkę [8]. Jako odkrycie *austrum*, datowane jest na rok 1785. Jak dziś wiemy, wymienione wyżej tlenki nie mogły ulegać redukcji w warunkach podanych przez Ruprechta. Magnez, bar i wapń otrzymał Davy na drodze elektrolitycznej, glin – po raz pierwszy duński chemik, Oersted (1825), działając amalgamatem potasu na bezwodny chlorek glinu. Młodzi Polacy postanowili powtórzyć procedurę Ruprechta. Oto skrócony przez redakcję „Annales” opis wykonanych przez nich prac:

„Wyciąg z listu Panów Mieroszewskiego i Bieńkowskiego z Schemnitz  
(*Annales de Chimie*, t. IX, s. 51–53, 1791)

Pan Tondi, Neapolitańczyk, razem z Panem Profesorem Ruprechtem, ogłosił następujące odkrycia:

- 1°. Z baryty otrzymał on metal o kolorze żelaza, przyciągany przez magnes, który nazwał *borbonium*.
- 2°. Magnezja dała mu inny metal, który nazwał *austrum*. Ten, otrzymany z magnezji metal, ma kolor szarawy, jest twardszy od wolframu i od molibdeny. Nie przyciąga go magnes.
- 3°. Z wapna (otrzymał) metal koloru platyny, dający się b. łatwo polerować, który nazwał – jak i poprzedni – *austrum*.

Po tych trzech odkryciach pan Tondi odbył podróż do Wiednia, gdzie powtórzył swoje eksperymenty przed gronem uczonych stolicy.

Po powrocie do Schemnitz, Pan Tondi z glinki otrzymał metal, który nawał *apulium*, a w dwa dni po tych doświadczeniach Pan Ruprecht otrzymał wiadomość, że oficer artylerii, P. Jiawski, dokonał bez mała tego samego odkrycia, a co więcej, działając kwasem siarkowym i ogniem, przywrócił metalowi postać czystej glinki.

Jak dotąd nie udało mu się to z krzemieniem, ale jest przekonany, iż odkrył, że kwas borowy zawiera jako *principium* pewien metal, o którym mówi, że go wydzielił. Nie przyciąga go magnes, a nazwał go *bornium*.

Oto procedura, dzięki której P. Tondi otrzymał wyżej wymienione metale. Wziął on pewną ilość każdej z ziem, poddanych eksperymentowi, doprowadził do postaci delikatnego proszku i podzielił na trzy równe części. Każdą część tej ziemi mieszał z pyłem węglowym, aż do uzyskania koloru ołowiu. Dodał oliwy, by uzyskać masę gęstą i lepka. Każdą z części masy umieścił w jednym z rogów trójkątnego tygla, bliżej dna niż górnej krawędzi (mniej niż do połowy). Tygiel dopełnił sproszkowanym węglem, a ten znów pokrył innym, bardzo miłym proszkiem z innej kupelki. Pod spód dał płaski kawałek twardego węgla i trzymał w ogniu przez półtorej godziny, przy ciągłym wdmuchiowaniu powietrza.

Panowie polscy studenci powtórzyli te doświadczenia, stosując procedurę Pana Tondi i otrzymali takie same wyniki, ale podejrzewając, że to jakieś obce ciała mogły dostarczyć tych metali, usunęli proszek z kupelki (górną) i nie otrzymali żadnego metalu. Obecnie prowadzą dalsze doświadczenia nad tym problemem”.

(Z języka francuskiego przełożyła Alicja Szastyńska-Siemion)

Nie wiemy, czy te doświadczenia miały ciąg dalszy. Ale ostatnie zdania tego tekstu musiały chemików bardzo zastanowić. Kryła się przecież w nich wyraźna sugestia, że wyniki pana Tondi mogły być błędne, a kto wie, może nawet kryły w sobie próbę jakiegoś, jak się dziś mówi, przekłamania. Dodajmy jeszcze, że opisane tu „nowe” metale, apulium i borbonium, też figurują na liście rzekomych odkryć, sporządzonej przez Karpenkę. Przypisane są one tam autorstwu wyłącznie p. Tondi.

Cała ta przygoda młodych Polaków może świadczyć, że nie tak wiele mogli się oni w Szczawnicy nauczyć. Bo też były to raczej lata schyłku dawnej sławy szczawnickiej szkoły. Niestrudzenie podróżujący po tych okolicach Baltazar Hacquet zapisał w dziennikach swoich podróży, że szkoła, stojąca dawniej sławą takich uczonych, jak Nikolaus Poda, N.J. Jacquin, J.A. Scopoli, Ch.F. Delius, dziś (tj. w 1794 roku) ma teraz tylko dwóch nauczycieli, pozbawionych sławy poprzedników [9]. Taką, mało pochlebną opinię o szkole, mogli ze sobą przywieźć polscy stypendyści, bo kiedy za krótkotrwałych rządów Komisji Obydwojga Narodów wysyłano na podobne studia stypendystów z Litwy, Wincentego Małachowicza, Mikołaja Sobolewskiego i Michała Andrzejkowicza (zamienionego później na Tomasza Żarskiego), posłano ich nie do Szczawnicy, a do Freibergu [10].

Współautor listu ze Szczawnicy, Ignacy Bieńkowski, był później, jak wyżej zaznaczyliśmy, dyrektorem mennicy warszawskiej. Kierował nią za czasów Księstwa Warszawskiego i Królestwa Kongresowego, a także w burzliwym roku Powstania Listopadowego. Władze powstańcze aresztowały wtedy, i to pod zarzutem szpiegostwa, zastępcę dyrektora mennicy, niejakiego Hoffmanna. Przyznał się, że istotnie współpracował z tajną policją Wielkiego Księcia. Sam zaś Bieńkowski miał później dochodzenie, bo podczas powstania bił monety bez przepisanej portretu cesarza, za to z Orłem i Pogonią. Zostały one unieważnione 14 maja 1837 roku, a całkowicie je wycofano do czerwca 1838. Zbiegło się to w czasie z samobójstwem Bieńkowskiego. Próbował je popełnić, przy pomocy brzytwy, 1 września 1838; próba nie była w pełni udana. Zmarł 16 września tegoż roku, zostawiając następujący testament:

„Gdy pismo to oddane zostanie Komisji Przychodów i Skarbu, nie będę mnie już w liczbie żyjących. Proszę nie mniemać by przyspieszenie zgonu mego było skutkiem jakiegoś nadużycia. Żadne nie zaszło w ciągu 30-letniego mego urzędowania, w którym 170 milionów złotych wybitych zostało. Porządek służby publicznej wymaga rewizji nadzwyczajnej w mennicy i ta, spodziewam się, w porządku wszystko znajdzie. Na urząd dyrektora ośmielam się podać Kontrolera Generalnego, JW. Biernackiego, który jest obeznany, uczciwy i pilny. Ofiarowuję do mennicy zbiór bardzo szacowny manuskryptów po uczonym Schroderze, z czasów Rzplitej, proszę je wziąć pod opiekę jako własność skarbu, może być to użytecznym w czasach terażniejszych, gdy na wydoskonalenie i odmianę stopy menniczej się zanosi. Polecam łaskawym względom Komisji Rządowej i Skarbu cały skład dyrekcji menniczej, są to ludzie gorliwi i uczciwi i warci polepszenia losu. Dnia 20 sierpnia 1838 roku. Bieńkowski, dyrektor mennicy” [11].

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W. Terlecki, *Mennica Warszawska, 1765–1965*, Oss., Wrocław 1970.
- [2] I.Z. Siemion, *O chemii i alchemii w Polsce Złotego Wieku*, Wiad. Chem., 2009, **63**, 933.
- [3] T. Korzon, *Wewnętrzne dzieje Polski za Stanisława Augusta, (1764–1794)*, T. IV, Kraków-Warszawa 1897, s. 130.



- 
- [4] Patrz: K. Kacykowski, *Wspomnienia*, Lwów 1876, s. 2.
- [5] F. Ferchl-Mittenwald, *Chemisch-Pharmazeutisches Bio- und Bibliographikon*, Mittenwald 1937.
- [6] Wzmianka ta brzmi: „Bienkowsky, Ueber eine Wasserstoffzündmaschine, Paris 1788, Journ. d. Physique“.
- [7] *Extrait d'une lettre écrite de Schemnitz; par MM. Mcicroszewski et Bienkowski*, Annales de Chimie, 1791, t. IX, s. 51.
- [8] T. Karpenko, *The discovery of the supposed new elements: two centuries of errors*, Ambix, 1980, 27, 77.
- [9] *Hacquet's neueste physikalisch-politische Reise in den Jahren 1794 udd 95 durch die Dacischen und Sarmatischen oder Nordlichen Karpathen*, Th. IV, Nürnberg 1796, s. 196.
- [10] Por. odsyłacz [3].
- [11] Podają za: W. Terleckim, dz. cyt., s. 141.



## INFORMACJE

### INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

#### CENY PRENUMERATY NA ROK 2013

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2013 r. będzie wynosiła **200 zł** dla instytucji i niezrzeszonych prenumeratorów indywidualnych. Dla członków PTChem **20 zł**. 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 2013 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

---

### Wyróżnione prace doktorskie lub habilitacyjne

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” w porozumieniu z Radą Redakcyjną podjęła decyzję o utworzeniu nowego działu, zatytułowanego „Wyróżnione prace doktorskie i habilitacyjne”. Redakcja przyjmuje do publikacji artykuły oparte na pracach doktorskich lub habilitacyjnych, które zostały wyróżnione przez Rady Wydziałów, przed którymi toczyły się odpowiednie procesy.

Objętość prac nie powinna przekraczać piętnastu stron maszynopisu. Artykuły powinny zawierać: przedstawienie doniosłości podjętej tematyki badawczej, cel rozprawy doktorskiej lub habilitacyjnej oraz w miarę zwięzły opis uzyskanych wyników przedstawiony w możliwie przystępny sposób a także wnioski końcowe.

W notce biograficznej autora poza standardowymi informacjami powinny zostać zamieszczone następujące dane: termin obrony pracy doktorskiej lub kolokwium habilitacyjnego, Rada Wydziału, przed którą toczył się przewód, nazwisko promotora (dotyczy rozpraw doktorskich) oraz nazwiska recenzentów.

Serdecznie zapraszamy doktorów habilitowanych oraz doktorów, których prace zostały wyróżnione w ciągu ostatniego roku do nadsyłania swoich prac.



*Wszystkim czytelnikom, radosnych, pełnych życzliwości  
Świąt Bożego Narodzenia  
oraz  
wszelkiej pomysłowości w nadchodzącym Nowym Roku  
życzy*

*zespół redakcyjny „Wiadomości Chemicznych”*

**LISTA RECENZENTÓW WSPÓŁPRACUJACYCH  
Z REDAKCJĄ „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH” W LATACH 2011–12**

**prof. zw. dr hab. inż. Stanisław Błażewicz**

Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie; Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki; Katedra Biomateriałów

**prof. dr hab. Stanisław Boryczka**

Śląski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Chemii Organicznej

**prof. dr hab. Jerzy Boryski**

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN

**prof. zw. dr hab. Wanda Brzyska**

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej; Wydział Chemii; Zakład Chemii Ogólnej i Koordynacyjnej

**prof. zw. dr hab. inż. Bogdan Burczyk**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Instytut Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych

**prof. zw. dr hab. inż. Jerzy Feliks Choma**

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach; Wydział Matematyczno-Przyrodniczy; Instytut Chemii

**dr Grażyna Chwatko**

Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii; Katedra Chemii Środowiska

**prof. dr hab. Leszek Adam Czepirski**

Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie; Wydział Energetyki i Paliw, Katedra Chemii Węgla i Nauk o Środowisku

**prof. dr hab. Jerzy Datka**

Uniwersytet Jagielloński; Wydział Chemii; Zakład Chemii Nieorganicznej

**dr Krzysztof Drabent**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**dr inż. Mateusz Fijałkowski**

Technická Unverzita w Liberci, Institute for Nanomaterials, Advanced Technology and Innovation

**prof. dr hab. Jolanta Floryszak-Wieczorek**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajo-  
brazu; Katedra Fizjologii Roślin

**prof. dr hab. Andrzej Wincenty Gamian**

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu; Wydział Lekarski; Kate-  
dra i Zakład Biochemii Lekarskiej

**prof. dr hab. Roman Gancarz**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Technologii  
Organicznej i Farmaceutycznej

**prof. zw. dr hab. Jacek Gliński**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Grzegorz Grynkiewicz**

Instytut Farmaceutyczny, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa

**prof. dr hab. Hanna Maria Gulińska**

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Dydak-  
tyki Chemii

**prof. dr hab. Jerzy Kazimierz Hanuza**

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu; Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny;  
Instytut Chemii i Technologii Żywności

**dr hab. inż. Andrzej Huczko**

Uniwersytet Warszawski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. inż. Stefan Jankowski**

Politechnika Łódzka; Wydział Chemiczny; Instytut Chemii Organicznej

**prof. zw. dr hab. inż. Paweł Kazimierz Kafarski**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Chemii  
Bioorganicznej

**dr Edyta Kostrzewa-Susłow**

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; Wydział Nauk o Żywności; Katedra  
Chemii

**prof. dr hab. inż. Małgorzata Kotulska**

Politechnika Wrocławska, Instytut Inżynierii medycznej i Pomiarowej

**prof. dr hab. Teresa Kowalik-Jankowska**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Bogusław Kazimierz Kryczka**

Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii; Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej

**prof. dr hab. Andrzej Książczak**

Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Zakład Materiałów Wysokoenergetycznych

**prof. dr hab. Przemysław Kubisa**

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN

**prof. dr hab. Stanisław Lamparski**

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Chemii Fizycznej

**prof. zw. dr hab. Zdzisław Latajka**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Stanisław Leśniak**

Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej

**prof. dr hab. Jarosław Lewkowski**

Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii

**prof. dr hab. Beata Liberek**

Uniwersytet Gdański; Wydział Chemii; Katedra Chemii Organicznej

**prof. dr hab. Teodozja Lipińska**

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Chemii

**prof. dr hab. Stefan Lis**

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Jerzy Lisowski**

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

**prof. dr hab. inż. czł. koresp. PAN Bogusław Major**

Instytut Metalurgii i Inżynierii Materiałowej PAN, Kraków

**prof. zw. dr hab. inż. Andrzej Wiktor Maranda**

Wojskowa Akademia Techniczna im. Jarosława Dąbrowskiego; Wydział Nowych Technologii i Chemii

**dr Agata Markowska-Szczupak**

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie; Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej; Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska

**prof. dr hab. Roman Mieczysław Mierzecki**

Polska Akademia Nauk; Wydział I Nauk Humanistycznych i Społecznych; Komitet Historii Nauki i Techniki

**prof. dr hab. Konrad Misiura**

Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

**prof. dr hab. inż. Jan Mosio-Mosiewski**

Instytut Ciężkiej Syntezy Organicznej

**prof. dr hab. Krystyna Nowińska**

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii, Zakład Katalizy Heterogenicznej

**prof. dr hab. inż. Aleksandra Barbara Olma**

Politechnika Łódzka; Wydział Chemiczny; Instytut Chemii Organicznej

**dr Marcina Olszewski**

Politechnika Gdańska, Katedra Mikrobiologii

**prof. dr hab. czł. koresp. PAN Stanisław Penczek**

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN

**prof. dr hab. inż. Jacek Pięłowski**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Inżynierii i Technologii Polimerów

**dr hab. Piotr Piszczek**

Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Chemii

**prof. dr hab. Florian Paweł Pruchnik**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii



**prof. dr hab. inż. Janusz Rachoń**

Politechnika Gdańska; Wydział Chemiczny; Katedra Chemii Organicznej

**prof. dr hab. inż. Wojciech Sas**

Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Zakład Chemii Organicznej

**prof. dr hab. Grzegorz Schroeder**

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii; Zakład Chemii Supramolekularnej

**prof. dr hab. Ignacy Zenon Siemion**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. inż. Jacek Mikołaj Skarżewski**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Chemii Organicznej

**prof. dr hab. inż. Wincenty Antoni Skupiński**

Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Zakład Materiałów Wysokoenergetycznych

**prof. dr hab. Jadwiga Sołoducho**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii

**prof. dr hab. Stanisław Kazimierz Sobiak**

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu; Wydział Farmaceutyczny; Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

**prof. dr hab. Mirosław Soszyński**

Uniwersytet Łódzki; Wydział Biologii i Ochrony Środowiska; Katedra Biofizyki Molekularnej

**dr hab. Piotr Tadeusz Stefanowicz**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Wiesław Stanisław Stręk**

Polska Akademia Nauk, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

**prof. zw. dr hab. Zbigniew Szewczuk**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Anna Szmyrka-Grzebyk**

Polska Akademia Nauk, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

**prof. dr hab. Artur Piotr Terzyk**

Uniwersytet Mikołaja Kopernika; Wydział Chemii

**prof. zw. dr hab. inż. Andrzej Witold Trochimczuk**

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Materiałów Polimerowych i Węglowych

**dr hab. Lilianna Trynda-Lemiesz**

Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej; Katedra i Zakład Chemii Analitycznej

**prof. zw. dr hab. Anna Maria Trzeciak**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**dr Katarzyna Elżbieta Wajda-Hermanowicz**

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

**prof. dr hab. Monika Ewa Waksmundzka-Hajnos**

Uniwersytet Medyczny w Lublinie; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej; Katedra Chemii

**prof. dr hab. Maciej Wiśniewski**

Politechnika Poznańska; Wydział Technologii Chemicznej; Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej

**prof. dr hab. inż. Jan Zawadiak**

Politechnika Śląska, Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii

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 – NAKŁAD WYCZERPANY.

*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.

*Chemosensory optyczne oraz materiały rozpoznawcze dla jonów metali w roztworach*, Krzysztof Kledzik, cena 22,00 zł.

*Obliczenia teoretyczne stałej ekranowania magnetycznego i stałych strzężeń spinowo-spinowych*. Teobald Kupka cena 20,00 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.

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 taki artykuł napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją.

W ramach nowej serii wydawniczej 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 przysyłać do Redakcji pocztą elektroniczną na adres: bstran@wchuwr.pl lub wchem@wchuwr.pl.

**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.

**Plik z pracą** 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.

W oddzielnym pliku 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 wówczas należy liczyć się z dopłatą do druku. Muszą mieć odpowiednią formę graficzną, by w razie potrzeby nadawały się do reprodukcji. W osobnym pliku prosimy dołączyć podpisy pod rysunki w języku polskim i angielskim. Rysunki czarno-białe należy zapisać w formacie .doc, .cdr, .jpg, .tif, .pdf, natomiast rysunki kolorowe – w formacie .jpg lub .tif. Rozdzielczość rysunków  $\geq 300$  dpi. Każdy z rysunków należy 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 recenzowane przez dwóch niezależnych recenzentów, zgodnie ze wskazówkami zawartymi w broszurze informacyjnej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego ([http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user\\_upload/ministerstwo/Publikacje/20110216\\_MNISW\\_broszura\\_210x210.pdf](http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user_upload/ministerstwo/Publikacje/20110216_MNISW_broszura_210x210.pdf)), oraz z uwzględnieniem instrukcji zamieszczonych na portalu Polska Bibliografia Naukowa (<https://pbn.nauka.gov.pl>)

Autor wskazany w liście przewodnim jako osoba kontaktowa otrzymuje drogą elektroniczną plik opublikowanej pracy w formacie pdf.