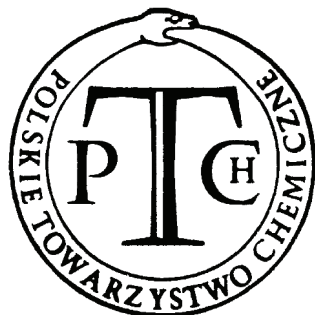
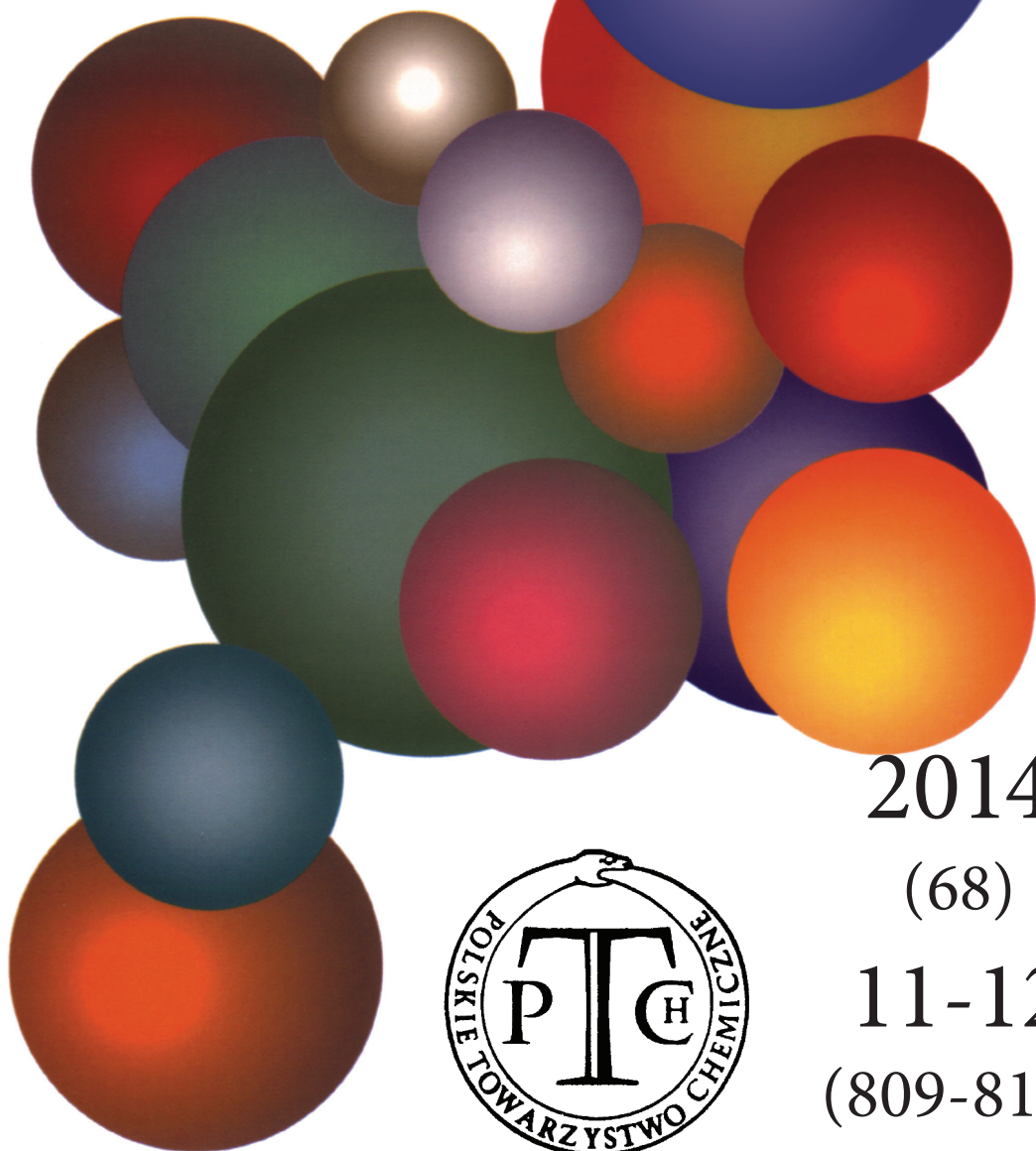


WIADOMOŚCI *chemiczne*



2014

(68)

11-12

(809-810)

CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez MNiSW

RADA REDAKCYJNA

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

KOMITET REDAKCYJNY

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

REDAKTOR NACZELNY

ZDZISŁAW LATAJKA

SEKRETARZ REDAKCJI

BEATA ŚWIĄTEK-TRAN

BARBARA LATKO (FINANSE)

KAZIMIERA LUKJAN (KOLPORTAŻ)

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

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

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

e-mail: wchem@wchuwr.pl

INTERNET

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

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

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

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2014

pISSN 0043-5104

eISSN 2300-0295

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy: listopad-grudzień 2014

Przygotowanie do druku i druk:

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

tel. 22 517 78 12, fax 22 517 78 11, e-mail: k2@druk-k2.pl

WYRÓŻNIONE PRACE DOKTORSKIE I HABILITACYJNE

SYNTEZA I ZASTOSOWANIE NOWYCH KATALIZATORÓW METATEZY OLEFIN

SYNTHESIS AND APPLICATION OF NEW OLEFIN METATHESIS CATALYSTS

Agnieszka Hryniewicka

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

Promotor pracy: dr hab. Stanisław Witkowski, prof. UwB
Recenzenci: prof. dr hab. Teresa Szymańska-Buzar (Uniwersytet Wrocławski),
dr hab. Zenon Łotowski (Uniwersytet w Białymstoku)
Termin obrony pracy: 7 listopada 2013 r.
Rada Wydziału, przed którą toczył się przewod: Rada Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku

Abstract

Wstęp

1. Nowe katalizatory metatezy olefin zmodyfikowane w części izopropoksybenzylidynowej
 - 1.1. Synteza prekursorów ligandów
 - 1.2. Otrzymywanie katalizatorów
2. Nowe katalizatory metatezy olefin zmodyfikowane w obrębie *N*-heterocyklicznego liganda
 - 2.1. Synteza soli imidazolidyniowych
 - 2.2. Otrzymywanie katalizatorów
3. Testowanie nowych katalizatorów metatezy olefin
4. Opracowanie tańszej metody syntezy katalizatorów typu Hoveydy II
5. Zastosowanie nowych katalizatorów w syntezie glikokonjugatu tokoferolu

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



chemia *N*-heterocyklicznych karbenów.

Dr Agnieszka Hryniewicka ukończyła z wyróżnieniem studia magisterskie na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Po studiach rozpoczęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych UwB pod kierunkiem dr. hab. Stanisława Witkowskiego, prof. UwB. W 2013 r. uzyskała stopień naukowy doktora nauk chemicznych za wyróżnioną pracę pt.: „Synteza i zastosowanie nowych katalizatorów metatezy olefin”. Przedmiotem jej zainteresowań badawczych są rutenowe katalizatory metatezy oraz chemia *N*-heterocyklicznych karbenów.

ABSTRACT

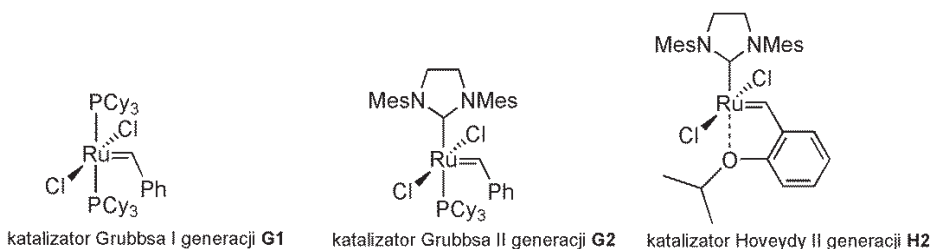
Olefin metathesis has emerged as a powerful tool for the formation of carbon-carbon double bonds. The success of this methodology has spurred the intense investigation of new catalysts showing a better application profile. The syntheses and the application profiles of the seven new ruthenium metathesis catalysts have been described. Five of them were modified in benzylidene part with 6-hydroxy-chromane- and 2*H*-3,4-chromenemethylidene moiety. In chromanol – α -tocopherol model compound, some specific stereoelectronic effects have been observed. Introduction of this ligand to the catalyst may provide new advantageous properties. The other new catalysts contained modified *N*-heterocyclic carbene ligand (NHC), in which *N,N'*-mesityl substituents of NHC system were linked with diethylene glycol chain as a “clamping ring”. This ring would contribute to a steric shield of the NHC and ruthenium coordination center. Probably it may enforce a proper orientation of substituents in metallacyclobutane (*all-cis*), leading to *Z*-olefin formation. The obtained catalysts were investigated in model reactions: ring closing metathesis, cross metathesis and enyne metathesis. The experiments proved their efficiency. In many reactions the catalysts showed activity comparable or superior to that of commercially available Grubbs and Hoveyda 2nd generation complexes. Stereochemistry *Z/E* of the cross-metathesis products obtained using new and known complexes were similar as well. The catalysts were applied in the synthesis of a new type of α -tocopherol glycoconjugates. An efficient method of the synthesis Hoveyda 2nd type complexes starting from ruthenium trichloride was developed. It is possible to circumvent using special laboratory equipment and expensive reagents. Hoveyda type complexes can be achieved with very good yield in gram scale.

Keywords: olefin metathesis, ruthenium catalysts, chromane derivatives, imidazolium salts, glycoconjugates

Słowa kluczowe: metateza olefin, katalizatory rutenowe, pochodne chromanu, sole imidazolidyniowe, glikokoniugaty

WSTĘP

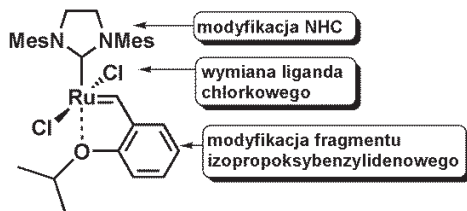
Metateza olefin (MO) jest katalitycznym procesem wymiany wiązań podwójnych pomiędzy atomami węgla. Metoda ta umożliwia znaczne skrócenie wieloetapowych, żmudnych syntez, i z tego powodu znajduje coraz powszechniejsze zastosowanie. Najczęściej używane są kompleksy rutenu typu Grubbsa i Hoveydy (Rys. 1), wykazujące dużą tolerancję względem innych grup funkcyjnych przy dużej reaktywności w stosunku do wiązania C=C.



Rysunek 1. Katalizatory metatezy olefin
 Figure 1. Olefin metathesis catalysts

Należy jednak zauważyć, że mimo ogromnej liczby katalizatorów opisanych w literaturze, brak jest takich o uniwersalnym zastosowaniu, katalizujących różne typy procesów metatetycznych. Ponadto pewne problemy tj. otrzymywanie sterycznie zatłoczonych alkenów oraz kontrola stereochemii *E/Z* produktów nie są jeszcze w pełni rozwiązane. Innym ograniczeniem jest wysoka cena stosowanych katalizatorów, co skłania badaczy do poszukiwania nowych, efektywniejszych kompleksów. Zagadnieniu temu poświęcone zostały liczne prace przeglądowe [1–3].

Katalizatory typu Hoveydy II są częstym przedmiotem modyfikacji ze względu na ich trwałość wobec wilgoci i powietrza (Rys. 2). Najczęściej wprowadzane zmiany dotyczą części izopropoksybenzylidenu, *N*-heterocyklicznego liganda, a rzadziej atomów chlorowca.



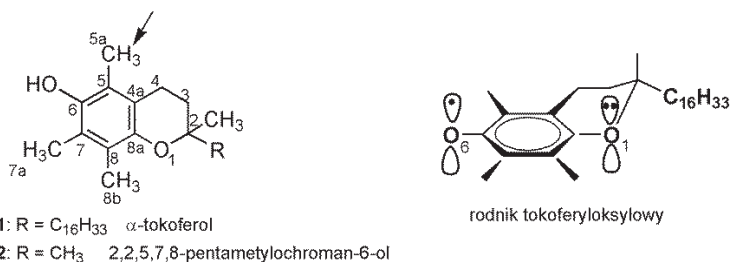
Rysunek 2. Możliwość modyfikacji katalizatora H2
 Figure 2. Possibility of modification of H2 catalyst

Celem pracy było:

1. Otrzymanie i zbadanie profilu aplikacyjnego nowych katalizatorów metatezy typu Hoveydy II generacji zmodyfikowanych w części izopropoksybenzylidenowej oraz w obrębie karbenu *N*-heterocyklicznego (NHC).
2. Opracowanie prostszej, tańszej i wydajniejszej metody syntezy katalizatorów metatezy olefin typu Hoveydy II generacji.
3. Zastosowanie nowych katalizatorów w metatetycznej syntezie glikokoniu-gatu α -tokoferolu.

1. NOWE KATALIZATORY METATEZY OLEFIN ZMODYFIKOWANE W CZĘŚCI IZOPROPOKSYBENZYLIDENOWEJ

Witamina E to grupa związków organicznych, w skład której wchodzi tokoferole i tokotrienole. W układzie 6-hydroksychromanu (Rys. 3), odpowiadającego za aktywność tych związków, występują interesujące efekty stereoelektronowe. Według Ingolda i Burtona [4, 5], sprzężenie niewiążących par elektronowych atomów tlenu w układzie heterocyklicznym z elektronami π pierścienia aromatycznego oraz elektronami hydroksylowego atomu tlenu w pozycji C-6 w istotny sposób przyczynia się do stabilizacji rodników 6-chromanoksylogowych (Rys. 3).

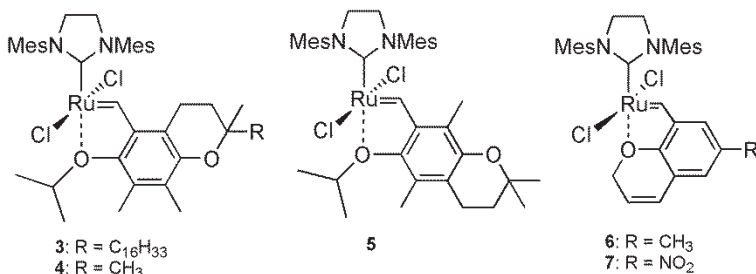


Rysunek 3. Struktura α -tokoferolu, jego rodnika i związku modelowego
 Figure 3. Structure of α -tocopherol, radical and its model compound

Ponadto układ ten wykazuje ciekawe właściwości chemiczne, m.in. zwiększoną reaktywność grupy metylowej w pozycji C-5 w porównaniu z analogiczną C-7, w reakcjach takich jak utlenianie, chlorowcowanie, sprzężanie z diazozwiązkami. Zjawisko to w literaturze opisuje się jako efekt Millsa-Nixona [6], jakkolwiek wyjaśniano je ostatnio przy pomocy teorii SIBL [7]. Ze względu na ciekawe efekty w strukturze tokoferolu w Instytucie Chemii UwB od kilkunastu lat prowadzone są badania dotyczące chemii witaminy E [8–11].

W oparciu o powyższe założenia zaprojektowane zostały nowe katalizatory typu Hoveydy, w których fragment izopropoksybenzylidenowy został zastąpiony układem 6-hydroksychromano- i 2*H*-3,4-chromenometylidenowym (Rys. 4). W kompleksie 3 obecność długiego łańcucha alkilowego może nadać mu lipofilowy charakter i wywierać wpływ na zachowanie w układach micelarnych, a także usztywnić

konformacyjnie pierścien dihydropiranyłowy. Można przypuszczać, że obecność grupy metylowej w pozycji *ortho* w stosunku do izopropoksyłowej w katalizatorach 3-5 powinna wpływać na szybkość inicjacji. Zwiększona zawada przestrzenna mogłaby spowodować osłabienie wiązania Ru-O i ułatwiać dysocjację liganda na etapie tworzenia 14-elektronowego kompleksu aktywnego.



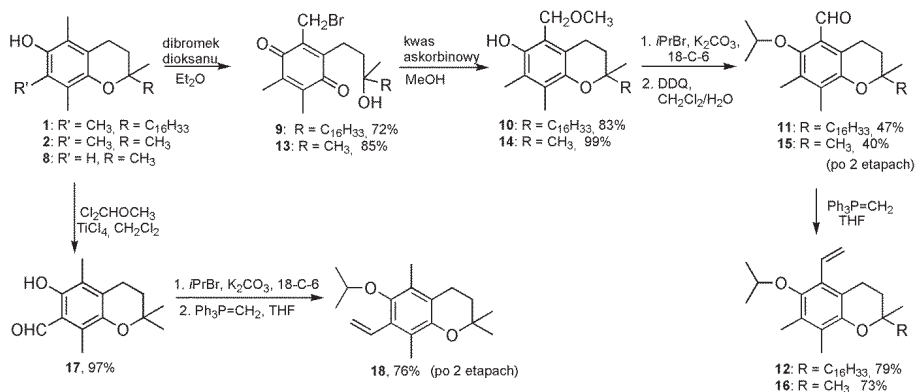
Rysunek 4. Nowe katalizatory typu Hoveydy II
 Figure 4. New catalysts Hoveyda II type

W kolejnych dwóch kompleksach (6 i 7) chelatowanie atomu rutenu następuje przez atom tlenu usztywnionej części eterowej w pozycji 1 pierścienia heterocyklicznego w układzie 2*H*-3,4-chromenu. W tych katalizatorach kompleksowanie z atomem rutenu zachodzi przez karben w pozycji 8b. Kompleksy te zawierają w pozycji 6 chromenu grupę metylową (6) lub nitrową (7). W katalizatorze Hoveydy podstawnik izopropoksyłowy ma możliwość swobodnej rotacji, a podejście substratu do reaktywnego centrum reakcji może następować z jednakowym prawdopodobieństwem z obu stron. Można przypuszczać, że usztywnienie fragmentu benzylidenu, jak to ma miejsce w przypadku kompleksów 6 i 7 może wpłynąć na właściwości katalizatora, np. na szybkość inicjacji lub stereochemię *E/Z* produktów reakcji. Ponadto wprowadzenie silnie elektronoakceptorowej grupy nitrowej w przypadku 7 miało na celu osłabienie wiązania Ru-O, co mogłoby zwiększyć szybkość inicjacji. Taki efekt jest obserwowany w przypadku katalizatora Greli [12].

1.1. SYNTEZA PREKURSORÓW LIGANDÓW

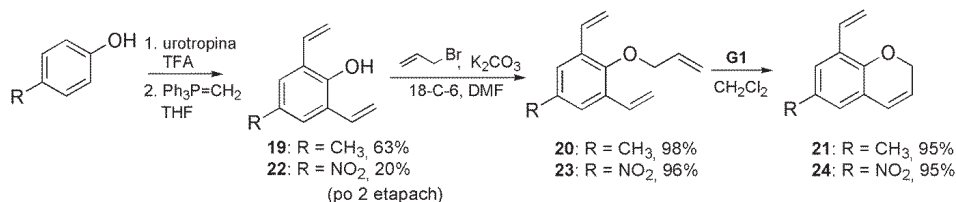
Synteza prekursora liganda **12** rozpoczęta została od bromującego utleniania racemicznego tokoferolu [13] (Schemat 1). Otrzymany bromotokoferolochinon **9** został poddany redukcyjnej cyklizacji wobec kwasu askorbinowego w metanolu do 5*a*-metoksy- α -tokoferolu (**10**) [14]. Po kolejnych etapach: eteryfikacji za pomocą bromku izopropylu i utlenianiu za pomocą 2,3-dichloro-5,6-dicyjanobenzochinonu (DDQ) [15] otrzymany został aldehyd **11**, który w wyniku reakcji Wittiga został przekształcony w 5-winylo- γ -tokoferol (**12**). 2,2,5,7,8-Pentametylo-6-chromanol (**2**) [16] został poddany przekształceniom analogicznym jak w przypadku α -tokoferolu, dając odpowiedni prekursor liganda **16**. W celu otrzymania **18**,

zawierającego grupę winylową w pozycji 7, 2,2,5,8-tetrametylochroman-6-ol (**8**) [17] został poddany reakcji formylowania za pomocą eteru dichlorometylowo-metylowego, wobec czterochlorku tytanu [17]. Otrzymano aldehyd **17**, który w dwóch etapach (eteryfikacja, reakcja Wittiga) został przekształcony w ligand **18**.



Schemat 1. Synteza prekursorów ligandów **12**, **16** i **18**

Scheme 1. The synthesis of ligands precursors: **12**, **16** and **18**



Schemat 2. Synteza prekursorów ligandów **21** i **24**

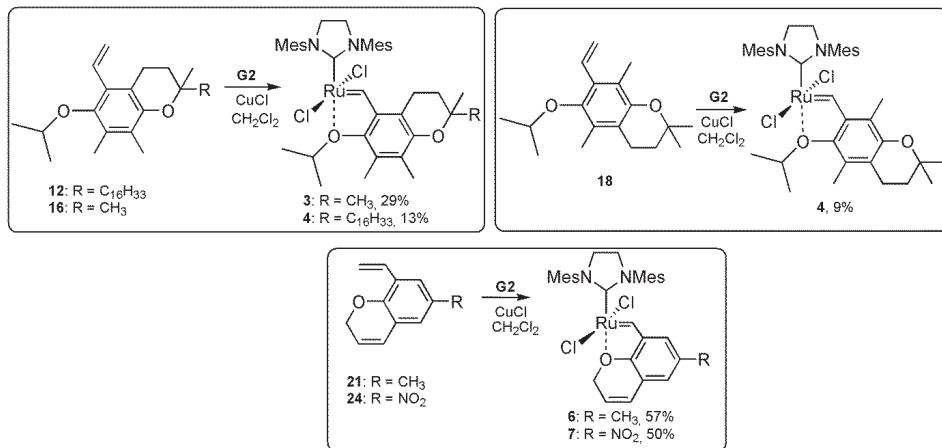
Scheme 2. The synthesis of ligands precursors: **21** and **24**

Prekursor liganda **21** otrzymano z *p*-krezolu poprzez formylowanie metodą Duffa do dialdehydu [18], a następnie podwójne metylowanie metodą Wittiga do diolefiny **19** oraz eteryfikację i cyklizację metatetyczną [19, 20] (Schemat 2). W analogiczny sposób został uzyskany prekursor liganda **24** wychodząc z *p*-nitrofenolu.

1.2. OTRZYMYWANIE KATALIZATORÓW

Otrzymane prekursory ligandów **12**, **16**, **18**, **21** i **24** zostały poddane reakcji wymiany z katalizatorem Grubbsa II generacji wobec chlorku miedzi(I) (Schemat 3). Katalizatory **3-5** otrzymane zostały z wydajnościami 10–30%, prawdopodobnie ze względu na zatłoczenie steryczne, natomiast **6** i **7** z wydajnościami, odpowiednio 57% i 50%. Kompleksy **3-6** wykazywały wysoką trwałość zarówno w warunkach reakcji, jak i w czasie kilkumiesięcznego przechowywania w lodówce. Zdecydo-

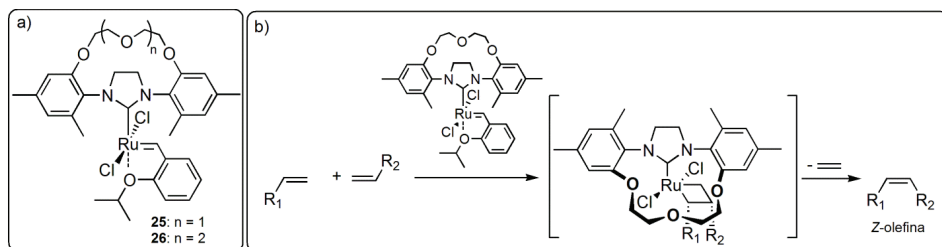
wanie mniejszą trwałością charakteryzuje się kompleks 7, który ulega rozkładowi w temperaturze wrzenia chlorku metylenu. Wyniki zaprezentowane w rozdziale 1 zostały opublikowane [21–23].



Schemat 3. Synteza nowych katalizatorów metatezy olefin
Scheme 3. The synthesis of new olefin metathesis catalysts

2. NOWE KATALIZATORY METATEZY OLEFIN ZMODYFIKOWANE W OBRĘBIE *N*-HETEROCYKLICZNEGO LIGANDA

Pomimo dużych osiągnięć metatezy jednym z problemów pozostającym w dalszym ciągu do rozwiązania jest niedostateczna kontrola stereoselektywności *E/Z* tworzących się produktów olefinowych. Problem ten został częściowo rozwiązany przez Grubbsa i in. [24–26], którzy otrzymali katalizatory wykazujące wysoką *Z*-stereoselektywność przy umiarkowanej reaktywności.



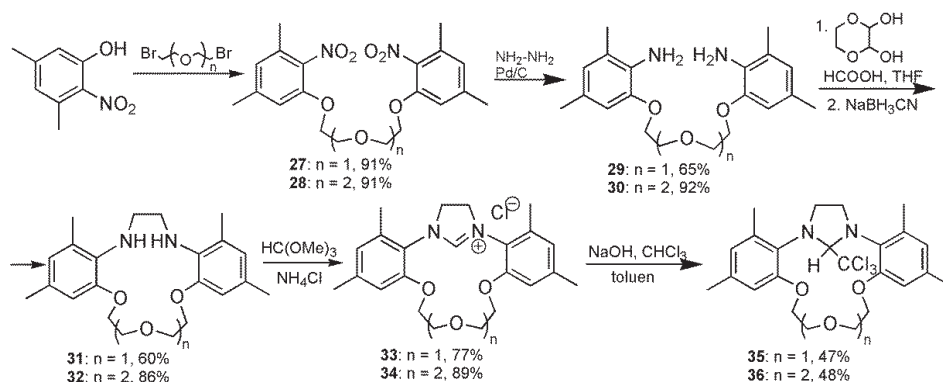
Schemat 4. a) Nowe katalizatory 25 i 26; b) Proponowana reakcja metatezy katalizowana kompleksem 25
Scheme 4. a) New catalysts 25 i 26; b) Putative reaction intermediate of olefin metathesis catalyzed by 25

Prace nad poszukiwaniem nowych, bardziej stereoselektywnych podjęte zostały jeszcze przed pojawieniem się doniesień Grubbsa o syntezie *Z*-stereoselektywnych katalizatorów. Celowa wydawała się wówczas modyfikacja w *N*-heterocyklicznego

karbenu (NHC), który jest na stałe skoordynowany z centralnym atomem rutenu i nie ulega odszczepieniu na żadnym etapie procesu metatetycznego. Z powyższych względów podjęta została synteza katalizatorów przedstawionych na Schemacie 4a. W proponowanych kompleksach **25** i **26** podstawniki mezytylowe liganda NHC zostałyby spięte łącznikiem polieterowym zawierającym dwie lub trzy reszty etylenowe. Wprowadzenie tego rodzaju „obręczy” stanowić może osłonę steryczną aktywnego centrum katalizatora. Osłona ta mogłaby wpływać na *Z*-orientację podstawników alkilowych przy tworzącym się na etapie przejściowym rutenacyklobutanie (Schemat 4b). Po etapie cyklorewersji i rozpadzie struktury przejściowej powinna tworzyć się olefina o zwiększonym udziale izomeru *Z*. Ponadto łącznik di- lub trietylenowy można potraktować jako fragment eteru koronowego, dlatego do jego wnętrza mogłyby wnikać jony lub cząsteczki o odpowiedniej wielkości (efekt supramolekularny). Z kolei eterowe atomy tlenu mogłyby kompleksować z centralnym atomem rutenu, co przypuszczalnie mogłoby wpływać na właściwości katalizatora.

2.1. SYNTEZA SOLI IMIDAZOLIDYNIOWYCH

Dwie cząsteczki 3,5-dimetylo-2-nitrofenolu zostały połączone łącznikiem polieterowym za pomocą reakcji eteryfikacji Wiliamsona, odpowiednio z 1,5-dibromo-3-monooksapentaniem [27] oraz 1,8-dibromo-3,6-dioksoktanem [27] wobec K_2CO_3 [28]. Następnie otrzymane nitrozwiązki **27** i **28** zostały poddane redukcji z użyciem hydrazyny wobec katalizatora palladowego [29]. Otrzymane diaminy **29** i **30** zostały poddane reakcji z hemiacetalem glioksalu, a następnie redukcji diiminy *in situ* za pomocą cyjanoborowodoru sodu. Etylenodiaminy **31** i **32** w reakcji z ortomrówczanem trimetylu zostały przekształcone w sole imidazolidyniowe, odpowiednio **33** i **34** [30], a te z kolei w odpowiednie karbeny NHC w postaci adduktów chloroformowych **35** i **36** [31].

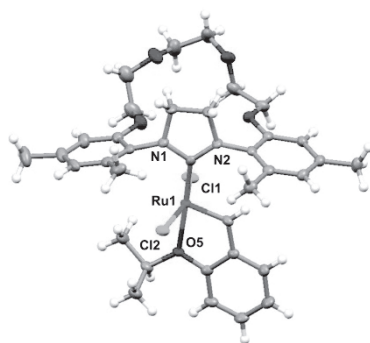
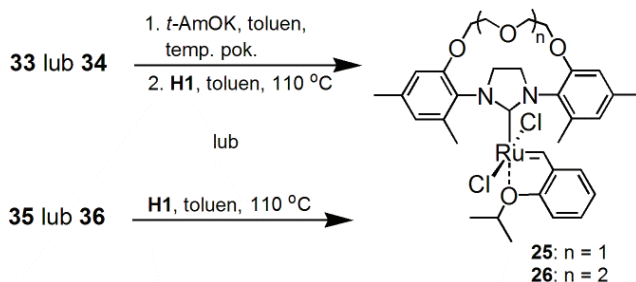


Schemat 5. Synteza nowych soli imidazolidyniowych

Scheme 5. The synthesis of new imidazolinium salts

2.2. OTRZYMYWANIE KATALIZATORÓW

Nowe katalizatory typu Hoveydy ze zmodyfikowaną częścią NHC **25** i **26** zostały otrzymane w dwóch wariantach: w wyniku ogrzewania adduktów chloroformowych **33** lub **34** z katalizatorem Hoveydy I w temperaturze wrzenia toluenu albo z soli imidazolidynowych **33** i **34**, generując karbeny *in situ* za pomocą *tert*-amylanu potasu, a następnie poddając je reakcji z **H1** (Schemat 6).



Schemat 6. Synteza nowych katalizatorów i rentgenostruktura kompleksu **26**
Scheme 6. Syntheses of new catalysts and X-ray structure of catalyst **26**

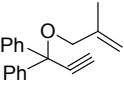
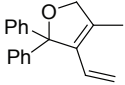
Podsumowując można stwierdzić, że bezpośrednio synteza katalizatorów z odpowiednich soli z pominięciem etapu adduktów, wymaga użycia stechiometrycznej ilości mianowanego roztworu *tert*-amylanu potasu, a ponadto powstają w większej ilości polarne produkty uboczne. Zastosowanie adduktu chloroformowego wydaje się wygodniejsze, ponieważ można prowadzić reakcję ze stechiometryczną ilością karbenu. Mimo, że synteza wydłuża się o dodatkowy etap (otrzymywanie adduktu z soli imidazolidynowej) to metoda jest bardzo prosta i wydajna. Ze względu na trwałość addukt może być otrzymany wcześniej w odrębnym eksperymencie. Katalizatory **25** i **26** dawały się oczyścić za pomocą chromatografii kolumnowej. Rentgenostruktura katalizatora **26** (Schemat 6) została opublikowana [32].

3. TESTOWANIE NOWYCH KATALIZATORÓW METATEZY OLEFIN

Aktywność nowych katalizatorów została porównana z handlowo dostępnymi **G2** i **H2** w reakcjach cyklizacji metatetycznej (RCM) i metatezy enyn (Tab. 1) oraz w reakcjach metatezy krzyżowej (CM, Tab. 2). W przypadku reakcji RCM i enyn konwersja została określona za pomocą spektroskopii ^1H NMR, a w reakcjach CM produkty zostały wyodrębnione, a stosunek izomerów *E/Z* został określony za pomocą ^1H NMR. Kompleksy **3-5** zostały najslabiej przebadane ze względu na niewielką ilość, związaną z niską wydajnością ich syntezy. Eksperymenty z użyciem katalizatora **7** były prowadzone jedynie w temperaturze pokojowej, ze względu na jego nietrwałość w podwyższonej temperaturze.

Tabela 1. Porównanie reaktywności katalizatorów w reakcjach RCM i cyklizacji enyn
Table 1. Comparison of catalysts' reactivity in RCM reactions and enyne cyclisation reactions

Lp.	Substrat	Produkt	Warunki	Katalizator	% konwersji ^a (czas)
1			20°C, CH ₂ Cl ₂ , 0,1 M, 0,5 mol% [Ru] dla G2 , H2 , 6 i 7 1 mol% [Ru] dla 3-5	G2 H2 3 4 5 6 7 25 26	99% (75 min) 99% (60 min) 34% (20 godz.) 22% (20 godz.) 17% (20 godz.) 99% (45 min) 67% (90 min) 99% (50 min) 99% (50 min)
2			40°C, CH ₂ Cl ₂ , 0,1 M, 2,5 mol% [Ru]	3 4 5	90% 87% 81%
3			20°C, 90 min, CH ₂ Cl ₂ , 0,1 M, 0,5 mol% [Ru]	G2 H2 6 7 25 26	63% 80% 68% 40% 33% 35%
4			80°C, 16 godz., toluen, 0,06 M, 5 mol% [Ru]	G2 H2 6 25 26	38% 15% 18% 22% 20%
5			0°C, 60 min, CH ₂ Cl ₂ , 0,1 M, 0,5 mol% [Ru]	G2 H2 6 7 25 26	1% 21% 99% 99% 99% 99%

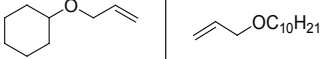
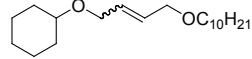
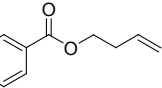
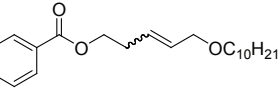
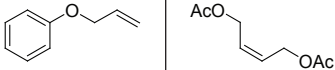
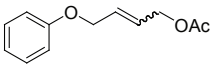
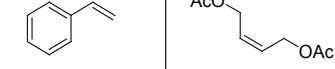
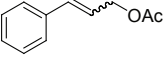
Lp.	Substrat	Produkt	Warunki	Katalizator	% konwersji ^a (czas)
6			80°C, 4 godz., toluen, 0,05 M, 5 mol% [Ru]	G2 H2 6 25 26	90% 12% 40% 8% 10%

^a określony za pomocą ¹H NMR.

W przypadku katalizatorów 3-5 w modelowej reakcji diallilmalonianu dietylu (Tab. 1) konwersja nie przekraczała 40% w temperaturze pokojowej, natomiast w temperaturze wrzenia chlorku metylenu konwersja osiągnęła 80–90%. Pozwala to wysnuć wniosek, że kompleksy 3-5 wykazują cechy katalizatora uspionego. W reakcjach RCM (Tab. 1) kompleksy 6 i 7 wykazywały aktywność z blizną do handlowo dostępnych katalizatorów. Szczególnie aktywny okazał się katalizator 6, który wykazywał wysoką skuteczność w reakcji RCM prowadzącej do powstania czteropodstawionego wiązania podwójnego.

Tabela 2. Porównanie reaktywności katalizatorów w reakcjach metatezy krzyżowej

Table 2. Comparison of catalysts' reactivity in cross metathesis reactions

Lp.	Substraty	Produkt	Katalizator – wydajność	E/Z ^a
1 ^b			G2 21% H2 18% 3 20% 4 22% 5 18% 6 35% 7 10%	6:1 8:1 8:1 8:1 8:1 8:1 10:1
2 ^b			G2 25% H2 19% 3 26% 4 25% 5 23% 6 23%	6:1 5:1 4:1 4:1 4:1 4:1
3 ^c			G2 76% H2 75% 6 87% 7 67% 25 65% 26 67%	12:1 12:1 9:1 12:1 12:1 5:1
4 ^c			G2 81% H2 80% 6 81% 7 76% 25 89% 26 87%	58:1 43:1 23:1 34:1 63:1 16:1

Lp.	Substraty		Produkt	Katalizator – wydajność		E/Z ^a
5 ^c				G2	82%	5:1
				H2	86%	5:1
				6	80%	4:1
				7	64%	3:1
				25	75%	4:1
6 ^c				G2	47%	7:1
				H2	53%	5:1
				6	47%	7:1
				7	43%	9:1
				25	55%	8:1
7 ^d				G2	22%	tylko E
				H2	67%	tylko E
				6	61%	tylko E

^a stosunek izomerów E/Z określony za pomocą ¹H NMR, wydajność po wydzieleniu chromatograficznym.
^b warunki reakcji: 40°C (dla 7 20°C), 3 h, CH₂Cl₂, 0,1 M, 1 mol% [Ru].
^c warunki reakcji 20°C, 3 h, CH₂Cl₂, 0,1 M, 2,5 mol% [Ru].
^d warunki reakcji: 40°C, 3 h, CH₂Cl₂, 0,4 M, 2,5 mol% [Ru].

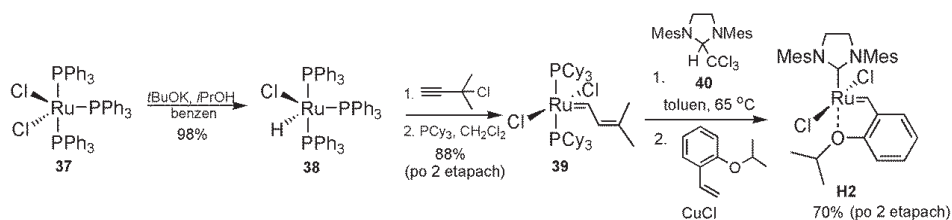
Wysoką reaktywność wykazywały katalizatory **6** i **7** w reakcji metatezy enyn. W temperaturze 0°C reakcja zachodziła z wydajnościami ok. 99%, a z handlowo dostępnymi katalizatorami była 5-krotnie niższa. W reakcjach CM (Tab. 2) katalizatory **6** i **7** wykazywały podobną, a w niektórych przypadkach wyższą aktywność w porównaniu z handlowo dostępnymi kompleksami **G2** i **H2**. Wbrew oczekiwaniom nie został zaobserwowany wpływ usztywnionego liganda chromenyowego na wyższą stereoselektywność kompleksów **6** i **7**. Można przypuszczać, że zgodnie z mechanizmem dysocjatywnym, rozpadowi ulega kompleks endocyklicznego atomu tlenu układu 2*H*-chromenyowego z centralnym atomem rutenu uwalniając reaktywny układ czternastoelektronowy. Z tego względu ligand chromenylidenowy po odejściu prawdopodobnie nie bierze udziału w cyklu katalitycznym i nie wywiera większego wpływu na dalszy przebieg reakcji, w tym na stereochemię produktów reakcji.

Katalizatory **25** i **26** w reakcjach RCM (Tab. 1) odznaczały się porównywalną reaktywnością z handlowo dostępnymi: **H2** i **G2**, bardzo efektywnie promowały cyklizację enyn. Ponadto, wykazywały także wysoką skuteczność w reakcjach metatezy krzyżowej (Tab. 2). Wydajności uzyskane przy ich użyciu są w niektórych przypadkach wyższe od tych, osiągniętych przy zastosowaniu handlowo dostępnych **H2** i **G2**. Jednakże nie wykazały wyższej *Z*-stereoselektywności w reakcjach metatezy krzyżowej. Zatem, w przypadku mniejszych cząsteczek wprowadzona „obejma” do ligandu NHC nie stanowiła dostatecznej zawady przestrzennej, wymuszającej *cis*-orientację podstawników wokół tworzącego się przejściowo pierścienia rutena-cyklobutanowego. Jednakże reakcje przeprowadzone ostatnio przez Czajkowską-Szczykowską wykazały, że katalizator **26** preferuje powstawanie izomeru *Z* w przy-

padku makrocyclizacji metatetycznej (stosunek izomerów *E/Z* = 1:2, podczas gdy dla macierzystego **H2** *E/Z* = 2:1) [32]. Należy również zaznaczyć, że struktura zsyntezowanych ligandów NHC zawiera fragment eteru koronowego. Zatem można się spodziewać pewnego efektu supramolekularnego, polegającego na wbudowywaniu się jonów o odpowiedniej wielkości we „wnękę” ligandu, co mogłoby wpływać na reaktywność katalizatora.

4. OPRACOWANIE TAŃSZEJ METODY SYNTEZY KATALIZATORÓW TYPU HOVEYDY II

Ze względu na wysoką cenę katalizatorów handlowych, stanowiących często substraty do syntezy zmodyfikowanych kompleksów, celowe wydaje się poszukiwanie tańszych sposobów ich syntezy. Poprzez modyfikację literaturowych procedur została opracowana metoda, w której substratem wyjściowym był stosunkowo tani i łatwo dostępny chlorek rutenu(III).



Schemat 7. Synteza katalizatora **H2**

Scheme 7. Synthesis of **H2** catalyst

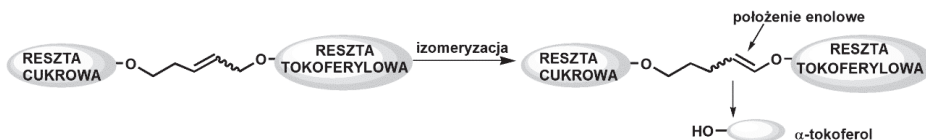
Według procedury Wilkinsona [33] chlorek rutenu poddany został reakcji z tryfenylofosfiną w metanolu dając chlorek *tris*(tryfenylofosfino)rutenu(II) (**37**) z wydajnością 80% (Schemat 7). Kompleks **37** został przekształcony w reakcji z *tert*-butanolanem potasu (*t*-BuOK) w izopropanolu według zmodyfikowanej procedury Fogg i in. [34] w wodorek rutenu **38** z wydajnością 98%. Po reakcji z 3-chloro-3-metylobutyne i wymianie ligandów fosfinowych wodorek **38** przekształcony został w katalizator alkilidenny **39**. Związek ten stanowił trwały i wygodny substrat do syntezy katalizatorów typu Hoveydy II generacji. Kompleks **H2** został otrzymany z wydajnością 70% w wyniku reakcji związku **39** ze źródłem karbenu NHC (addukt chloroformowy **40**), a następnie z 2-izopropoksystyrenem wobec chlorku miedzi(I). Wykorzystując opracowaną metodę zostały otrzymane katalizatory typu Hoveydy: **3**, **6**, **7** z wydajnościami odpowiednio 25%, 70% i 70%.

Należy podkreślić, że w proponowanej procedurze nie ma konieczności używania drogich, niebezpiecznych i trudnodostępnych substratów, a także prowadzenia syntezy w specjalnie wyposażonym laboratorium. Stosowanie adduktu chloroformowego **40** jest również bardziej ekonomiczne, gdyż wodorotlenek sodu użyty do syntezy adduktu jako zasada, jest kilkakrotnie tańszy od mianowanych roztworów

t-BuOK lub heksametylodisilazanu potasu – KHMDS (służących do generowania karbenów z soli). Wydajność pięcioetapowej syntezy katalizatora Hoveydy II wychodząc z chlorku rutenu(III) wynosi 50%. Można zatem wyliczyć, że wychodząc z 1 g substratu RuCl₃ otrzymuje się ponad 1,2 g katalizatora Hoveydy II generacji. Za jedyny mankament można uznać wymianę liganda trifenylfosfinowego na droższy tricykloheksylofosfinowy, mimo, że końcowy produkt – katalizator **H2** nie zawiera ligandów fosfinowych. Ten zabieg jest jednak konieczny, ponieważ w przeciwnym wypadku wprowadzenie *N*-heterocyklicznego karbenu nie zachodzi. Opracowana metoda może być stosowana do syntezy katalizatorów typu Hoveydy II.

5. ZASTOSOWANIE NOWYCH KATALIZATORÓW W SYNTEZIE GLIKOKONIUGATU TOKOFEROLU

Reakcja metatezy znajduje zastosowanie w syntezie pochodnych produktów naturalnych [35, 36]. Metoda ta może zostać wykorzystana m.in. w syntezie proleków, zyskujących ostatnio na znaczeniu w praktyce terapeutycznej. Proleki otrzymuje się przez związanie aktywnej struktury w pochodną o lepszej biodystrybucji i uwalniającej lek w wyniku metabolicznej biotransformacji po dotarciu do zaplanowanego miejsca objętego procesem chorobowym [37].

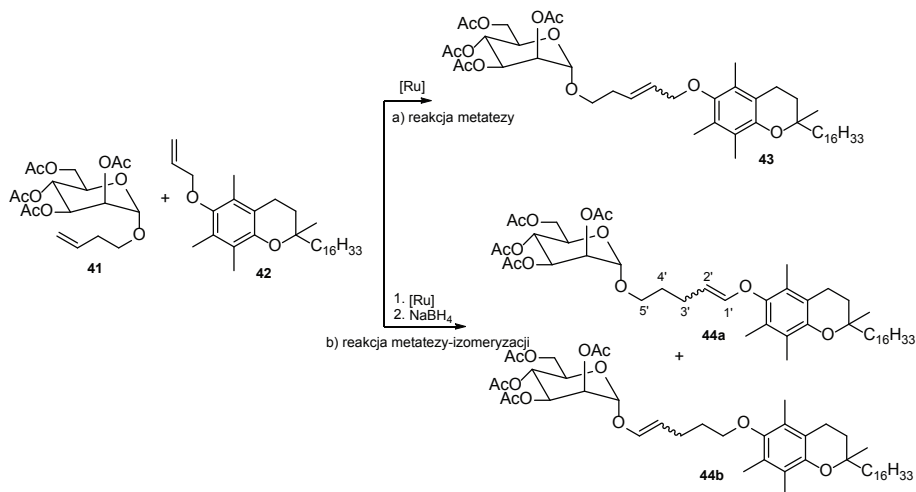


Rysunek 5. Reakcja izomeryzacji
Figure 5. Isomerization reaction

Zaprojektowany został glikokoniugat (Rys. 5), w którym lipofilowa cząsteczka α -okoferolu połączona jest z częścią cukrową za pomocą pięciowęglowego łącznika. Dzięki takiej budowie prolek zyskuje właściwości amfifilowe, w związku z czym może być skuteczniej transportowany w organizmie, a następnie stopniowo uwalniać tokoferol związany wiązaniem enolowym w zakwaszonym środowisku (stany niedotlenienia) lub na skutek działania enzymów. W syntezie został zaplanowany etap metatetycznego łączenia odpowiednio sfunkcjonalizowanego substratu tokoferolowego i cukrowego.

W wyniku reakcji metatezy krzyżowej pomiędzy α -butenylomannozydem **41** i eterem allilowym tokoferolu **42** otrzymany został glikokoniugat (Schemat 8, ścieżka a). W tym celu zastosowane zostały handlowo dostępne katalizatory, a także zmodyfikowane typu Hoveydy **3-6**. We wszystkich eksperymentach otrzymany został produkt metatezy z wydajnościami w zakresie 43–52%. Jedynie w przypadku katalizatora Grubbsa II generacji wydajność reakcji była znacznie niższa (20%), prawdopodobnie z powodu konkurencyjnych reakcji izomeryzacji

substratów. Otrzymany produkt metatezy krzyżowej **43** został poddany reakcji izomeryzacji w celu przesunięcia wiązania podwójnego znajdującego się w środkowej części łącznika, w kierunku części tokoferolowej (w położenie enolowe). Próby izomeryzacji z zastosowaniem: *t*-BuOK [38–40], [RuClH(CO)(PPh₃)₃] [41, 42], PdCl₂ [43] oraz RhCl(PPh₃)₃ [44] zakończyły się niepowodzeniem.



Schemat 8. Otrzymywanie glikokoniugatu tokoferolu w reakcji metatezy (CM)

Scheme 8. Synthesis of tocopheryl glycoconjugate in metathesis reaction (CM)

Wobec napotkanych trudności zastosowana została metoda polegająca na przekształceniu *in situ* rutenowego katalizatora po zakończeniu procesu metatetycznego w kompleksowy wodorek rutenowy katalizujący reakcję izomeryzacji poprzez przepuszczenie wodoru [45] lub dodanie do mieszaniny reakcyjnej borowodorku sodu, wodorku sodu [46] lub NaOH z dodatkiem izopropanolu [47, 48]. Spośród tych metod wybrana została najłagodniejsza z użyciem borowodorku sodu, który został dodany do mieszaniny reakcyjnej bezpośrednio po reakcji metatezy krzyżowej między butenylomannozą **41** i allilotokoferolem **42** (Schemat 8, ścieżka b). W wyniku reakcji otrzymany został glikokoniugat tokoferolu **44a** z pięciowęglowym nienasyconym łańcuchem węglowym łączącym tokoferol z resztą cukrową w postaci mieszaniny izomerów *E* i *Z* (wiązanie podwójne pomiędzy 1 a 2 atomem węgla łącznika węglowego) z domieszką izomeru **44b** (migracja wiązania podwójnego o dwa atomy węgla w stronę cukru).

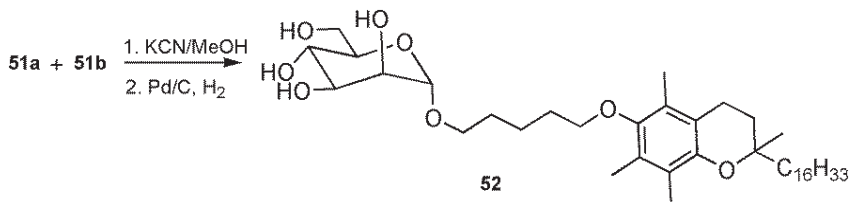
Reakcja metatetycznego łączenia tokoferolu z resztą cukrową z późniejszą izomeryzacją wiązania podwójnego przeprowadzona została również przy zastosowaniu innych katalizatorów metatezy: trzech handlowo dostępnych: Grubbsa I, Grubbsa II, Hoveydy II oraz katalizatorów zmodyfikowanych w części izopropoksybenzylidenowej **3-6**. Wyniki zostały zestawione w Tabeli 3. Na podkreślenie zasługuje fakt, że izomeryzacja produktów, gdy do łączenia metatetycznego użyte były

katalizatory II generacji, zachodziła znacznie szybciej (24 h). Natomiast eksperyment z zastosowaniem katalizatora I generacji wymagał długiego ogrzewania (72 h). We wszystkich eksperymentach nie zaobserwowałam różnic jakościowych i ilościowych w składzie produktów reakcji. Należy podkreślić, że w literaturze brak jest danych na temat zastosowania katalizatorów Hoveydy II do tego typu izomeryzacji.

Tabela 3. Porównanie wydajności otrzymywania związku **44** przy zastosowaniu różnych katalizatorów
Table 3. Comparison of yield of synthesis of compound **44** with different catalysts

Katalizator	Czas metatezy (godziny)	Czas izomeryzacji (godziny)	Wydajność (%)
G1	5	72	30
G2	5	4	20
H2	5	2	32
3	5	2	28
4	5	2	28
5	5	2	26
6	5	2	31

Mieszanina produktów izomeryzacji **44a** i **44b** poddana została deacetylacji metodą Herziga (KCN/MeOH) [49] (Schemat 9). Dzięki temu glikokoniugat z odblokowaną resztą cukrową przekształca się w amfifilową strukturę, która może być rozpuszczalna w płynach ustrojowych. Próby rozdzielania chromatograficznego deacetylowanych produktów zakończyły się niepowodzeniem. W związku z tym związek został poddany uwodornieniu katalitycznemu prowadzącemu do powstania jednego produktu reakcji **52**.



Schemat 9. Otrzymywanie związku **52**
Scheme 9. Synthesis of compound **52**

Część wyników opisanych w rozdziale 4 jest przedmiotem publikacji [50].

PODSUMOWANIE

W niniejszej pracy przedstawiona została synteza oraz zbadany został profil aplikacyjny 7 nowych katalizatorów typu Hoveydy II generacji. Kompleksy te są modyfikacjami w obrębie części izopropoksybenzylidenowej – katalizatory **3-7** oraz *N*-heterocyklicznego karbenu: związku **25** i **26**. Wśród nowych katalizatorów, zmodyfikowanych w części izopropoksybenzylidenowej, największą aktywnością charakteryzuje się kompleks **6**. Jego synteza jest prosta i wydajna, a efektywnością w wielu reakcjach przewyższa handlowo dostępne katalizatory Hoveydy II i Grubbsa II. Kompleksy **3-5** wykazują cechy katalizatora uśpionego, odznaczają się umiarkowaną reaktywnością w temperaturze pokojowej, a wyższą w temp. 40°C. Ponadto ich zaletą jest trwałość zarówno w warunkach reakcji, jak i w czasie dłuższego przechowywania. Kompleksy **6** i **7** katalizują cyklizację enyn już w temperaturze 0°C z wydajnościami kilkakrotnie większymi niż te uzyskane przy użyciu katalizatorów **G2** i **H2**. Nowe katalizatory **25** i **26** wykazują wysoką skuteczność w reakcjach metatezy krzyżowej; uzyskane wydajności w niektórych przypadkach są wyższe od tych osiągniętych przy zastosowaniu handlowo dostępnych **H2** i **G2**. Kompleksy **25** i **26** zawierają w strukturze ligandów NHC polieterowy fragment eteru koronowego. Może to powodować wbudowywanie się jonów o odpowiedniej wielkości we „wnękę” liganda, co mogłoby wpływać na reaktywność katalizatora. Problem ten wymaga odrębnych badań. Stosunek izomerów geometrycznych *E/Z* w uzyskanych mieszaninach produktów, przy pomocy nowych kompleksów zasadniczo nie odbiegał od tych otrzymanych z zastosowaniem katalizatorów handlowo dostępnych. Nowe katalizatory typu Hoveydy II zostały z powodzeniem zastosowane w syntezie glikokoniugatu tokoferolu zawierającego pięciowęglowy nienasycony łańcuch, łączący α -tokoferol z resztą cukrową. W pracy przedstawiona została zmodyfikowana pięcioetapowa synteza katalizatora Hoveydy II generacji wychodząc z chlorku rutenu(III). Nie wymaga ona stosowania wyspecjalizowanej aparatury ani drogich, niebezpiecznych i trudnodostępnych substratów.

PODZIĘKOWANIA

Praca została przygotowana przy wsparciu grantu NCN realizowanego zgodnie z umową nr UMO-2011/02/A/ST5/00459. Dziękuję przede wszystkim promotorowi mojej rozprawy dr. hab. Stanisławowi Witkowskiemu, prof. UwB za wsparcie w trakcie wykonywania i pisania pracy. Dziękuję również panu prof. dr. hab. Jackowi Morzyckiemu za cenne rady, panu dr. inż. Leszkowi Siergiejczykowi za pomoc dotyczącą spektroskopii NMR, pani prof. dr. hab. Zofii Urbańczyk-Lipkowskiej za wykonanie rentgenostruktury katalizatora **26**.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] G.C. Vougioukalakis, R.H. Grubbs, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 1746.
- [2] E. Colacino, J. Martinez, F. Lamaty, *Coord. Chem. Rev.*, 2007, **251**, 726.
- [3] C. Samoǳłowicz, M. Bieniek, K. Grela, *Chem. Rev.*, 2009, **109**, 3708.
- [4] G. W. Burton, T. Doba, E.J. Gabe, L. Hughes, F.L. Lee, L. Prasad, K.U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 7053.
- [5] G.W. Burton, K.U. Ingold, *Acc. Chem. Res.*, 1986, **19**, 194.
- [6] W.H. Mills, I.G. Nixon, *J. Chem. Soc.*, 1930, 2510.
- [7] T. Rosenau, G. Ebner, A. Stanger, S. Perl, L. Nuri, *Chem. Eur. J.*, 2005, **11**, 280.
- [8] M. Knaś, P. Wałejko, J. Maj, A. Hryniewicka, S. Witkowski, M. Borzym-Kluczyk, D. Dudzik, K. Zwierz, *Toxicol. Mech. Meth.*, 2008, **18**, 491.
- [9] M. Knaś, P. Wałejko, J. Maj, A. Hryniewicka, S. Witkowski, S. Szajda, D. Dudzik, K. Zwierz, *E&C Hepatology*, 2006, **2**, 51.
- [10] P. Wałejko, T. Żołek, S. Witkowski, I. Wawer, *Mol. Phys. Rep.*, 2001, **33**, 70.
- [11] S. Witkowski, A. Markowska, P. Wałejko, *Pol. J. Chem.*, 1997, **71**, 449.
- [12] K. Grela, S. Harutyunyan, A. Michrowska, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 4038.
- [13] S. Witkowski, J. Popławski, *Pol. J. Chem.*, 1985, **59**, 93.
- [14] S. Witkowski, *Praca Doktorska*, Uniwersytet Warszawski, 1986
- [15] Y. Oikawa, T. Yoshioka, O. Yonemitsu, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 885.
- [16] L.I. Smith, H.E. Ungnade, H.H. Hoehn, S. Wawzonek, *J. Org. Chem.*, 1939, **4**, 311.
- [17] F.M. Dean, D.A. Matkin, M.O.A. Orabi, *J.C.S. Perkin I*, 1981, 1437.
- [18] L.F. Lindoy, G.U. Meehan, N. Svenstrup, *Synthesis*, 1998, 1029.
- [19] S. Chang, R.H. Grubbs, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 864.
- [20] W.A.L. van Otterlo, E.L. Ngidi, S. Kuzvidza, G.L. Morgans, S.S. Moleele, C.B. de Koning, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 9996.
- [21] A. Hryniewicka, A. Kozłowska, S. Witkowski, *J. Organomet. Chem.*, 2012, **701**, 87.
- [22] A. Hryniewicka, J. W. Morzycki, L. Siergiejczyk, S. Witkowski, J. Wójcik, A. Gryff-Keller, *Austr. J. Chem.*, 2009, **62**, 1363.
- [23] A. Hryniewicka, J. W. Morzycki, S. Witkowski, *J. Organomet. Chem.*, 2010, **695**, 1265.
- [24] K. Endo, R. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 8525.
- [25] B. Keitz, K. Endo, P. Patel, M. Herbert, R. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 693.
- [26] L.E. Rosebrugh, M.B. Herbert, V.M. Marx, B.K. Keitz, R.H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 1276.
- [27] A. Vogel, *Preparatyka Organiczna*, WNT, Warszawa 2006.
- [28] P. Singh, R.K. Verma, M.S. Singh, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 3818.
- [29] H. Shargi, K. Nicknam, M. Pooyan, *Tetrahedron*, 2001, **57**, 6057.
- [30] A.J. Arduengo III, R. Krafczyk, R. Schmutzler, *Tetrahedron*, 1999, **55**, 14523.
- [31] T.M. Trnka, J.P. Morgan, M.S. Sanford, T.E. Wilhelm, M. Scholl, T.-L. Choi, S. Ding, M.W. Day, R.H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 2546.
- [32] A. Hryniewicka, I. Misztalewska, D. Czajkowska-Szczykowska, Z. Urbańczyk-Lipkowska, J.W. Morzycki, S. Witkowski, *Tetrahedron*, 2014, **70**, 6810.
- [33] S.P. Hallman, T. A. Stephenson, G. Wilkinson, *Inorg. Synth.*, 1970, **12**, 237.
- [34] D. Amoroso, J.L. Snelgrove, J.C. Conrad, S.D. Drouin, G.P.A. Yap, D.E. Fogg, *Adv. Synth. Catal.*, 2002, **344**, 757.
- [35] M. Arisawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 2007, **55**, 1099.
- [36] J. Prunet, *Eur. J. Org. Chem.*, 2011, 3634.
- [37] A.S. Kearney, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1996, **19**, 225.

- [38] J. Gigg, R. Gigg, *J. Chem. Soc. C*, 1966, 82.
- [39] R.E. Ireland, D.W. Norbeck, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 3279.
- [40] T.J. Prosser, *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, **83**, 1701.
- [41] S. Krompiec, M. Pigulla, T. Bieg, W. Szczepankiewicz, N. Kuźnik, M. Krompiec, M. Kubicki, *J. Mol. Catal. A*, 2002, **189**, 169.
- [42] S. Krompiec, N. Kuźnik, R. Penczek, J. Rzepa, J. Mrowiec-Białoń, *J. Mol. Catal. A*, 2004, **219**, 29.
- [43] Y. Zeng, J. Ning, F. Kong, *Carbohydr. Res.*, 2003, **338**, 307.
- [44] E.J. Corey, J. W. Suggs, *J. Org. Chem.*, 1973, **38**, 3224.
- [45] A.E. Sutton, B.A. Seigal, D.F. Finnegan, M.L. Snapper, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 1339.
- [46] B. Schmidt, *Eur. J. Org. Chem.*, 2003, 816.
- [47] B. Schmidt, *Chem. Commun.*, 2004, 742.
- [48] B. Schmidt, *J. Org. Chem.*, 2004, **69**, 7672.
- [49] R.K. Uhrigh, M.A. Picard, K. Beyreuter, M. Wiesler, *Carbohydr. Res.*, 2000, **352**, 72.
- [50] A. Hryniewicka, P. Wałęjko, J. W. Morzycki, S. Witkowski, *Pol. J. Chem.*, 2009, **83**, 75.

Praca wpłynęła do Redakcji 22 października 2014

**SYNTEZY I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA
WYBRANYCH ZASAD MANNICHA**

**SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF
SELECTED MANNICH BASES**

Wanda Paulina Nawrocka, Anna Nowicka

*Katedra i Zakład Technologii Leków
Uniwersytet Medyczny im Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław
e-mail: anna.nowicka@umed.wroc.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Zasady Mannicha o aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*
2. Zasady Mannicha o aktywności antyoksydacyjnej
3. Zasady Mannicha o aktywności przeciwpadaczkowej
4. Zasady Mannicha o aktywności przeciwbólowej i przeciwzapalnej
5. Zasady Mannicha o różnej aktywności biologicznej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

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.

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.

ABSTRACT

The Mannich reaction is important for the synthesis and modification of biologically active compounds. Mannich bases – substituted products containing different heterocyclic system in their structures seem to be suitable candidates for further chemical modifications and might be of interest as pharmacologically active compounds.

The main goal of this article is to present synthesis and biological activity of selected Mannich bases. Based on a review of the chemical literature, Mannich bases showed a multipharmacological effects. The Mannich bases, containing various heterocyclic systems were identified as potent anticancer agents. Presented compounds exhibit cytotoxic, antiproliferate *in vitro*, anticonvulsant, antioxidative, antiinflammatory and analgesic activity. Some of them can be used in a treatment of diabetes and hypertension.

Keywords: Mannich bases, biological activity, synthesis

Słowa kluczowe: zasady Mannicha, aktywność biologiczna, syntezy

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

IC ₅₀	– stężenie hamujące (ang. <i>inhibitory concentration</i>)
PEG	– glikole polietylenowe (ang. <i>poly(ethylene glycol)</i>)
IG ₅₀	– stężenie hamujące wzrost komórek (ang. <i>growth inhibition</i>)
MES	– test maksymalnego wstrząsu elektrycznego (ang. <i>maximal electroshock seizure</i>)
scPTZ	– test pentylenotetrazolowy (ang. <i>subcutaneous pentylenetetrazole</i>)
COX	– cyklooksygenaza (ang. <i>cyclooxygenase</i>)
PPAR	– receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów (ang. <i>peroxisome proliferator-activated receptors</i>)
MAP	– średnie ciśnienie tętnicze w trakcie pojedynczego cyklu pracy serca (ang. <i>mean arterial pressure</i>)

Nowotworowe linie komórkowe:

MDA-MB-468	– rak piersi (ang. <i>human mammary gland cancer cell line</i>)
MCF-7	– hormonozależny rak piersi (ang. <i>human breast cancer cell line</i>)
BT483	– rak gruczołu sutkowego (ang. <i>human mammary gland carcinoma cell line</i>)
NCI-ADR/RES	– guz jajnika (ang. <i>human ovarian cancer cell line with multidrug resistance</i>)
OVCAR-036	– rak jajnika (ang. <i>human ovarian cancer cell line</i>)
HL60	– rak jajnika chińskiego chomika (ang. <i>chinese hamster ovary cancer cell line</i>)
HeLa	– rak szyjki macicy (ang. <i>human cervix cancer cell line</i>)
PC-3	– rak prostaty (ang. <i>human prostate cancer cell line</i>)
SK Hep	– rak wątroby pochodzenia śródbłonkowego (ang. <i>human liver adenocarcinoma cell line</i>)
HepG2	– rak wątrobokomórkowego (ang. <i>liver cancer cell line</i>)
CE81T	– płaskonabłonkowy rak przełyku (ang. <i>human esophageal squamous cell carcinoma cell line</i>)
HT-29	– rak okrężnicy (ang. <i>human colon cancer cell line</i>)
786-0	– rak nerki (ang. <i>human renal cell adenocarcinoma cell line</i>)
NCI-H460	– rak płuc (ang. <i>human lung cancer cell line</i>)
UACC-62	– czerniak złośliwy (ang. <i>human melanoma cell line</i>)
K562	– białaczka (ang. <i>human leukaemia cell line</i>)
L1210	– mysia białaczka (ang. <i>mouse leukaemia cell line</i>)
CHO	– ludzka białaczka (ang. <i>human leukaemia cell line</i>)

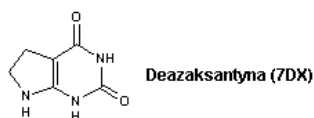
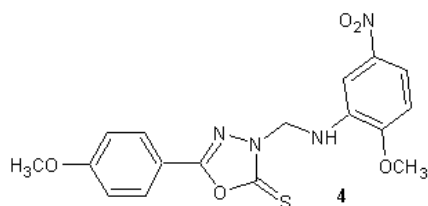
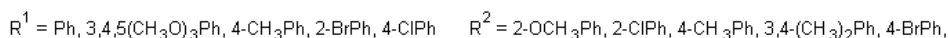
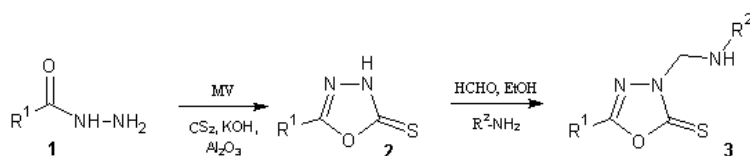
WPROWADZENIE

W poprzedniej naszej pracy, na podstawie 33 pozycji najnowszego piśmiennictwa, przedstawiono syntezy zasad Mannicha, pochodnych różnych układów heterocyklicznych, o aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwwgrzybiczej [1]. Zaprezentowano także stosowane leki o różnorodnej aktywności farmakologicznej, które w swej strukturze zawierają ugrupowanie aminometylowe.

W tej pracy zostaną przedstawione wybrane syntezy zasad Mannicha o aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*, antyoksydacyjnej, przeciwdrgawkowej, przeciwbólowej i przeciwzapalnej oraz przeciwwirusowej.

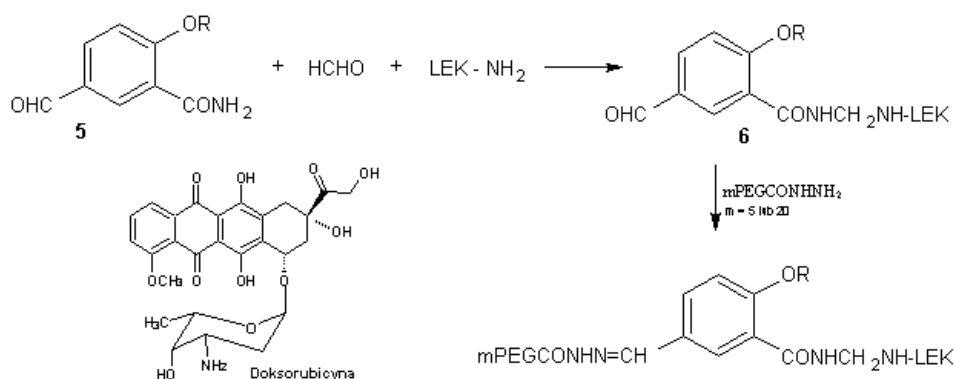
1. ZASADY MANNICHA O AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWEJ *IN VITRO*

Shahzad i in. [2] otrzymali serię 21 zasad Mannicha, pochodnych 2-tiokso-1,3,4-oksadiazolu o aktywności przeciwnowotworowej *in vitro* (Schemat 1). Ich mechanizm działania polegał na hamowaniu enzymu fosforylasy tymidynowej, która jest czynnikiem proangiogenicznym, wstępującym w tkance nowotworowej, a także, choć w mniejszym stężeniu, w prawidłowych tkankach. Jej aktywność powoduje bardziej intensywne tworzenie nowych naczyń, większą agresywność guza i w efekcie krótszy czas przeżycia chorych. Wysoka aktywność enzymu fosforylasy tymidynowej promuje proliferację komórek śródbłonkowych przez redukcję stężenia tymidyny [3]. Produkt degradacji tymidyny, 2-deoksyryboza, posiada angiogenną i chemotaktyczną aktywność. Z tego względu, poszukiwane są skuteczne inhibitory tego enzymu. Z serii związków 3-(2-metoksy-5-nitrofenylo)aminometylo-5-(4-metylofenylo)-2-tiokso-1,3,4-oksadiazol (**4**) wykazywał 2,5 razy wyższą aktywność ($IC_{50} = 14,40 \pm 2,45 \mu M$) niż związek referencyjny – Deazaksantyna (7DX).



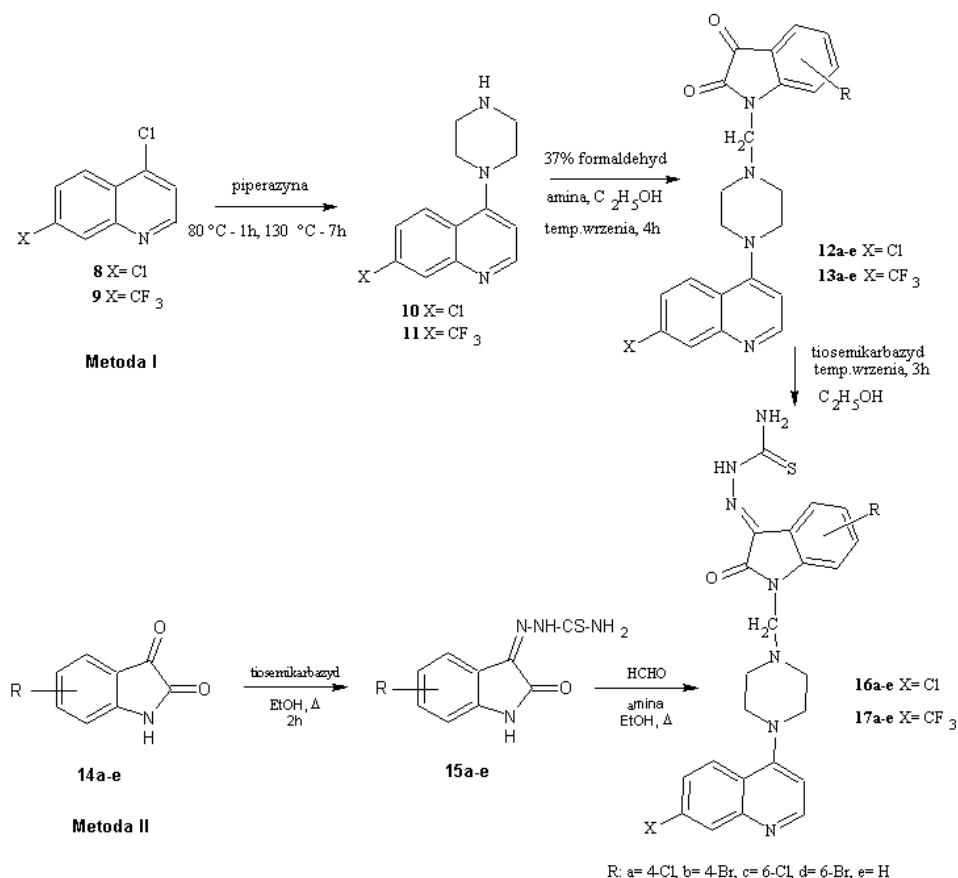
Schemat 1. Synteza pochodnych 2-tiokso-1,3,4-oksadiazolu
Scheme 1. Synthesis of 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole derivatives

Glikole polietylenowe (PEG) mogą być potencjalnymi nośnikami leków przeciwnowotworowych, podwyższając ich indeks terapeutyczny. Chińscy naukowcy [4] otrzymali w wyniku kondensacji Mannicha proleki przeciwnowotworowych antybiotyków antracyklinowych: Doksorubicyny i Daunorubicyny, zawierające w swojej strukturze PEG (Schemat 2). Otrzymane proleki **7**, w tych samych dawkach, wykazywały porównywalną cytotoksyczność, co antracykliny, ale wydłużały czterokrotnie ich czas działania.



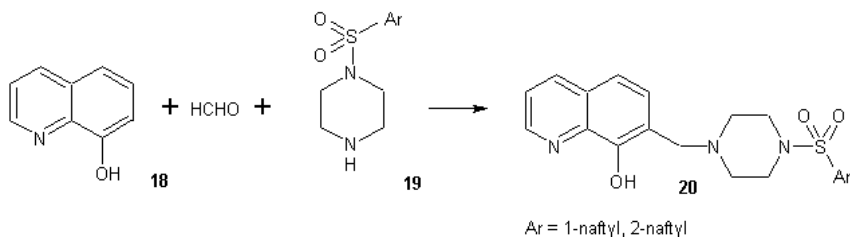
Schemat 2. Synteza proleków glikoli polietylenowych i antybiotyków antracyklinowych
Scheme 2. Synthesis of poly(ethylene glycol) prodrug for anthracyclines

Otrzymane w Kanadzie [5] według Schematu 3 zasady Mannicha – pochodne 4-piperazynylocholinoliny, wykazały *in vitro* wysoką aktywność wobec linii komórkowych ludzkiego raka piersi (MDA-MB-468). Najbardziej aktywne z otrzymanej serii były: 4-bromo-1-[4-(7-chlorochinolin-4-yl)-piperazyn-1-ylometylo]-1H-indolo-2,3-dion (**12b**) oraz N-[4-(7-trifluorometylo-chinolin-4-yl)]-piperazyn-1-ylometylo-4-chloro-1H-indolo-2-on-3-tiosemikarbazon (**17a**), które w stężeniu 0,7–1,9 μM hamowały rozrost komórek nowotworowych (GI₅₀ = 0,7–1,9 μM).



Schemat 3. Synteza pochodnych 4-piperazynoquinoliny
 Scheme 3. Synthesis of 4-piperazinyloquinoline derivatives

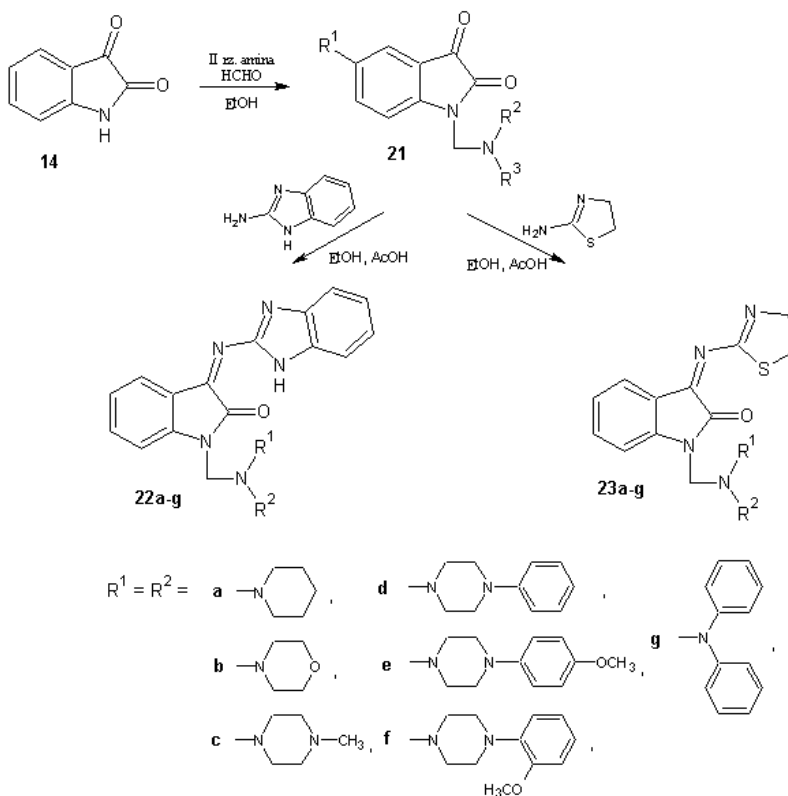
Tajwańscy naukowcy otrzymali serię zasad Mannicha, pochodnych 8-hydroksychinoliny, które były badane na czterech liniach ludzkich komórek nowotworowych: HeLa, BT483, SKHep, CE81T i wykazały umiarkowaną lub niską aktywność przeciwnowotworową *in vitro* [6]. Najwyższą aktywność przeciwnowotworową wobec linii HeLa przy wartości $GI_{50} = 1,7-1,8 \mu\text{M}$ wykazywały pochodne **20**, zawierające w swojej strukturze podstawniki naftylowe (Schemat 4).



Schemat 4. Synteza pochodnych 4-hydroksychinolinyl

Scheme 4. Synthesis of 4-hydroxyquinoline derivatives

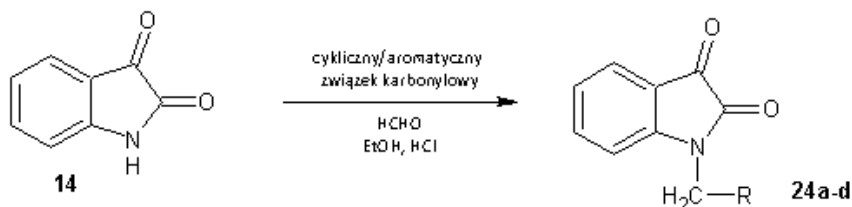
Serię zasad Mannicha (Schemat 5), pochodnych izatyny i 2-aminotiazoliny lub 2-aminobenzimidazolu otrzymali egipscy naukowcy [7]. Związki, zawierające w swojej strukturze 2-aminobenzimidazol wykazały wyższą cytotoksyczność niż połączenia izatyny z 2-aminotiazoliną, wobec komórek ludzkiego, hormonozależnego raka piersi linii MCF-7. Lekiem referencyjnym była Doksorubicyna ($IC_{50} = 5,46$). Najbardziej cytotoksyczne okazały się związki **23a**, **23d**, **23g** ($IC_{50} = 22,59-26,36$).



Schemat 5. Synteza pochodnych izatyny zawierających w swej strukturze cząsteczki tiazoliny lub 2-aminobenzimidazolu

Scheme 5. Synthesis of isatin derivatives containing thiazoline or 2-aminobenzimidazole moiety

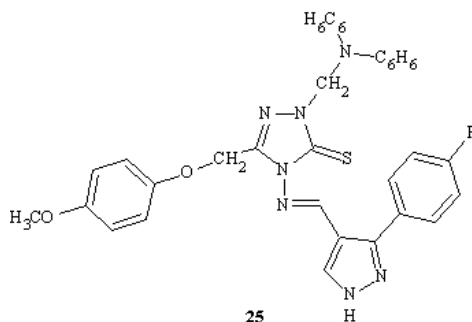
Z kolei zasady Mannicha (Schemat 6), otrzymane w wyniku reakcji izatyny z podstawionymi aromatycznymi oraz cyklicznymi związkami karbonyłowymi: metylopiperydyno-4-onem, tetrahydropiranonem, kamforą czy tropinonem zostały przebadane na aktywność antyproliferacyjną *in vitro* na 60 liniach komórkowych. Najwyższą aktywność ($IC_{50} = 1,53 \mu M$) wykazał 1-[(4,7,7-trimetylo-3-oksobicyklo[2.2.1]heptan-2-yl)metylo]indolo-2,3-dion (**24c**), który został wyselekcjonowany do rozszerzonych badań [8]. Modelowanie komputerowe wskazuje, że prawdopodobnym mechanizmem działania związku **24c** jest inhibicja tubuliny.



R = **a** 1-metylopiperydyno-4-on, **b** tetrahydropiranon, **c** kamfora, **d** tropinon

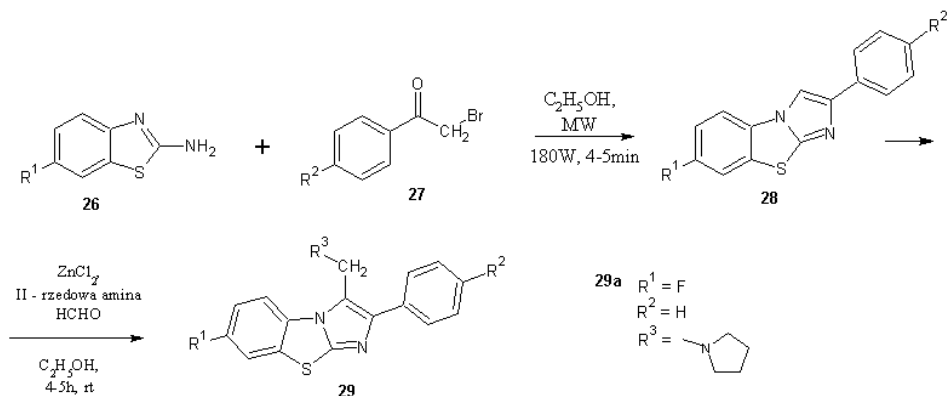
Schemat 6. Synteza pochodnych izatyny
Scheme 6. Synthesis of isatin derivatives

Wysoką aktywność antyproliferacyjną *in vitro* na linię komórkową HepG2 – raka wątrobokomórkowego wykazała pochodna 3-tiokso-1,2,4-triazolu **25** [9] (Rys. 1).



Rysunek 1. Pochodna 3-tiokso-1,2,4-triazolu
Figure 1. 3-Thioxo-1,2,4-triazole derivative

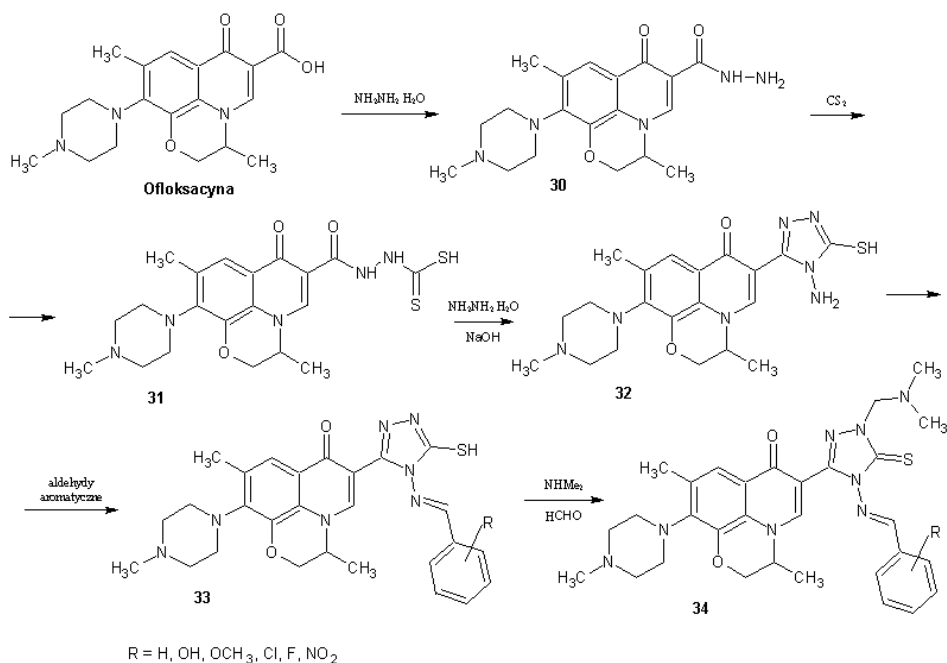
Nową klasę zasad Mannicha, pochodnych 2-aryloimidazo[2,1-*b*]benzotiazolu (Schemat 7) przebadano na aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec 3 linii komórkowych: Hep G2, MCF-7 oraz HeLa. Stwierdzono, że najbardziej aktywny był 2-fenyl-3-pirolidynometylo-6-fluoroimidazo[2,1-*b*]benzotiazol (**29a**) ($IC_{50} = 2,8 \mu M$). Jego wpływ na regulację cyklu komórkowego oraz zdolność indukowania apoptozy sugeruje, że może być potencjalnym środkiem przeciwnowotworowym w terapii raka wątroby [10].



Schemat 7. Synteza pochodnych 2-arylimidazo[2,1-*b*]benzotiazolu

Scheme 7. Synthesis of 2-arylimidazo[2,1-*b*]benzothiazole derivatives

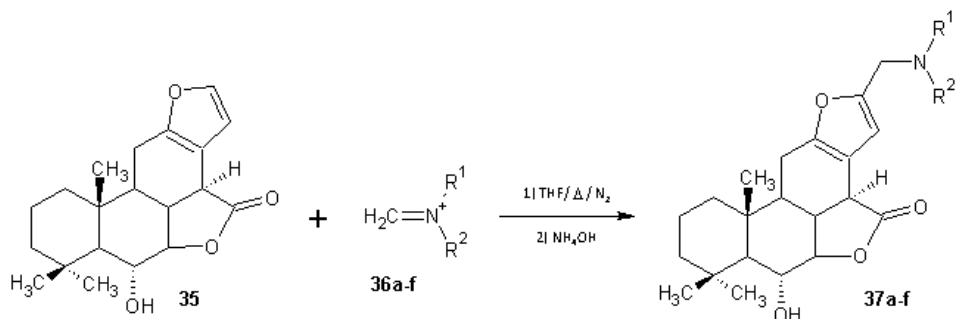
Chińscy naukowcy jako substratu do syntezy zasad Schiffa, a następnie Mannicha zastosowali fluorochinolon, lek przeciwbakteryjny– Ofloksacynę (Schemat 8). Kwas 6-fluoro-7-(4-metylopiperazyn-1-ylo)1,8-(2,1-oksopropylo)chinolin-4(1H)-on-3-karboksylowy w reakcji z hydrazyną utworzył hydrazyd **30**, który z disiarczkiem węgla daje związek **31**. Związek **31** po amonolizie połączonej z cyklizacją dał 4-aminotiazolo pochodną **32**. Serię zasad Schiffa **33** otrzymano w reakcji związku **32** z wybranymi aldehydami aromatycznymi. W kolejnym etapie syntezy poddano je kondensacjom Mannicha uzyskując związki **34**. Zasady: Schiffa **33** i Mannicha **34** w testach przeciwnowotworowych wykazywały działanie antyproliferacyjne *in vitro* wobec linii komórkowych: mysiej białaczki (L1210), ludzkiej białaczki (CHO) i komórek raka jajnika chińskiego chomika (HL60) [11].



Schemat 8. Modyfikacja chemiczna struktury leku Ofloksacyny

Scheme 8. Chemical modification of structure of drug Ofloxacin

Diterpenoid **35** wyizolowany z owoców brazylijskiej rośliny *Pterodon polygalaeiflorus* posiadał właściwości przeciwzapalne i przeciwbólowe. Modyfikacja jego struktury chemicznej - aminometylowanie doprowadziło do powstania 6 związków **37a-f** o aktywności antyproliferacyjnej *in vitro* ($GI_{50} = 0,30 \mu\text{M}$) (Schemat 9) [12]. Otrzymane związki były aktywne wobec 9 ludzkich linii komórkowych (UACC-62, MCF-7, NCI-ADR/RES, 786-0, NCI-H460, PC-3, OVCAR-036, HT-29 i K562). Lekiem referencyjnym stosowanym w testach była Dokсорubicyna ($GI_{50} = 0,03\text{--}0,40 \mu\text{M}$).



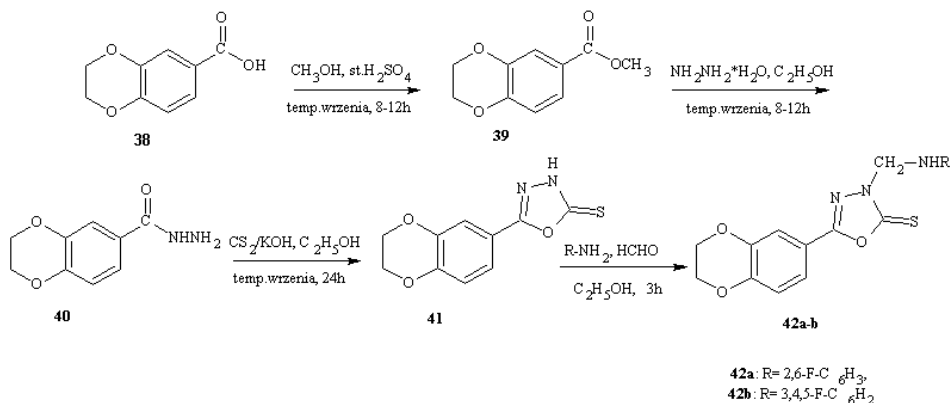
- a** $\text{R}^1 = \text{R}^2 = -\text{CH}_2\text{CH}_3$, **b** $\text{R}^1 = \text{R}^2 = -\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2$, **c** $\text{R}_1 \text{ i } \text{R}_2 = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$,
d $\text{R}^1 = \text{R}^2 = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, **e** $\text{R}^1 \text{ i } \text{R}^2 = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, **f** $\text{R}_1 \text{ i } \text{R}_2 = -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2-$

Schemat 9. Modyfikacja chemiczna struktury diterpenoidu wyizolowanego z *Pterodon polygalaeiflorus*
 Scheme 9. Chemical modification of structure of diterpenoids isolated from *Pterodon polygalaeiflorus*

2. ZASADY MANNICHA O AKTYWNOŚCI ANTYOKSYDACYJNEJ

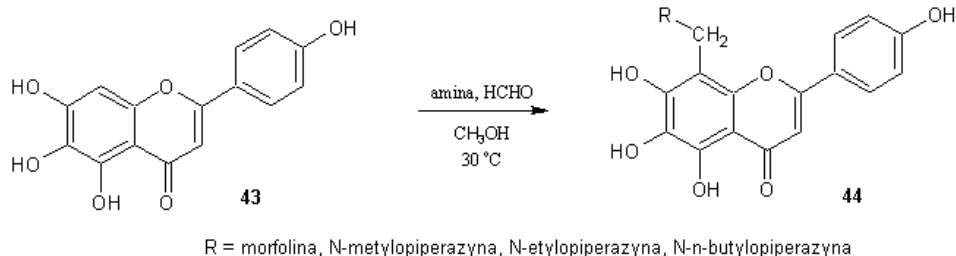
Antyoksydanty są związkami, które w niewielkich stężeniach ochraniają przed utlenianiem lub znacząco opóźniają utlenianie substratu. Chronią organizm m.in. przed reakcjami z udziałem już utworzonych wolnych rodników [13]. Do znanych antyoksydantów należą: glutation, witamina C, witamina E, karotenoidy, ksantofile, zredukowany koenzym Q10 oraz antocyjaniny, flawonoidy czy fitoestrogeny.

Zasady Mannicha, pochodne 1,4-benzodioksanu, zawierającego w swojej strukturze 2-tio-1,3,4-oksadiazol zostały zsyntezowane przez chińskich naukowców zgodnie ze Schematem 10. Wykazywały one działanie antyoksydacyjne. Najwyższą aktywność wykazały związki **42a,b** [14], a związkiem referencyjnym była pochodna witaminy E – kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochroman-2-karboksyłowy (Trolox).



Schemat 10. Synteza pochodnych 2-tio-1,3,4-oksadiazolu
 Scheme 10. Synthesis of 2-thio-1,3,4-oxadiazole derivatives

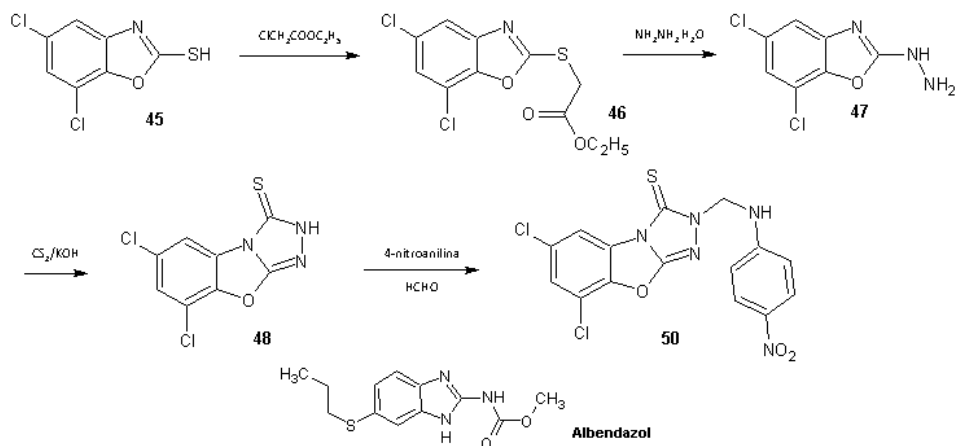
W wyniku reakcji Mannicha, chińscy badacze zmodyfikowali strukturę flawonu – Scutellareiny 2-(4-hydroksyfenyleno)-5,6,7-trihydroksy-4-benzopiranonu (43) (Schemat 11). Zasada Mannicha **44** z podstawnikiem morfolinometylowym wykazała silniejszą aktywność antyoksydacyjną ($IC_{50} = 30,89 \mu M$) oraz lepszą rozpuszczalność w wodzie niż substrat. Dodatkowo działała przeciwzakrzepowo poprzez wydłużenie czasu tworzenia skrzepu oraz zmniejszenie ilości fibrynogenu. Według autorów może zostać ona wykorzystana w leczeniu choroby niedokrwiennej naczyń mózgowych [15].



Schemat 11. Modyfikacja chemiczna struktury flawonu – scutellareiny

Scheme 11. Chemical modification of structure of flavone – scutellarein

3-Tio-6,8-dichloro[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3]benzoksazol (**48**) otrzymano stosując jako substrat 5,7-dichloro-2-hydrazyno-1,3-benzoksazolu (**47**) zgodnie ze Schematem 12. Aminometylowanie związku **48** dało 6,8-dichloro-3-tio-2(4-nitroanilino)metylo[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3]benzoksazol (**50**). Otrzymane związki były badane *in vitro* na aktywność antyoksydacyjną i przeciwrobaczą [16], a najwyższą aktywność wykazała pochodna **50**. Mechanizm działania przeciwrobaczego polegał na łączeniu się z β -tubuliną (białko globularne), przez którą pasożyt pobiera glukozę, co doprowadza do zahamowania endocytozy. Lekiem referencyjnym był Albendazol w stężeniu 1%, powodujący paraliż pasożyta w czasie $5,37 \pm 1,08$ min, a następnie jego śmierć w czasie $7,20 \pm 1,95$ min.

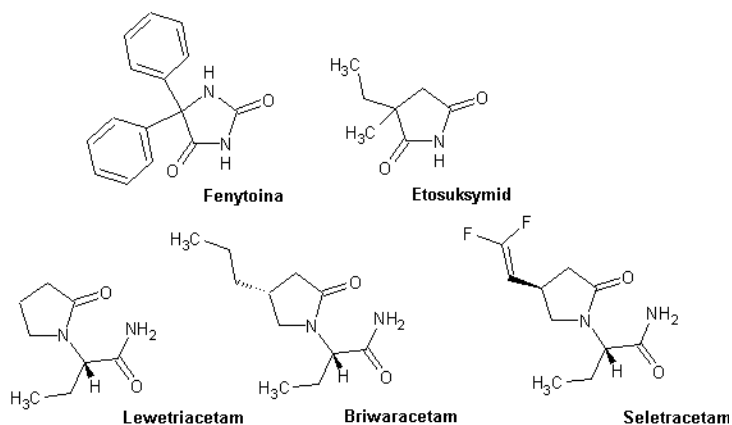


Schemat 12. Synteza 3-tio-6,8-dichloro[1,2]triazolo[3,4-b][1,3]benzoksazolu

Scheme 12. Synthesis of 3-thio-6,8-dichloro[1,2]triazolo[3,4-b][1,3]benzoxazole

3. ZASADY MANNICHA O AKTYWNOŚCI PRZECIWPADACZKOWEJ

Zespół polskich uczonych z Uniwersytetu Jagiellońskiego opublikował w ostatnich latach serię 8 prac [17–24], w których zaprezentowano syntezy zasad Mannicha, pochodnych imidu kwasu bursztynowego i hydantoiny o aktywności antykonwulsyjnej. Poniżej zaprezentowano struktury stosowanych leków przeciwpadaczkowych, które są pochodnymi kwasu bursztynowego lub hydantoiny i były strukturami wiodącymi w przeprowadzonych syntezach (Rys. 2).

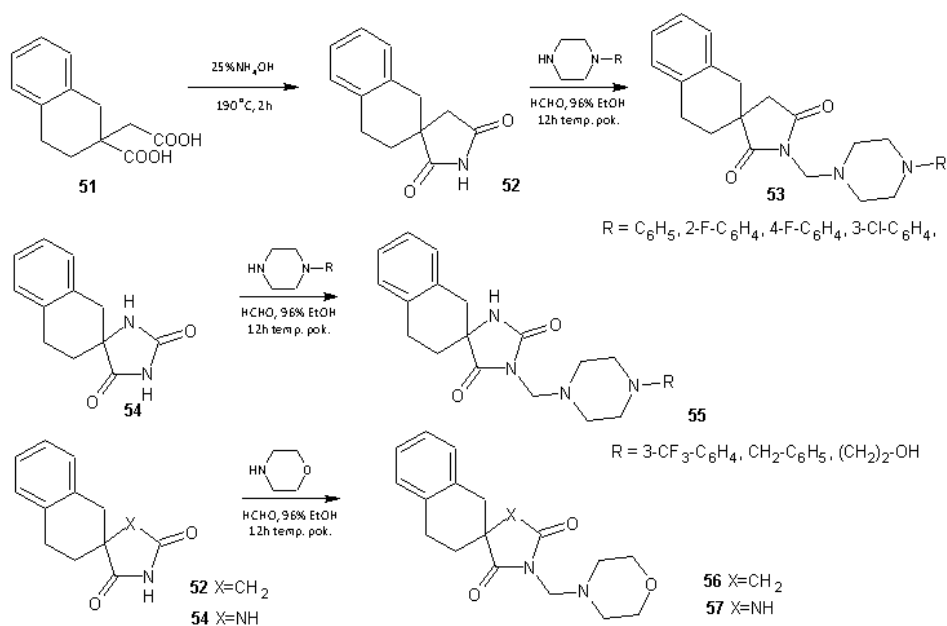


Rysunek 2. Struktury chemiczne stosowanych leków przeciwpadaczkowych

Figure 2. Chemical structures of used anticonvulsant drugs

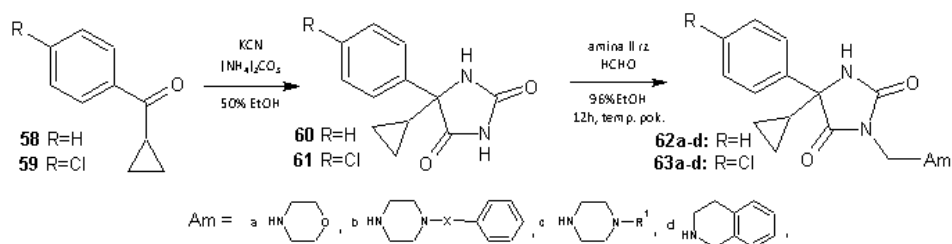
Syntezy pochodnych [7,8-f]benzo-2-azaspiro[4,5]-dekan-1,3-dionu (52) i [7,8-f]benzo-1,3-di-azaspiro[4,5]-dekan-2,4-dionu (54) zostały przedstawiona na Sche-

macie 13. Większość otrzymanych związków w testach maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) oraz pentylenotetrazolowym (scPTZ) wykazała silniejsze oraz bezpieczniejsze działanie antykonwulsyjne od Fenytoiny, stosowanej jako lek referencyjny [20]. Potencjalne właściwości neurotoksyczne sprawdzono w testach „rotarod”. Dla wybranych związków (**53** oraz **55**) testowano *in vitro* wpływ na napięciowo zależne kanały sodowe, co miało wyjaśnić mechanizm ich działania przeciwpadaczkowego.



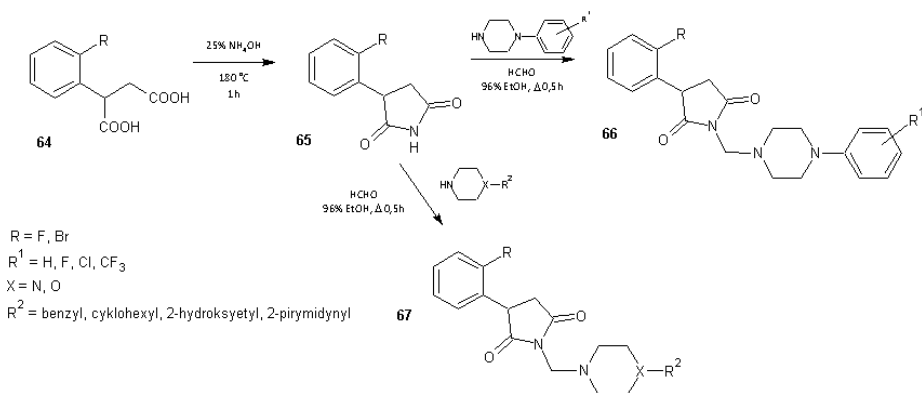
Schemat 13. Synteza pochodnych spirosuccinyloimidu i spirohydantoiny
Scheme 13. Synthesis of spirosuccinimide and spirohydantoin derivatives

Z serii 16 nowych zasad Mannicha [21], pochodnych 5-cyklopropylo-5-fenyl- (**60**) i 5-cyklopropylo-5(4-chlorofenyl)-imidazolidyn-2,4-dionu (**61**) 5 pochodnych wykazało silniejsze działanie antykonwulsyjne u myszy niż Fenytoina, zastosowana jako wzorzec w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (Schemat 14).



Schemat 14. Synteza pochodnych 5-cyklopropylo-5-arylo-imidazolidyno-2,4-dionu
Scheme 14. Synthesis of 5-cyklopropyl-5-aryl-imidazolidine-2,4-diones

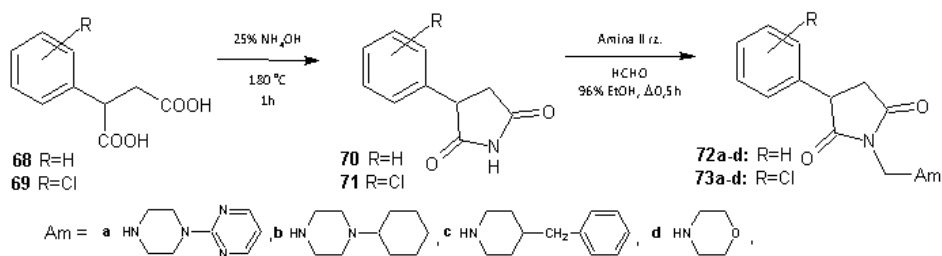
24 nowe zasady Mannicha, pochodne 3-(2-fluorofenylo)- i 3-(2-bromofenylo)-pirolidyn-2,5-dionu przebadano na aktywność przeciwdrgawkową i neurotoksyyczną [22]. Większość otrzymanych związków wykazywała wysoką aktywność przeciwpadaczkową w testach maksymalnego wstrząsu elektrycznego u szczurów. 1-[[4-(4-Fluorofenylo)-piperazyn-1-ylo]-metylo]-3-(2-bromofenylo)pirolidyn-2,4-dion (**66**) wykazywał wyższą aktywność przeciwpadaczkową w porównaniu do leku referencyjnego – Fenytoiny (Schemat 15). Dodatkowo charakteryzował się niską neurotoksycznością.



Schemat 15. Synteza pochodnych pirolidyno-2,5-dionu

Scheme 15. Synthesis of pyrrolidine-2,5-dione derivatives

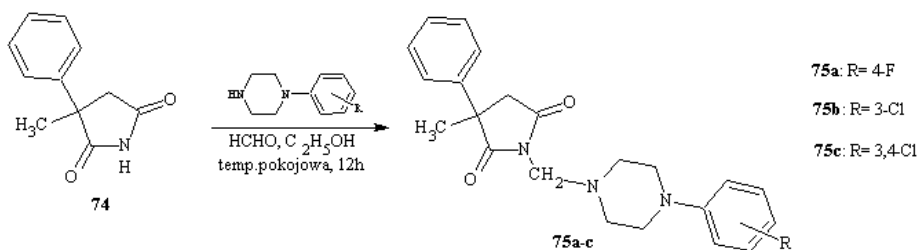
Kontynuując badania, w dwóch pracach [23, 24] opisano syntezy zasad Mannicha, pochodnych 3-fenylopirolidyno-2,5-dionu o niskiej neurotoksyczności (Schemat 16). Najwyższą aktywność przeciwpadaczkową wykazał 1-morfolinometylo-3-fenylopirolidyn-2,5-dion (**72d**).



Schemat 16. Synteza pochodnych pirolidyno-2,5-dionu

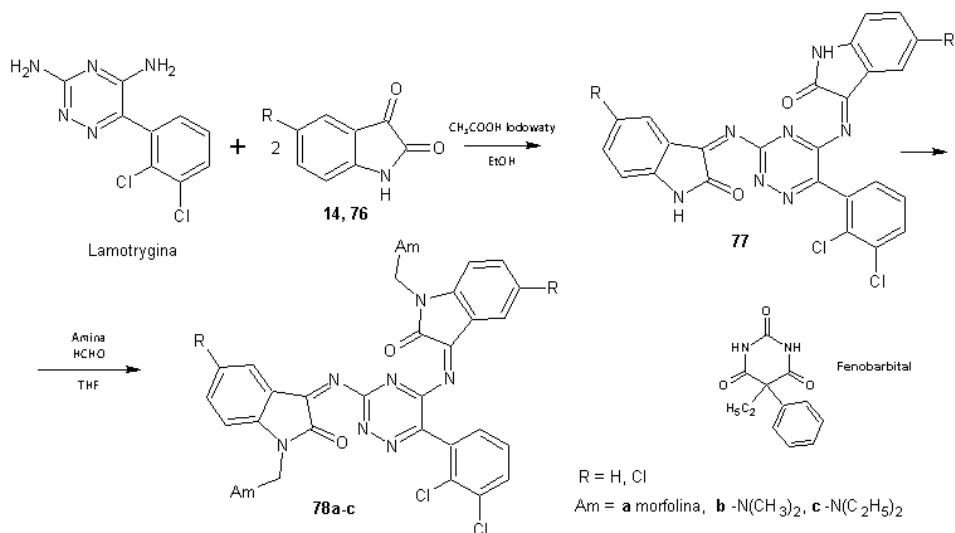
Scheme 16. Synthesis of pyrrolidine-2,5-dione derivatives

Pochodna 4-fluorofenylopiiperazynowa **75a** wykazała dodatkowo działanie antymutagenne (Schemat 17).



Schemat 17. Synteza pochodnych 2-arylpiperazinometylopirolidyno-2,5-dionu
 Scheme 17. Synthesis of 2-arylpiperazinmethylpirolidynine-2,5-dione derivatives

Indyjscy naukowcy jako substratów do syntezy zasad Mannicha użyli Lamotryginy (stosowany lek przeciwpadaczkowy) i izatyny [25]. W pierwszym etapie syntezy otrzymano zasady Schiffa 77, które następnie poddano kondensacji Mannicha z wybranymi aminami: mofoliną, dimetylo- i dietyloaminą wobec formaldehydu (Schemat 18). Otrzymane związki 78a-c w testach na aktywność antykonwulsyjną wykazały umiarkowaną aktywność w porównaniu z lekami referencyjnymi – Fenobarbitalem i Lamotryginą.

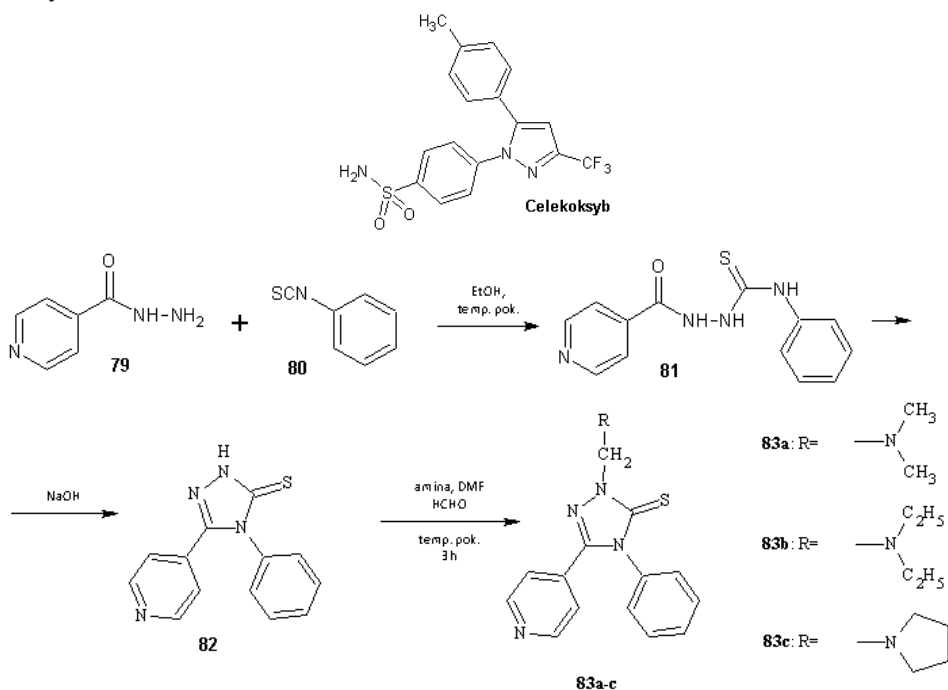


Schemat 18. Modyfikacja chemiczna struktury leku przeciwpadaczkowego – Lamotryginy
 Scheme 18. Chemical modification of structure of anticonvulsant drug – Lamotrigine

4. ZASADY MANNICHA O AKTYWNOŚCI PRZECIWBÓLOWEJ I PRZECIWPALNEJ

Cyklooksygenaza-2 (COX - 2) jest enzymem aktywnym w procesie zapalnym. Odpowiada za syntezę mediatorów stanu zapalnego. COX - 2 nie jest wykrywalny w większości tkanek, ale pojawia się w komórkach w odpowiedzi na bodźce zapalne lub stres fizjologiczny [26].

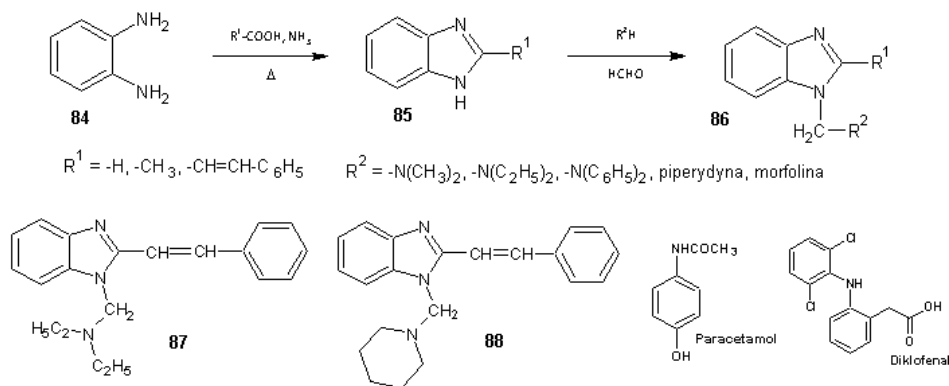
Zasady Mannicha **83a-c**, pochodne triazolu, w badaniach *in vitro* wykazały wysoki potencjał i selektywność jako inhibitory COX - 2 (Schemat 19) [27]. Lekiem referencyjnym używanym w testach był Celekoksyb. Najwyższą aktywność przeciwzapalną oraz selektywność ($IC_{50} = 0,9$ nM), wyższą od Celekoksybu, wykazał związek **83b**.



Schemat 19. Synteza pochodnych 4,5-diarilo-3-tio-1,2,4-triazolu

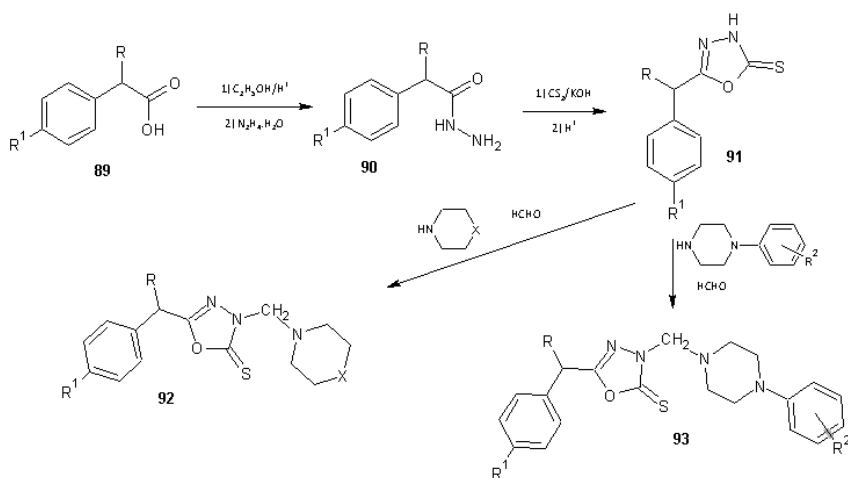
Scheme 19. Synthesis of 4,5-diaryl-3-thio-1,2,4-triazole derivatives

Nową serię zasad Mannicha, pochodnych benzimidazolu otrzymali indyjscy naukowcy (Schemat 20). Związki były badane na aktywność przeciwbólową oraz przeciwzapalną. Zasada Mannicha **87** w dawce 40 mg/kg wykazała właściwości przeciwbólowe podobne do Paracetamolu. Natomiast 2-feniloetyleno-1-(pipieridyno-1-ylometylo)-1H-benzimidazol (**88**) działał silniej przeciwzapalnie niż Diklofenak. Właściwości przeciwzapalne mogą być związane z jego wpływem na enzym – 5-lipooksygenazę lub spowodowane blokowaniem migracji leukocytów i wysięku proteinowego do zranionego miejsca [28].



Schemat 20. Synteza pochodnych benzimidazolu
 Scheme 20. Synthesis of benzimidazole derivatives

Celem pracy Manjunatha i in. była synteza pochodnych 2-tio-1,3,4-oksadiazolu o właściwościach przeciwbólowych i przeciwzapalnych, pozbawionych działania wrzodotwórczego (Schemat 21). Substratem w syntezie zasad Mannicha był stosowany lek przeciwzapalny i przeciwbólowy kwas 2-[4-(2-metylopropylo)fenylo]propionowy (**89**) – Ibuprofen. Związki **92a**, **93a-d** wykazały silne działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe w porównaniu do Diklofenaku, przy zminimalizowanym działaniu wrzodotwórczym. [29] Dodatkowo otrzymane pochodne były przebadane na aktywność przeciwbakteryjną wobec szczepów *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Klebsiella pneumoniae* i wykazały aktywność porównywalną do Ciprofloksacyny – leku referencyjnego (MIC 6,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Wykazały również aktywność przeciwgrzybiczą wobec grzybów: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium maneffei* i *Trichophyton mentagrophytes*.

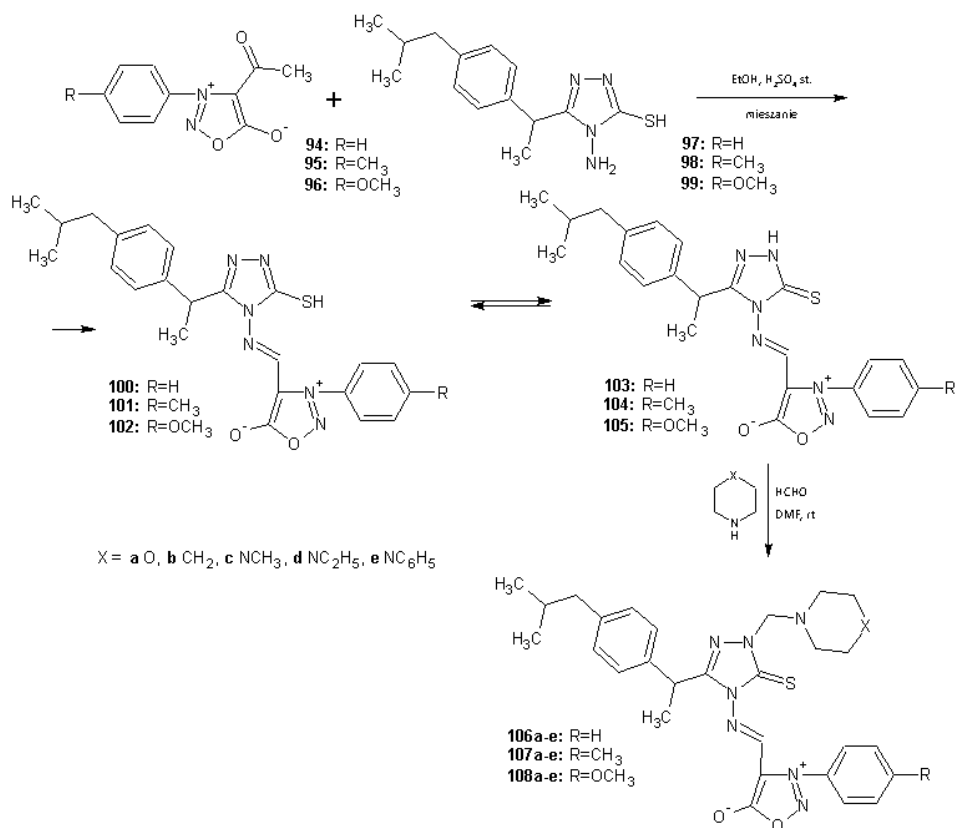


	R	R ¹	R ²	X
92a	CH ₃	CH ₃ CH(CH ₃) ₂	-	CHCO ₂ Et
93a	CH ₃	CH ₃ CH(CH ₃) ₂	4-OCH ₃	-
93b	CH ₃	CH ₃ CH(CH ₃) ₂	4-NO ₂	-
93c	CH ₃	CH ₃ CH(CH ₃) ₂	4-F	-
93d	H	SCH ₃	3-Cl	-

Schemat 21. Synteza pochodnych 2-tiookso-1,3,4-oksadiazolu

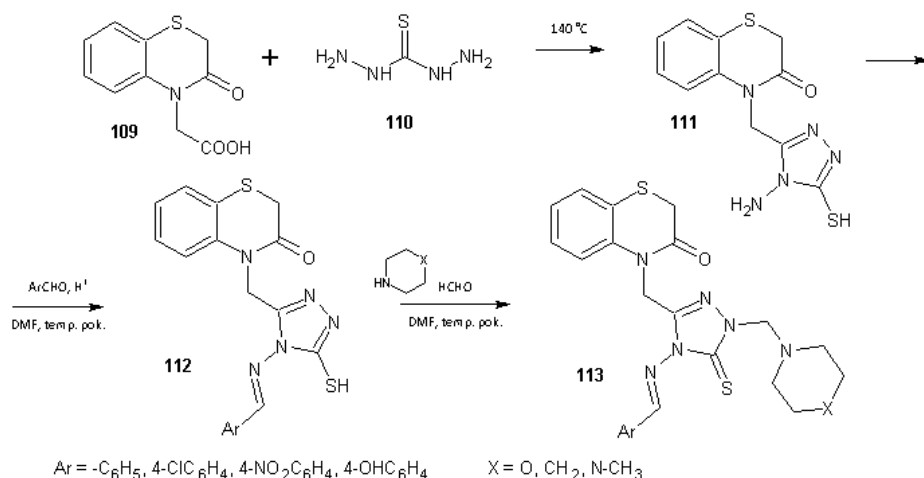
Scheme 21. Synthesis of 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole derivatives

Kalluraya i Shabaraya otrzymali serię nowych zasad Schiffa **103-105** i Mannicha **106-108**, pochodnych sydnonu [30]. Zasady Mannicha, zawierające w swojej strukturze piperydynę lub morfolinę wykazały obiecującą aktywność przeciwbólową i przeciwzapalną (Schemat 22). Najwyższą aktywność, porównywalną do leku referencyjnego – Indometacyny wykazała zasada Schiffa **105** oraz zasady Mannicha **106a,b**, **107a** i **108a**.



Schemat 22. Synteza pochodnych sydnonu
 Scheme 22. Synthesis of sydnone derivatives

Nową serię zasad Schiffa **112** i Mannicha **113**, pochodnych 4-[(4-amino-5-sulfanylo-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metylo]-2H-1,4-benzotiazyn-3(4H)-onu (**111**) otrzymali indyjscy naukowcy [31]. W testach na aktywność przeciwbólową i przeciwzapalną okazały się mniej aktywne niż substrat – kwas (3-okso-2,3-dihydro-4H-1,4-benzotiazyn-4-yl)octowy (**109**), który wykazywał aktywność porównywalną do stosowanych leków – Pentazocyny lub Indometacyny (Schemat 23).



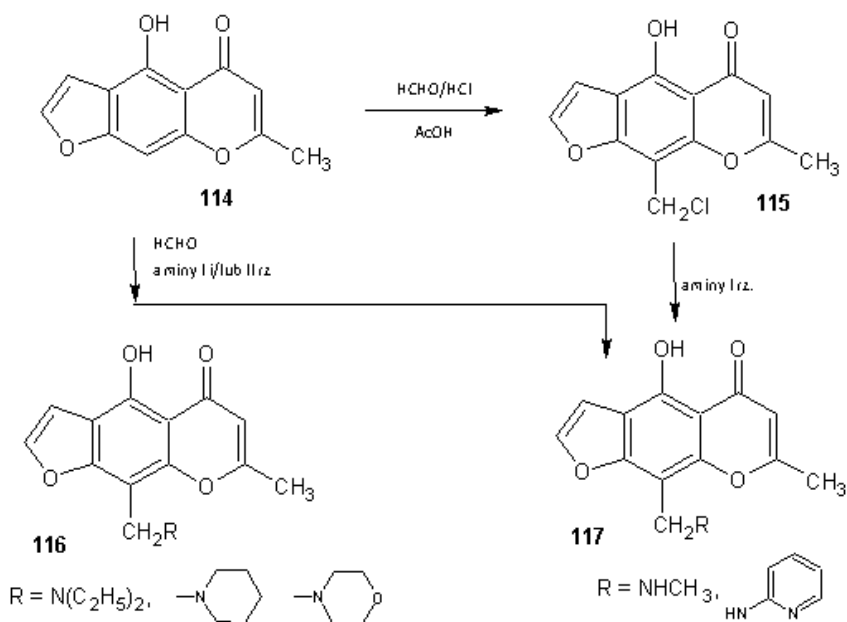
Schemat 23. Synteza pochodnych 3-tioksa-1,2,4-triazolu

Scheme 23. Synthesis of 3-thioxo-1,2,4-triazole derivatives

5. ZASADY MANNICHA O RÓŻNORODNEJ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ

Aktywność przeciwwirusowa

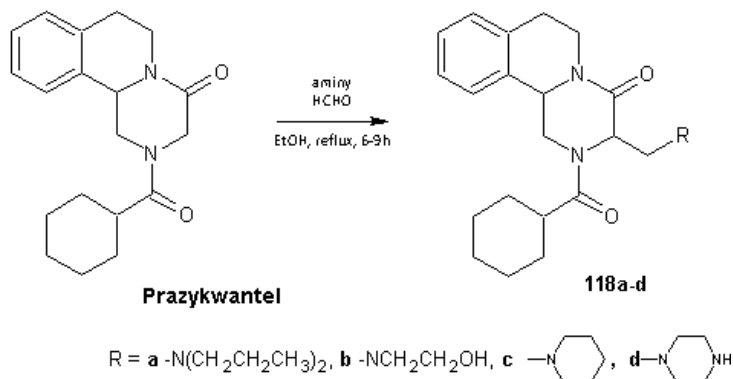
Wisnagina (**114**) jest furochromonem wyizolowanym z Aminka egipskiego (*Ammi visnaga*). Zasady Mannicha [32], pochodne wisnaginy, amin pierwszo-, drugorzędowych oraz formaldehydu (Schemat 24) wykazywały umiarkowaną aktywność w badaniach na afrykańskich zielonych małpach wobec wirusów *Herpes simplex I* (minimalne stężenie 0,01 mg/mL) oraz cytotoksyczność powodującą zanik ok 50% monowarstw komórek utworzonych wokół płytek wywołanych przez *Herpes simplex I* (CD₅₀ = 0,20 mg/mL).



Schemat 24. Synteza pochodnych benzofuranu
 Scheme 24. Synthesis of benzofuran derivatives

Aktywność przeciwoznaczca

Prazykwantel – lek przeciwoznaczca, został użyty jako substrat w syntezy zasad Mannicha (Schemat 25). Spodziewano się uzyskać związki o silniejszym działaniu przeciwoznaczczym i zmniejszonym nasileniu działań niepożądanych. Aktywność *in vitro* badano na gatunku przywry *Schistosoma mansoni* [33]. Związki **118a** i **b** według autorów mogą być obiecującymi lekami przeciwoznaczczymi, zarówno same jak i w połączeniu z Prazykwantelem. Obecnie trwają dalsze badania *in vivo*, na zwierzętach zarażonych *Schistosoma mansoni*.

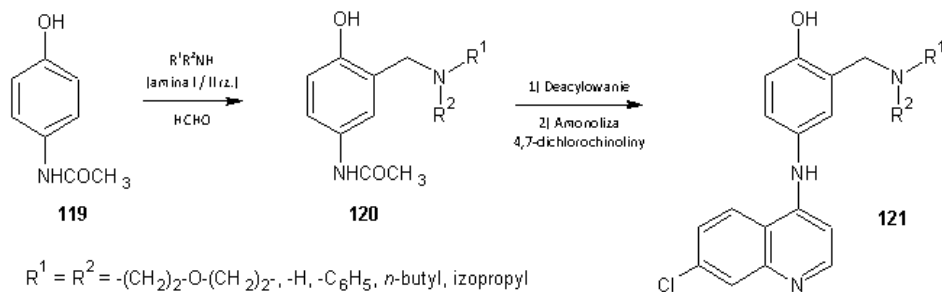


Schemat 25. Synteza pochodnych Praziquantelu

Scheme 25. Synthesis of Praziquantel derivatives

Aktywność przeciwmalaryczna

Serię zasad Mannicha (Schemat 26), pochodnych chinoliny **121**, otrzymali Singh i in. [34]. Zostały one przebadane *in vitro* i *in vivo* na aktywność antymalaryczną przeciwko opornym na chlorochinę szczepom *Plasmodium falciparum* i *Plasmodium yoelii*. Najwyższą aktywność w testach *in vitro* i *in vivo*, w dawce 500 mg/kg, wykazał związek **121** z podstawnikiem morfolinometylowym.

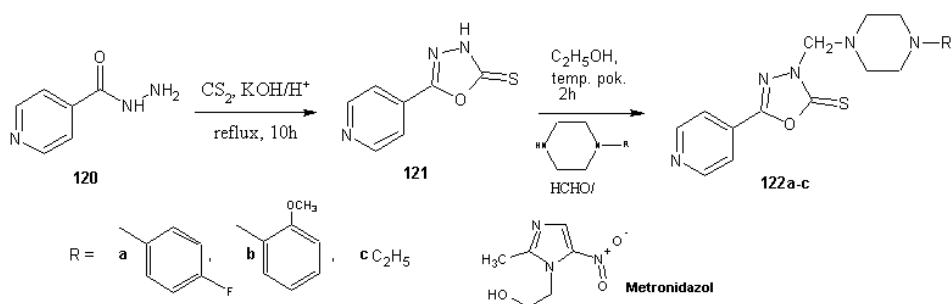


Schemat 26. Synteza pochodnych 4-anilinochinoliny

Scheme 26. Synthesis of 4-anilinoquinoline derivatives

Aktywność przeciwpierwotniakowa

Pochodne 2-tiokso-3H-5-(pirydyn-4-ylo)-1,3,4-oksodiazolu zawierające w pozycji 3 podstawniki piperazynometylowe **122a-c** (Schemat 27) były skuteczniejsze *in vitro* przeciw pierwotniakowi *Entamoeba histolytica*, w porównaniu z Metronidazolem, lekiem referencyjnym [35]. Dodatkowo związki wykazały cytotoksyczność ($\text{IC}_{50} = 2,5\text{--}250 \mu\text{M}$) wobec linii ludzkiego raka piersi MCF-7.

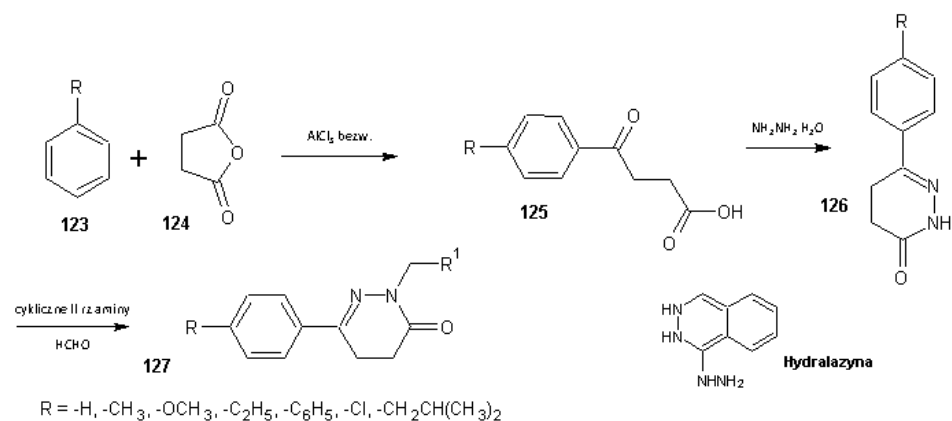


Schemat 27. Synteza pochodnych 2-tiokso-1,3,4-oksadiazolu

Scheme 27. Synthesis of 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole derivatives

Aktywność hipotensyjna

Indyjscy naukowcy [36] otrzymali zasady Mannicha, pochodne pirydazyn-3(2H)-onu w reakcji 6-fenylpodstawionego – 4,5-dihydropirydazyn-3-onu z II-rzędowymi aminami i formaldehydem (Schemat 28). Były one testowane na aktywność hipotensyjną przy użyciu nieinwazyjnej metody pomiaru ciśnienia tętniczego u myszy metodą Tail Cuff. Związkiem referencyjnym w testach była Hydralazyna (MAP = $96,16 \pm 4,70$). Najwyższą aktywność hipotensyjną wykazały związki **127** zawierające w pozycji 2 podstawniki: piperazyno-, N-fenotiazyno-, N-(1,2,4-triazolo-), morfolino-, N-metylopiperazyno- oraz pirolidynometylowe. Obecność grupy metylowej czy etylowej w pozycji 6 pierścienia fenylowego w związku **127** wpływała na obniżenie ciśnienia.

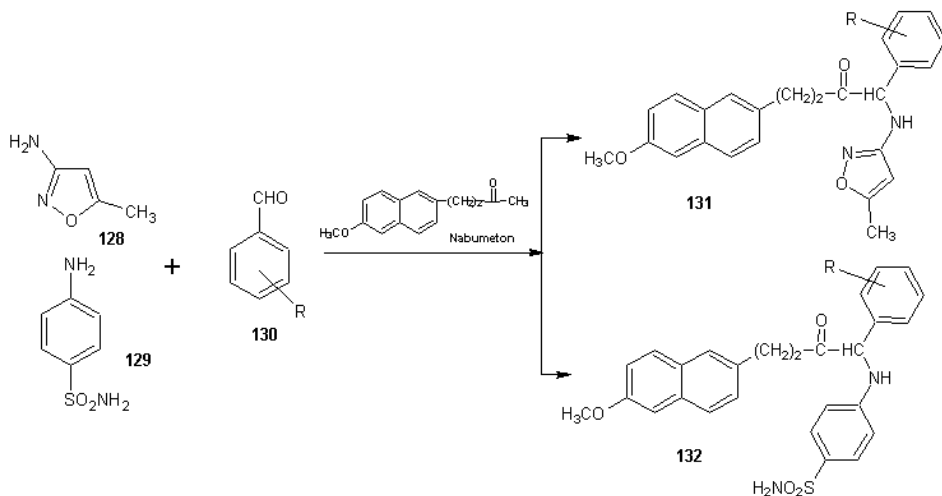


Schemat 28. Synteza pochodnych pirydazonu

Scheme 28. Synthesis of pyridazone derivatives

Aktywność przeciwcukrzycowa

Wong i in. [37] otrzymali w reakcji „one pot” zasady Mannicha, zawierające w swojej strukturze cząsteczkę Nabumetonu – leku przeciwzapalnego i przeciwbólowego (Schemat 29). Otrzymane związki **131**, **132** wykazywały aktywność przeciwcukrzycową. Miały zdolność aktywacji receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksosomów (PPAR) oraz były inhibitorami alfa-glukozydazy jelitowej. Według autorów związki te mogą być potencjalnymi lekami w leczeniu cukrzycy typu II.



Schemat 29. Synteza pochodnych β -amino ketonów zawierających cząsteczkę Nabumetonu
 Scheme 29. Synthesis of β -amino ketone containing Nabumetone moiety

PODSUMOWANIE

W artykule przedstawiono na 29 schematach syntezy oraz aktywność biologiczną wybranych zasad Mannicha – pochodnych różnych układów heterocyklicznych, zaprezentowanych w 35 opublikowanych pracach. Opisane związki wykazywały w testach biologicznych m.in. aktywność: przeciwnowotworową *in vitro*, antyoksydacyjną, przeciwpadaczkową, przeciwbólową i przeciwzapalną i inną, wobec stosowane leki.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Nowicka, H. Liszkiewicz, W.P. Nawrocka, *Wiad. Chem.*, 2014, **3-4**, 161.
- [2] S.A. Shahzad, M. Yar, M. Bajda, B. Jadoon, Z.A. Khan, S.A.R. Naqvi, A.J. Shaikh, K. Hayat, A. Mahmmud, N. Mahmood, S. Filipek, *Bioorg. Med. Chem.*, 2014, **22**, 1008.
- [3] S. Ackland, G. Peters, *Drug Resist Updat.* 1999, **2**, 205.
- [4] Y.J. Zhao, W. Wei, Z.G. Su, G.H. Ma, *Int. J. Pharm.*, 2009, **379**, 90.
- [5] V.R. Solomon, C. Hu, H. Lee, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 1563.
- [6] A.Y. Shaw, C.Y. Chang, M.Y. Hsu, P.J. Lu, C.N. Yang, H.L. Chen, C.W. Lo, C.W. Shiau, M.K. Chern, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 2860.
- [7] A.T. Taher, N.A. Khalil, E.M. Ahmed, *Arch. Pharm. Res.*, 2011, **34**, 1615.
- [8] A. Chaundhary, P.P. Sharma, G. Bhardwaj, V. Jain, P.V. Bharatam, B. Shrivastav, R.K. Roy, *Med. Chem. Res.*, 2013, **22**, 5654.
- [9] D. Sunil, A.M. Isloor, P. Shetty, B. Chandrakantha, K. Satyamoorthy, *Med. Chem. Res.*, 2011, **20**, 1024.
- [10] R.M. Kumbhare, K.V. Kumar, M.J. Ramaiah, T. Dadmal, S.N.C.V.L. Pushpavalli, D. Mukhopadhyay, B. Divya, T.A. Devi, U. Kosurkar, M. Pal-Bhadra, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 4258.
- [11] G. Hu, G. Wang, N. Duan, X. Wen, T. Cao, S. Xie, W. Huang, *Acta. Pharm. Sinc. B*, 2012, **2**, 312.
- [12] F.P.G. Euzebio, F.J.L. dos Santos, D. Pilo-Veloso, A.F.C. Alcantara, A.L.T.G. Ruiz, J.E. de Carvalho, M.A. Foglio, D.L. Ferreira-Alves, A. de Fatima, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 8172.
- [13] G Bartosz, *Druga twarz tlenu*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2008.
- [14] L. Ma, Y. Xiao, C. Li, Z.L. Xie, D.D. Li, Y.T. Wang, H.T. Ma, H.L. Zhu, M.H. Wang, Y.H. Ye, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, **21**, 6763.
- [15] N.G. Li, S.L. Song, M.Z. Shen, Y.P. Tang, Z.H. Shi, H. Tang, Q.P. Shi, Y.F. Fu, J.A. Duan, *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, **20**, 6919.
- [16] R.V. Satyendra, K.A. Vishnumurthy, H.M. Vagdevi, K.P. Rajesh, H. Manjunatha, A. Shruthi, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 3078.
- [17] J. Obniska, K. Kamiński, *Acta Pol. Pharm.*, 2006, **63**, 101.
- [18] J. Obniska, I. Chlebek, J. Pichór, M. Kopytko, K. Kamiński, *Acta Pol. Pharm.*, 2009, **66**, 639.
- [19] J. Obniska, K. Kamiński, I. Chlebek, *Acta Pol. Pharm.*, 2009, **66**, 663.
- [20] J. Obniska, H. Byrtus, K. Kamiński, M. Pawłowski, M. Szczesio, J. Karolak-Wojciechowska, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 6134.
- [21] H. Byrtus, J. Obniska, A. Czopek, K. Kamiński, M. Pawłowski, *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, **19**, 6149.
- [22] J. Obniska, S. Rzepka, K. Kamiński, *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, **20**, 4872.
- [23] K. Kamiński, J. Obniska, I. Chlebek, B. Wiklik, S. Rzepka, *Bioorg. Med. Chem.*, 2013, **21**, 6821.
- [24] K. Kamiński, J. Obniska, I. Chlebek, P. Liana, E. Pękala, *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **66**, 12.
- [25] A.A. Kulkarni, S.B. Wankhede, N.D. Dhawale, P.B. Ydav, V.V. Deore, I.D. Gonjari, *Arabian J. Chem.*, 2013 (in press).
- [26] K. Wiglusz, L. Trynda-Lemiesz, *Postępy farmacji*, 2011, **1**, 20.
- [27] A.A. Radwan, K.E.H. elTahir, *Arch. Pharm. Res.*, 2013, **36**, 553.
- [28] E.P. Jesudason, S.K. Sridhar, E.J.P. Malar, P. Shanmugapandiyam, M. Inayathullah, V. Arul, D. Selvaraj, R. Jayakumar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 2307.
- [29] K. Manjunatha, B. Poojary, P.L. Lobo, J. Fernandes, N.S. Kumari, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 5225.
- [30] Nithinchandra, B. Kalluraya, S. Aamir, A.R. Shabaraya, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **54**, 597.
- [31] J. Gowda, A.M.A. Khader, B. Kalluraya, P. Shree, A.R. Shabaraya, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 4100.

- [32] O.M. Abdelhafez, N.A. Abedelatif, F.A. Badria, Arch. Pharm. Res., 2011, **34**, 1623.
- [33] M.M. Kamel, M.M. Anwar, A.M. Soliman, H.F. Abdel-Hamid, Res. Chem. Intermed, 2013, **39**, 3417.
- [34] B. Singh, D.Chetia, S.K. Puri, K. Srivastava, A. Prakash, Med.Chem. Res., 2011, **20**, 1523.
- [35] S.M. Siddiqui, A. Salahuddin, A. Azam, Med. Chem. Res., 2013, **22**, 1313.
- [36] A.A. Siddiqui, R. Mishra, M. Shaharyar, Eur. J. Med. Chem., 2010, **45**, 2283.
- [37] H. Wang, J. Yan, X. Song, L. Fan, J. Xu, G. Zhou, L. Jiang, D. Yang, Bioorg. Med. Chem., 2012, **20**, 2119.

Praca wpłynęła do Redakcji 21 października 2014

**ENANCJOSELEKTYWNA ENZYMATYCZNA
DESYMETRYZACJA KATALIZOWANA
OKSYDOREDUKTAZAMI.
REAKCJE REDUKCJI. CZĘŚĆ II**

**ENANTIOSELECTIVE ENZYMATIC
DESYMMETRIZATION CATALYZED
BY OXIDOREDUCTASES.
REDUCTION REACTIONS. PART II**

**Renata Kołodziejka^{*1},
Aleksandra Karczmarzka-Wódzka^{*1},
Agnieszka Tafelska-Kaczmarek², Renata Studzińska³,
Marcin Wróblewski¹, Beata Augustyńska¹**

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

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

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

**e-mail: Renatakol@poczta.fm, *e-mail: akar@cm.umk.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Enzymatyczna desymetryzacja ketoestrów
2. Asymetryczna redukcja prochiralnych poliketonów
3. Enzymatyczna redukcja ketonitryli
4. Bioredukcja wiązania podwójnego

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



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



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



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



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



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



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

ABSTRACT

Biotransformation reactions of many organic compounds under the influence of enzymes take place with the high selectivity, rarely achieved by other methods. Ketoesters represent an extensive group of selectively bioreduced compounds. Chiral hydroxyesters and, subsequently, hydroxyacids are valuable intermediates in the syntheses of various biologically active compounds. Acyclic α - and β -ketoesters are transformed to the corresponding (*R*)- and (*S*)-hydroxyesters by using a specific dehydrogenases. The whole-cells enzymes, e.g. baker's yeast, may exhibit a different catalytic activity depending on the substrate structure. Baker's yeast enzymes selectively reduce the cyclic β -ketoesters providing mainly anti diastereomers due to the lack of rotation around the single α,β carbon-carbon bond. The enzymatic reduction of the esters, cyclopentanone, and cyclohexanone derivatives gave the optically active anti-alcohol enantiomers. The reductive EED of prochiral α -ketoesters, as well as β -ketoesters is an interesting transformation in organic chemistry due to the importance of the resulting chiral α -hydroxy acids and their derivatives used as building blocks. Baker's yeast-catalyzed reduction of alkyl esters derived from pyruvate and benzoylformate allows the preparation of the (*R*)-alcohols.

Polyketones can also be subjected to the reductive EED to give different compounds bearing the quaternary stereogenic centers which are broadly applied in asymmetric synthesis. In asymmetric synthesis, similarly to carbon-oxygen double bonds, carbon-carbon double bonds of prochiral alkanes can be reduced to obtain the optically active saturated compounds. The reduction of alkenes is catalyzed by both, the whole cells (microorganisms, plant cells) as well as isolated enzymes belonging to the oxydoreductases, so-called ene-reductases. The whole-cell catalysts are suitable, most frequently, for the preparative scale syntheses, but they are less chemoselective in comparison to the isolated reductases. In the case of polyfunctionalized alkenes, microorganisms can cause the additional side reaction reducing the desired product yield.

Keywords: asymmetric reduction, biocatalysis, enzymes

Słowa kluczowe: redukcja asymetryczna, biokataliza, enzymy

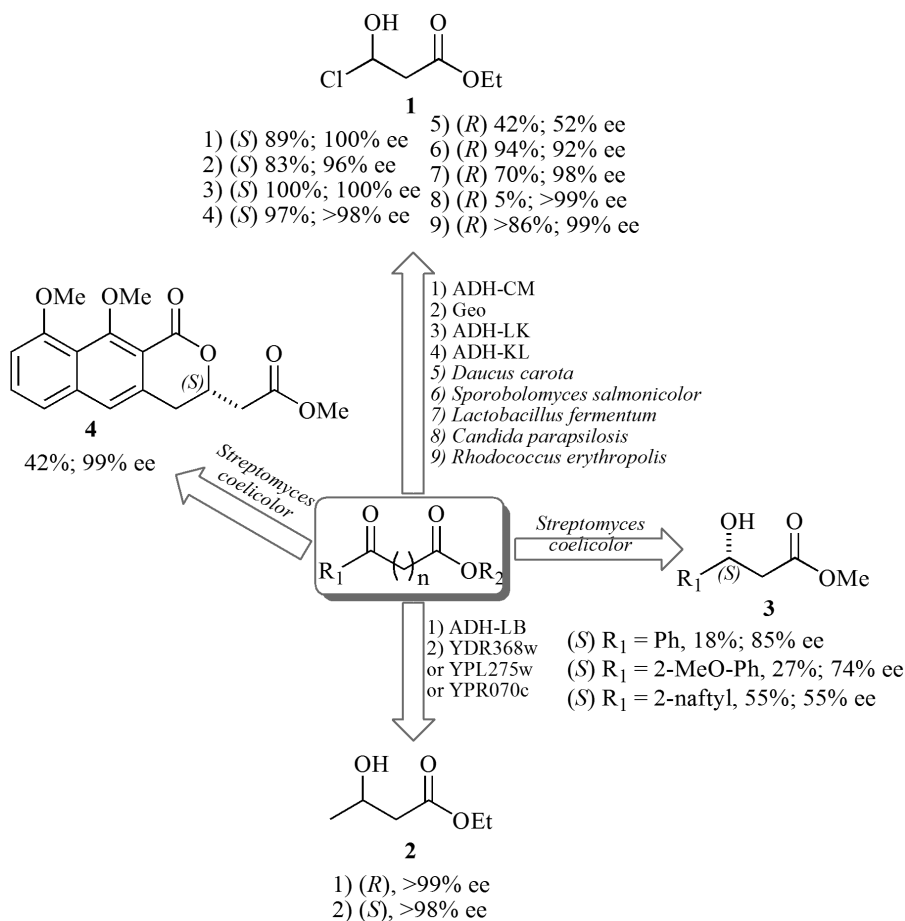
WPROWADZENIE

Stosowanie komórek mikroorganizmów jest metodą dobrze znaną w biokatalitycznej syntezie organicznej. Ostatnie lata wykazały znaczny rozwój procesów biotechnologicznych, w których enzymy wykorzystywane są na skalę przemysłową, między innymi w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, chemicznym, tekstylnym, a także do oczyszczania ścieków. Nic więc dziwnego, że znalazły zastosowanie również w laboratoriach chemicznych. Biotransformacje zachodzące pod wpływem enzymów umożliwiają przemianę wielu związków organicznych z selektywnością rzadko osiąganą innymi sposobami. Szczególne znaczenie w syntezie organicznej mają asymetryczne reakcje enzymatyczne. Biokatalizator przekształca związki achiralne w optycznie czynne o wysokiej czystości diastereo- lub enancjomerycznej. Jednym z typów reakcji selektywnie katalizowanej przez katalizatory białkowe jest reakcja redukcji. W niniejszym opracowaniu szczegółowo omówiono aspekty dotyczące reakcji redukcji prochiralnych ketoestrów, poliketonów, ketonitryli oraz związków nienasyconych z podwójnym wiązaniem.

1. ENZYMATYCZNA DESYMETRYZACJA KETOESTRÓW

Ketoestry stanowią istotną grupę związków selektywnie bioredukowanych. W wyniku enzymatycznych i chemicznych reakcji otrzymuje się hydroksykwas, które stanowią cenne półsyntetyki w syntezie ważnych związków biologicznie czynnych. Acykliczne α - lub β -ketoestry mogą być selektywnie przekształcane do odpowiednich hydroksyestrów o konfiguracji (*R*) lub (*S*) przez specyficzne dehydrogenazy. Dehydrogenazy znajdujące się w całych komórkach, na przykład w drożdżach, wykazują zróżnicowaną aktywność katalityczną w zależności od budowy substratu. W większości przypadków, w drożdżach piekarskich *D*-enzym (enzym specyficzny dla substratów o konfiguracji (*R*)) wykazuje zwiększoną aktywność w stosunku do β -ketoestrów zawierających krótkołańcuchowe reszty acylowe. Natomiast *L*-dehydrogenaza ((*S*)-dehydrogenaza) chętniej przekształca β -ketoestry o długich łańcuchach. W reakcji mikrobiologicznej redukcji, katalizowanej drożdżami piekarskimi β -ketoestru, pochodnego kwasu 4-chlorobutanowego, ester etylowy był redukowany do *D*-produktu (enancjomer (*S*)), podczas gdy jego długołańcuchowy analog zawierający resztę *n*-heksylową do *L*-enancjomeru (enancjomer (*R*)). W jednym i drugim przypadku uzyskano umiarkowany nadmiar enancjomeryczny (Schemat 1, 1). Konkurencyjne działanie enzymów obniża stereoselektywność reakcji. Dodatek substancji inhibującej konkretną oksyreduktazę umożliwia otrzymanie produktu o wyższej czystości optycznej. Poprawę selektywności, na przykład, uzyskuje się przez zastosowanie alkoholu allilowego, który selektywnie inhibuje jedną z dehydrogenaz. Otrzymano produkt o konfiguracji *D* z 85% nadmiarem enancjomerycznym. Bez obecności alkoholu allilowego czystość optyczna produktu wynosiła tylko 43% ee. Dehydrogenazy z innych mikroorganizmów umożliwiają również

selektywną redukcję estru etylowego kwasu 4-chloro-3-oksobutanowego w obecności *Candida magnoliae* [1], *Geotrichum candidum* SC5469 [2], *Lactobacillus kefir* [3], *Kluyveromyces lactis* [4] oraz dehydrogenazy glukozy (GDH) z *Bacillus megaterium* jako katalizatora otrzymuje się czysty optycznie hydroksyester o konfiguracji (S).



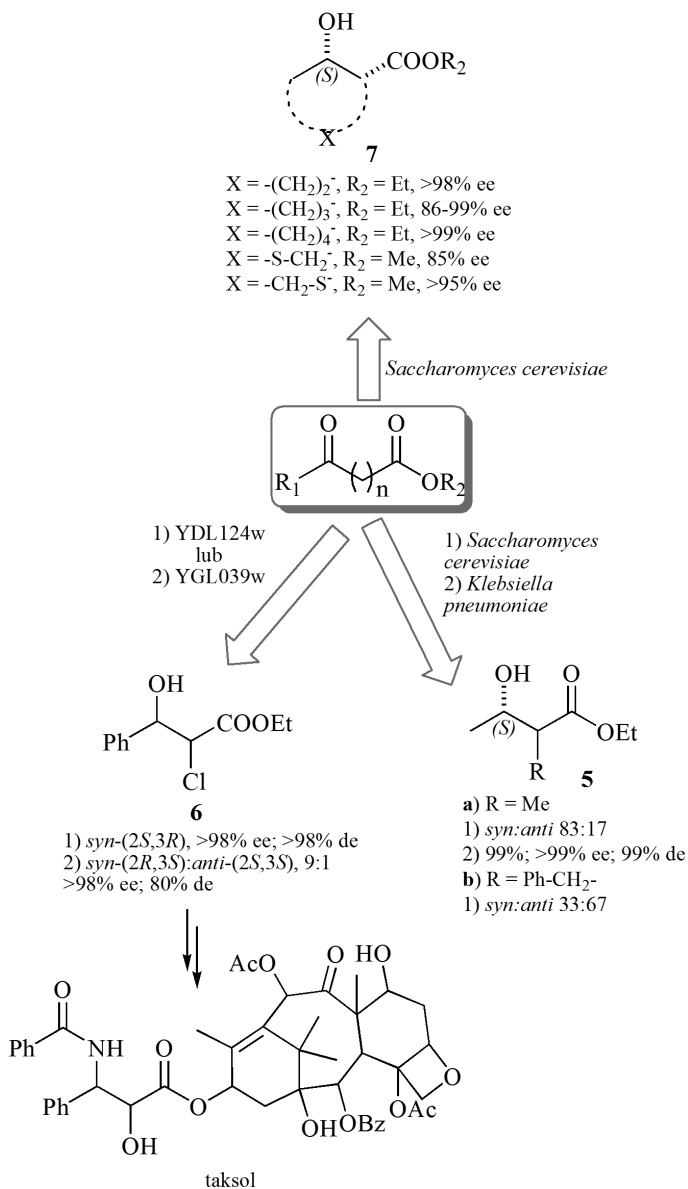
Schemat 1. Enzymatyczna redukcja acyklicznych ketoestrów
 Scheme 1. Enzymatic reduction of acyclic ketoesters

Zastosowane takich komórek jak na przykład: *Daucus carota* [5], *Sporobolomyces salmonicolor* [6], *Lactobacillus fermentum* [3], *Candida parapsilosis* [7], a także reduktazy karbonylowej z *Rhodococcus erythropolis* [8] i reduktazy fenyloacetaldehydowej szczepu *Corynebacterium* ST-10 [9] daje enancjomer o konfiguracji (R). Kwas 4-chloro-3-hydroksybutanowy oraz jego analogii mają zastosowanie jako bloki budulcowe do syntezy środków farmaceutycznych (np. chlorowodoru L-karnityny) oraz do syntezy inhibitora reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-

-koenzymu A [10–12]. W wyniku bioredukcji z użyciem enzymów z *Lactobacillus brevis* oraz z drożdży YDR 389w, YPL 275w, YPR070c uzyskano również enancjomerycznie czyste (*R*)- i (*S*)-hydroksyestry pochodne kwasu butanowego (Schemat 1, 2). Zastosowanie syntazy poliketydowej ze *Streptomyces coelicolor* A3(2) (CH999) do redukcji β -ketotioestrów umożliwia otrzymanie β -hydroksykwasów o konfiguracji (*S*), które następnie przekształcane są w estry w celu łatwiejszego rozdzielenia mieszaniny poreakcyjnej (Schemat 1, 3). W przypadku reakcji redukcji ketodiestru produktem końcowym był (*S*)-lakton (Schemat 1, 4) [13].

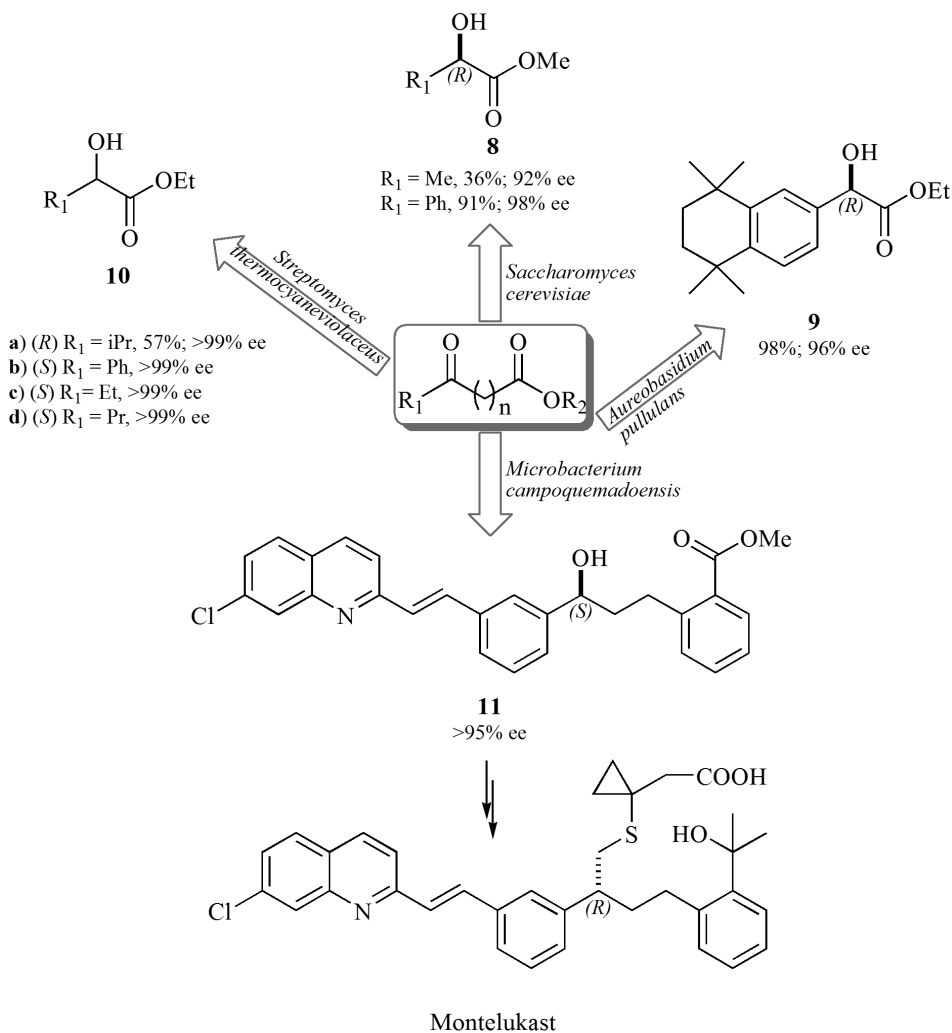
β -Ketoestry zawierające w pozycji α dodatkowe centrum stereogeniczne są mało stabilne stereochemicznie, z powodu możliwego procesu enolizacji *in situ*, prowadzącego do racemizacji wyjściowych reagentów, dlatego czystość optyczna uzyskanych produktów z reguły nie jest zbyt duża. Redukcja mikrobiologiczna w obecności drożdży piekarskich umożliwia otrzymanie dodatkowego chiralnego atomu węgla w α -podstawionych β -ketoestrach prowadząc do diastereoizomerycznych produktów *syn* i *anti*. Przewaga jednego z diastereoizomerów jest w głównym stopniu determinowana wielkością podstawnika w pozycji α . Jeśli podstawnik w pozycji α jest mały objętościowo to preferencyjnie powstaje *syn*-izomer. Obecność podstawnika większego objętościowo powoduje zmianę stereoselektywności reakcji i w przewadze powstaje diastereoizomer *anti*. W reakcji redukcji drożdżami estru etylowego kwasu 2-metylo-3-oksobutanowego otrzymano diastereoizomery *syn* i *anti* w stosunku 83:17, natomiast w reakcji z estrem etylowym kwasu 2-benzyl-3-oksobutanowego uzyskano w przewadze *anti*-izomer. W tym przypadku stosunek izomerów *syn*:*anti* wynosił 33:67 (Schemat 2, 5a przykład 1) i 5b) [14, 15]. W obecności *Klebsiella pneumoniae* IFO 3319 ester etylowy kwasu 2-metylo-3-oksobutanowego jest również selektywnie redukowany do (2*R*,3*S*)-hydroksyestru z wysokim nadmiarem enancjo- i diastereoizomerycznym (Schemat 2, 5a przykład 2)). Konfiguracja absolutna przy 3 atomie węgla jest podyktowana stereoselektywnością zastosowanego biokatalizatora. W przypadku drożdży piekarskich oraz *Klebsiella pneumoniae* IFO 3319 uzyskuje się izomer 3-(*S*). Jeśli α -podstawnik w β -ketoestrach ma charakter elektronoakceptorowy to racemizacja *in situ* nie ma miejsca ponieważ nie tworzy się enolowa forma przejściowa. W konsekwencji uzyskuje się wysoką czystość diastereoizomeryczną produktów. Przykładem jest redukcja α -chloro- β -ketoestru, który selektywnie, w zależności od zastosowanego enzymu wyizolowanego z drożdży piekarskich ulega przekształceniu do jednego z enancjomeru (*R*) lub (*S*) z wysokim nadmiarem diastereoizomerycznym. W obecności reduktazy aldozowej YDL124w otrzymuje się *syn*-(2*S*,3*R*)-hydroksyester, natomiast zastosowanie krótkołańcuchowej dehydrogenazy YGL039w daje mieszaninę dwóch diastereoizomerów *syn*-(2*R*,3*S*)- i *anti*-(2*S*,3*S*)-alkoholi w stosunku 9:1 (Schemat 2, 6). Oba izomery są prekursorami w syntezie taksolu, leku o działaniu cytostatycznym stosowanym przy leczeniu nowotworów [16]. Cykliczne ketoestry, w obecności drożdży piekarskich, są selektywnie przekształcane głównie do diastereoizomerów *anti*, ponieważ nie ma możliwości rotacji wokół pojedynczego α , β wiązania C-C. Z tego powodu redukcja estrów pochodnych cyklopentanonu lub cykloheksanonu prowadzi do optycznie

czystych izomerów anti (Schemat 2, 7) [17]. Podobnie *cis*-(1*R*,2*S*)-alkohol uzyskano w selektywnej reakcji redukcji estru etylowego kwasu 2-oksocykloheptanokarbonylowego z zastosowaniem wyizolowanych enzymów YDR368w i YGL039w [18].



Schemat 2. Mikrobiologiczna redukcja α -podstawionych β -ketoestrów

Scheme 2. Microbial reduction of α -substituted β -ketoesters



Schemat 3. Reakcje redukcji ketoestrów wobec różnych enzymów

Scheme 3. Reduction reactions of ketoesters with various enzymes

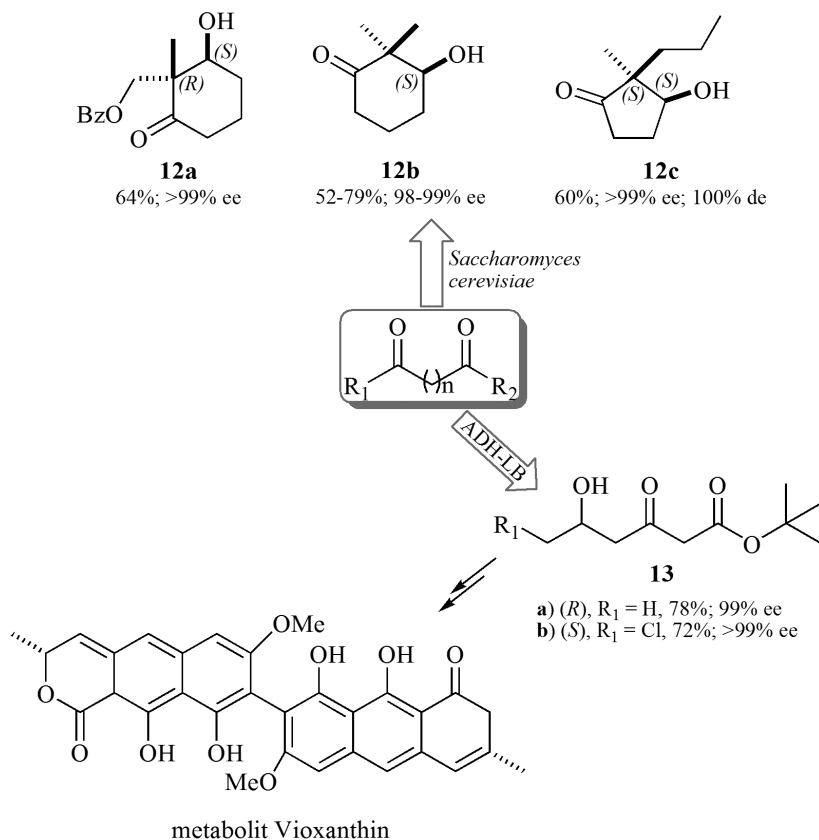
Mikroorganizmy jak również izolowane enzymy mogą być skutecznymi biokatalizatorami α -oksoestrów. Redukcja alkilowych α -ketoestrów kwasu pirogronowego i benzoilomrówczanu w obecności drożdży piekarskich umożliwia otrzymanie preferencyjnie (*R*)-alkoholi (Schemat 3, 8). Czystość optyczną uzyskanych produktów zwiększono przez dodanie ketonu metyloowo-winylowego, inhibitora dehydrogenaz o innej stereopreferencji [19]. Reakcja redukcji innego α -ketoestru z dużą zawadą przestrzenną w obecności *Aureobasidium pullulans* SC 13849 prowadzi do otrzymania chiralnego hydroksyestru o konfiguracji (*R*) z wysoką wydajnością zarówno chemiczną jak i optyczną (Schemat 3, 9) [20]. Związek ten ma zastosowa-

nie w syntezie kwasu retinowego, agonisty gamma receptorów. Można go otrzymać w bezpośredni sposób w wyniku bioredukcji w obecności *Candida maltosa* SC 16112 i dwóch szczepów *Candida utilis* (SC 13983, SC 13984). Ester etylowy kwasu 3-metylo-2-oksobutanowego i benzoilomrówczan etylu są dobrymi substratami w enzymatycznej reakcji desymetryzacji katalizowanej ciepłolubnym mikroorganizmem z *Streptomyces thermocyaneviolaceus* IFO 14271. Otrzymane α -hydroksyestry charakteryzowały się wysoką czystością optyczną (Schemat 3, **10a,b**). Jeśli jednak w obecności tego samego katalizatora zredukowano estry etylowe kwasu 2-oksobutanowego i 2-oksopenatnowego to uzyskano enancjomery o konfiguracji przeciwnej z niezbyt jednak wysokim nadmiarem enancjomerycznym. Selektywność redukcji wzrosła, gdy do układu reakcyjnego dodano kwas asparaginowy (Schemat 3, **10c,d**). Natomiast dodatek kwasu glutaminowego do estru etylowego kwasu 3-metylo-2-oksobutanowego i benzoilomrówczanu etylu umożliwia otrzymanie enancjomerów o konfiguracji przeciwnej w porównaniu z reakcją bez substancji dodatkowej (enancjomery (S)) [21]. Ciekawym przykładem wykorzystania mikrobiologicznej redukcji w farmakologii jest reakcja otrzymania estru metylowego kwasu (S)-E-2-{3-[3-[2-(7-chloro-2-chinolinyl)etenyl]-fenylo]-3-hydroksypropyl}benzoowego (Schemat 3, **11**) [22]. Jest to kluczowy związek przejściowy w syntezie przeciwastmatycznego i przeciwalergicznego leku o nazwie Montelukast. Związek ten został otrzymany przez bioredukcję odpowiedniego ketoestru w obecności *Microbacterium campoquemaensis* (MB5614) lub *Mucor hiemalis*.

2. ASYMETRYCZNA REDUKCJA PROCHIRALNYCH POLIKETONÓW

Związki poliketonowe również ulegają asymetrycznej reakcji bioredukcji. W wyniku enancjoselektywnej enzymatycznej desymetryzacji (EED) z prochiralnych poliketonów otrzymuje się związki z czwartorzędowymi centrami stereogenicznymi, które znalazły zastosowanie w syntezie asymetrycznej. Za pomocą drożdży piekarskich możliwa jest redukcja α - i β -diketonów. W przypadku β -diketonów mikrobiologiczna redukcja prowadzi głównie do hydroksyketonów, podczas gdy α -diketony, w zależności od warunków reakcji, mogą redukować się do monohydroksylowych pochodnych oraz do dioli. Jeśli drożdżami piekarskimi redukowane są cykliczne β -diketony ważne jest, aby kwasowe protony znajdujące się przy atomie węgla α były podstawione, gdyż zapobiega to racemizacji produktu. Na przykład w obecności drożdży piekarskich selektywnie zredukowano 2,2-dipodstawione cykloalkanodiony; 2-benzyloksymetylo-2-metylocykloheksano-1,3-dionu, 2,2-dimetylocykloheksano-1,3-dionu oraz 2-propylo-2-metylocyklopentano-1,3-dionu do czystych optycznie 3-(S)-hydroksyketonów (Schemat 4, **12**) [23]. Chiralne hydroksyketony mogą stanowić materiał budulcowy w syntezie terpenów. β -Diketoester w reakcji redukcji katalizowanej dehydrogenazą alkoholową z *Lactobacillus brevis* (rec-ADH-LB) umożliwia otrzymanie δ -hydroksyketoestru o wysokiej czystości enancjomerycznej. Otrzymane produkty łatwo cyklizują do

δ -laktonów (Schemat 4, **13**) [24]. Lakton o konfiguracji (*R*) znalazł zastosowanie jako naturalny związek zapachowy [25], natomiast otrzymany w wyniku bioredukcji (*S*) enancjomer można wykorzystać jako związek wyjściowy do syntezy poliketonów: (–)-kallistatyny A, (–)-20-epi-kallistatyny A [26, 27], (*S*)-6-[(*Z*)-1-heptynylo]-5,6-dihydro-2H-piran-2-onu ((*S*)-argentilacton) i (*S*)-5,6-dihydro-6 α -[(*E*)-2-fenyloetenyl]-2H-piran-2-onu (*S*)-goniothalamin [28].



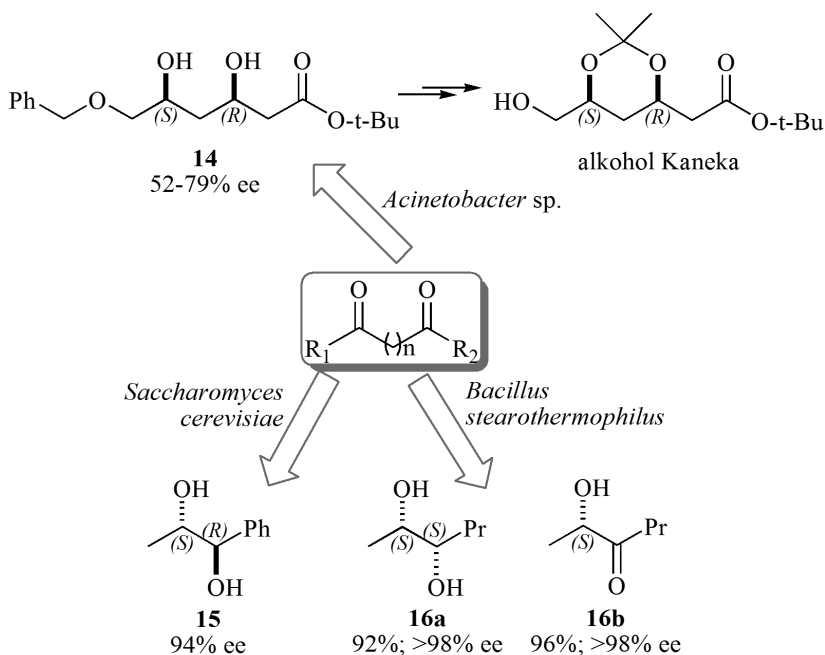
Schemat 4. EED prochiralnych poliketonów

Scheme 4. EED prochiral polyketones

Szczepy *Acinetobacter sp.* SC13874 zawierające ketoreduktazy stereoselektywnie redukują ester etylowy kwasu 3,5-dioksy-6-(benzyloksy)-heksanowego do odpowiedniego *syn*-diolu **14**. W zależności od zastosowanego szczepu otrzymano enancjomery o konfiguracji (*R*) lub (*S*) (Schemat 5, **14**) [29]. Z otrzymanego związku w kilku etapach syntetyzowano alkohol Kaneka, który jest prekursorem inhibitora reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A.

Inaczej jest w przypadku redukcji α -diketonów. Jest to metoda otrzymywania głównie dioli, szczególnie w reakcjach redukcji z zastosowaniem mikroorganizmów

jako katalizatorów. W pierwszym etapie, redukcji ulega ta grupa karbonylowa, która jest mniej osłonięta. Dalsze prowadzenie reakcji redukcji (redukowana jest zwykle grupa z większą zawadą przestrzenną) prowadzi do otrzymania odpowiedniego diolu w przewodzie o konfiguracji *anti*. W reakcji redukcji z zastosowaniem mikroorganizmów jako katalizatorów otrzymuje się głównie diole. Przykładem może być zastosowanie drożdży piekarskich w reakcji redukcji 1-fenylpropano-1,2-dionu, która prowadzi do otrzymania czystego enancjomerycznego diolu izomeru *anti* (Schemat 5, **15**) [30, 31]. Reakcja redukcji α -diketonów w obecności reduktazy z *Bacillus stearothermophilus*, w zależności od zastosowanych warunków, może prowadzić do diolu lub zatrzymać się na etapie hydroksyketonu. Jeśli w reakcji do regeneracji kofaktora jako źródło jonu wodorkowego zastosuje się endo-bicyklo[3.2.0]hept-2-en-6-ol to redukcji ulegają obie grupy karbonylowe, natomiast użycie dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej umożliwi otrzymanie hydroksyketonów z dobrą wydajnością i wysoką enancjoselektywnością (Schemat 5, **16a i b**) [32].

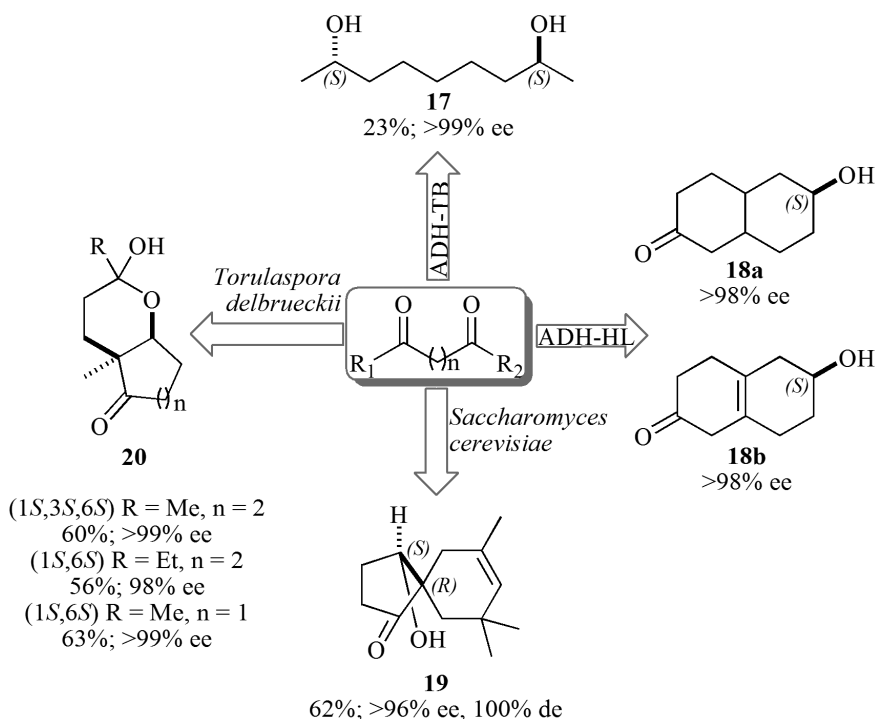


Schemat 5. Asymetryczna bioredukcja poliketonów

Scheme 5. Asymmetric bioreduction of polyketones

W enzymatycznej reakcji desymetryzacji z powodzeniem również redukuje się diketony, w których grupy karbonylowe są znacznie oddalone. W reakcji redukcji alifatycznego 2,8-nonandionu, w obecności dehydrogenazy alkoholowej z *T. brockii* otrzymano czysty enancjomeryczny diol w wyniku redukcji dwóch grup karbonylowych (Schemat 6, **17**) [33]. W zależności od zastosowanego katalizatora tylko jedna z dwóch grup ketonowych może być selektywnie redukowana. Dehydroge-

naza alkoholowa z wątroby końskiej (HLADH) preferencyjnie desymetryzuje bicykliczne diketony do hydroksyketonów. W reakcji z *cis*- i *trans*-dekalinedionów uzyskano enancjomer o konfiguracji (*S*) z wysokim nadmiarem enancjomerycznym. Podobnie w reakcji z nienasyconym diketonem, selektywnie redukowana była jedna grupa karbonylowa. Otrzymano nienasycony alkohol o tej samej konfiguracji absolutnej (Schemat 6, **18**) [34, 35]. Zastosowanie drożdży piekarskich jako katalizatorów umożliwia selektywną redukcję spirodionu do odpowiednich hydroksyketonów z doskonałym nadmiarem enancjo- i diastereoizomerycznym (Schemat 6, **19**) [36]. Pochodne triketonów w obecności drożdży z *Torulaspora delbrueckii* IFO10921 selektywnie zredukowano do czystych optycznie hydroksydiketonów, które spontanicznie w środowisku reakcji cyklizowały do bicyklicznych (1*S*,6*S*)-acetalu z wysoką wydajnością chemiczną i optyczną (Schemat 6, **20**) [37, 38].

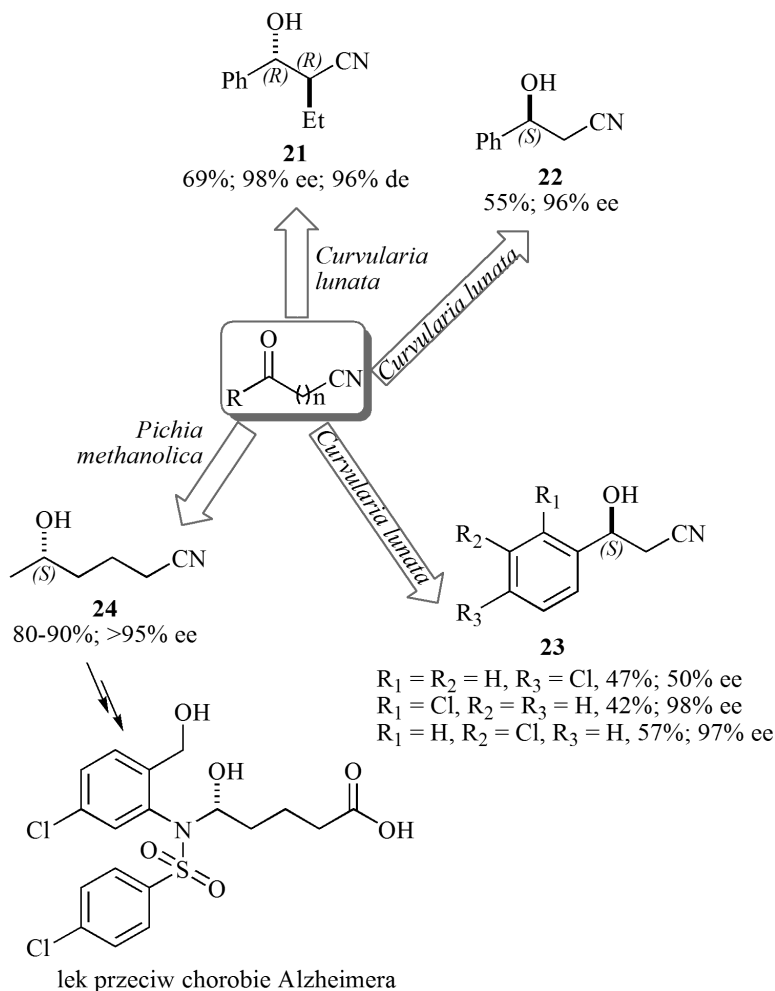


Schemat 6. Desymetryzacja prochiralnych poliketonów
 Scheme 6. Desymmetrization of prochiral poliketones

3. ENZYMATYCZNA REDUKCJA KETONITRYLI

Alifatyczne i aromatyczne ketonitryle redukowano w reakcji katalizowanej *Curvularia lunata* CECT 2130. W zależności od zastosowanego rozpuszczalnika, uzyskano czyste optycznie produkty. Stosując etanol otrzymano głównie (2*R*,1'*R*)-

α -alkilo- β -hydroksynitryle z wysokim nadmiarem diastereo- i enancjomerycznym (Schemat 7, **21**) [39, 40]. Natomiast w obecności metanolu redukcja grupy karbonylowej umożliwiła uzyskanie (*S*)-hydroksynitryli (Schemat 7, **22**) [41].



Schemat 7. Enancjoselektywna redukcja ketonitryli
 Scheme 7. Enantioselective reduction of ketonitriles

Z tego wynika, że biokatalizator *Curvularia lunata* CECT 2130 jest bardzo uniwersalny i w zależności od warunków reakcji umożliwia otrzymanie całej gamy różnych alifatycznych i aromatycznych hydroksynitryli o określonej konfiguracji absolutnej. W aromatycznych ketonitrylach na enancjoselektywność reakcji redukcji ma wpływ również położenie podstawnika w reszcie arylovej. Jeśli podstawnik znajduje się w pozycji 1,4- uzyskuje się produkty z mniejszym nadmiarem enancjomerycz-

nym, szczególnie gdy jest to podstawnik wyciągający elektrony, na przykład chlor. Natomiast obecność podstawnika w pozycji 1,3- i 1,2-, nawet jeśli podstawnik ma charakter elektronoakceptorowy, nie wpływa na pogorszenie selektywności reakcji. W każdym z tych przypadków, uzyskuje się czyste optycznie hydroksynitryle (Schemat 7, 23) [41]. (S)-5-Hydroksyheksanonitryl jest kluczowym związkiem pośrednim w syntezie leku przeciw chorobie Alzheimera (Schemat 7, 24) [42]. Związek ten otrzymano w wyniku enancjoselektywnej reakcji redukcji 5-oksoheksanonitrylu poprzez zastosowanie *Pichia methanolica* SC 16116 jako katalizatora. Reakcja przebiegała z dobrą wydajnością oraz bardzo dobrą enancjoselektywnością.

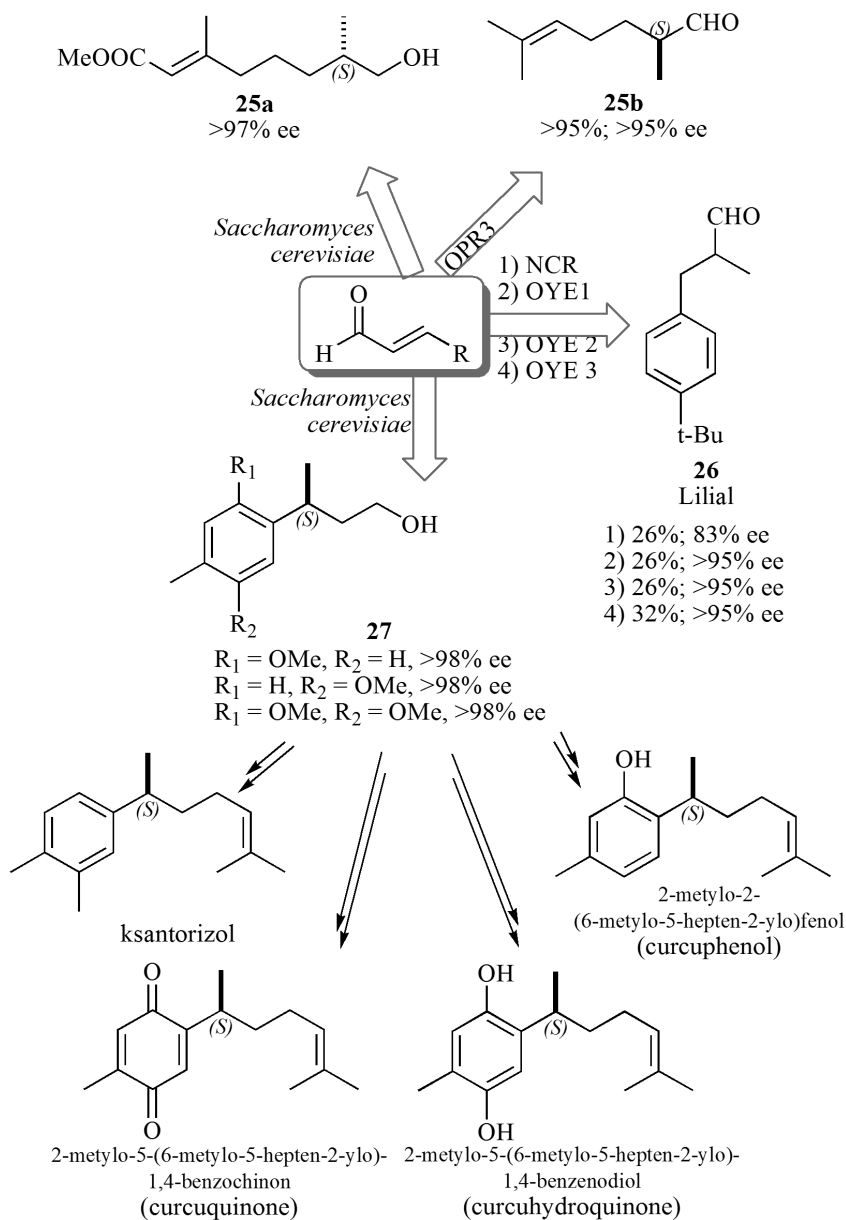
4. BIOREDUKCJA WIĄZANIA PODWÓJNEGO

W asymetrycznej syntezie, obok związków karbonylowych, redukowane są również nienasycone związki z podwójnym wiązaniem węgiel-węgiel. Wiązanie podwójne można zredukować stosując zarówno całe komórki (mikroorganizmy, komórki roślinne) oraz wyizolowane enzymy należące do oksydoreduktaz tzw. en-reduktazy (ERED). Zastosowanie całych komórek, sprawdza się szczególnie w syntezach na skalę preparatywną, jednak w porównaniu do wyizolowanych reduktaz preparaty enzymatyczne z mikroorganizmów są mniej chemoselektywne. W przypadku polifunkcyjnych alkenów, enzymy zawarte w mikroorganizmach mogą przeprowadzać dodatkowe reakcje uboczne, zmniejszając przy tym wydajność pożądanego produktu [43]. Przez długi czas jedynym wyizolowanym enzymem należącym do en-reduktaz stosowanym w bioredukcji była dehydrogenaza NADPH (Old Yellow Enzyme Flavoproteins, OYE EC 1.6.99.1) ekstrahowana z drożdży. Naturalną funkcją tego enzymu jest redukcja wiązania podwójnego w związkach karboksylowych. Na początku lat 80. podczas prac prowadzonych nad enzymem OYE i jego homologami, Simon i współpracownicy wyizolowali z bakterii beztlenowych z gatunku *Clostridium* (*C. kluyveri*, *C. tyrobutyricum*, i *C. sporogenes*) en-reduktazy (EC 1.3.1.31, ang. 2-enoate reductase), które również katalizują reakcję redukcji podwójnego wiązania węgiel-węgiel w α,β -nienasyconych anionach karboksylowych. Enzymy te należą do różnych podklas oksydoreduktaz. Pełnią jednak identyczną funkcję w syntezach organicznych, to jest selektywnie redukują wiązania C=C. Takie reduktazy z bakterii beztlenowych są wrażliwe na obecność tlenu atmosferycznego, dlatego też rzadziej są wykorzystywane w bioredukcjach [44]. Przyłączenie wodoru, w asymetrycznej reakcji redukcji, do wiązania C=C z użyciem en-reduktaz flawinozależnych odbywa się poprzez tzw. *trans*-addycję. Jon wodorkowy z kofaktora flawinowego jest stereoselektywnie przenoszony na atom węgla β , natomiast proton z rozpuszczalnika na atom węgla α z przeciwnej strony. Regeneracja kofaktora odbywa się przy udziale NAD(P)H, który staje się dawcą jonu wodorkowego. Taka stereoselektywna addycja wodoru w obecności en-reduktazy umożliwia otrzymanie produktów redukcji o wysokiej czystości enan-

cjo- lub diastereoselektywnej. EED alkenów jest możliwa, jeśli w zredukowanym związku znajdują się podstawniki elektronoakceptorowe (EWG), które zwiększają kwasowość atomu wodoru w pozycji α względem podstawnika. Mikroorganizmy, całe komórki roślinne, a przede wszystkim izolowane enzymy OYE z rodziny flavoprotein umożliwiają selektywną redukcję wiązania podwójnego w związkach zawierających dodatkowe grupy funkcyjne: karbonylowe, karboksylowe, estrowe, imidowe, nitylowe, nitrowe.

Jedną z grup substancji selektywnie redukowaną z zastosowaniem enzymów OYE są nienasycone związki karbonylowe. Redukcja nienasyconych aldehydów, w obecności mikroorganizmów, prowadzi najczęściej do nasyconych alkoholi pierwszorzędowych. W reakcji biotransformacji pochodnej cytralu, w obecności drożdży piekarskich, redukcji ulega wiązanie podwójne w pozycji α względem grupy karbonylowej, jak również grupa aldehydowa (Schemat 8, 25a). Dla porównania redukcja z zastosowaniem en-reduktazy OPR3 (reduktaza kwasu 12-oksofitodienowego pozyskiwana z *Lycopersicon esculentum*) przebiega całkowicie chemoselektywnie i uzyskuje się związek zapachowy cytronelal z wysoką chemiczną i optyczną wydajnością (Schemat 8, 25b) [45, 46]. Podobnie nienasycone aldehydy z wiązaniem podwójnym w położeniu α , pochodne aldehydu cynamonowego, z powodzeniem redukowano en-reduktazami, otrzymując nieracemiczne arylopodstawione aldehydy α -metylodihydrocynamonowe (Schemat 8, 26). Najlepsze wyniki uzyskano z zastosowaniem reduktazy z *Zymomonas mobilis* (NCR), i z drożdży OYE 1–3 (OYEs 1–3). Otrzymane związki znalazły zastosowanie w przemyśle perfumeryjnym (Lilial, Helional) [47]. β -Nienasycone aldehydy są również przekształcane w odpowiednie nasycone alkohole przez drożdże piekarskie. Na przykład redukcja aromatycznych propenali prowadzi do enancjomerycznie czystych pierwszorzędowych (*S*)-alkoholi (Schemat 8, 27). Otrzymane związki stanowią chiralne bloki budulcowe w syntezie bisabolenów (monocykliczne seskwiterpeny) [48].

Redukcja związków pochodnych metakroleiny w obecności drożdży piekarskich umożliwia uzyskanie nasyconych i nienasyconych alkoholi (Schemat 9, 28), które wykorzystuje się jako bifunkcyjne syntony. Stereochemia bioredukcji tego typu związków była uwarunkowana położeniem wiązania podwójnego, jak również stopniem utlenienia siarki. W obecności podstawnika PhS- w β -nienasyconych aldehydach, drożdże redukowały grupę aldehydową oraz wiązanie podwójne C=C umożliwiając powstawanie nasyconych alkoholi ((*R*)-28a). Jeśli podstawnik R = PhSO₂ reakcja przebiega nieselektywnie i otrzymano zarówno nasycone jak i nienasycone alkohole z podobną wydajnością. W tym przypadku nasycone alkohole miały konfigurację przeciwną ((*S*)-28b) niż nasycone alkohole uzyskane w reakcji redukcji związku z podstawnikiem -SPh ((*R*)-28a). Natomiast aldehydy allilowe redukują się łatwiej niż β -nienasycone związki karbonylowe z tą jednak różnicą, że reakcja w tym przypadku przebiega mniej selektywnie ((*S*)-28a) [49].

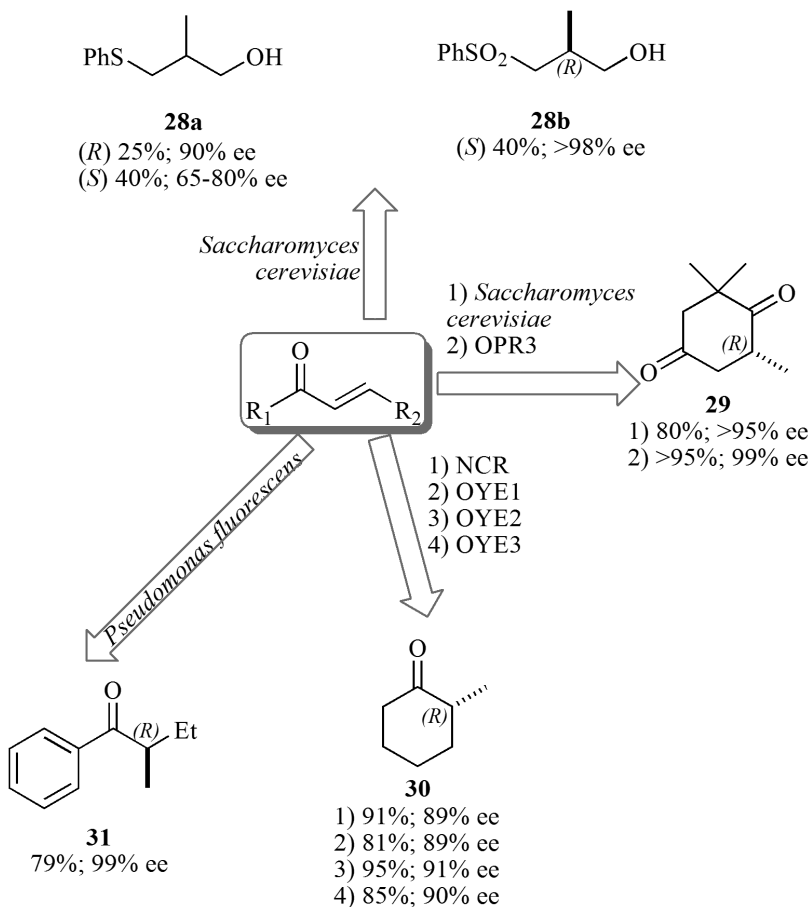


Schemat 8. Asymetryczna bioredukcja alkenów z użyciem flawinozależnych en-reduktaz

Scheme 8. Asymmetric bioreduction of activated alkenes using flavin-dependent ene-reductases

W przeciwieństwie do nienasyconych aldehydów redukcja α,β -nienasyconych ketonów w obecności drożdży jest selektywna. Redukcja 2,6,6-trimetylocykloheks-2-eno-1,4-dionu (ketoisophorone) przebiega praktycznie chemoselektywnie, uzyskuje się czysty optycznie, nasycony (*R*)-2,2,6-trimetylo-1,4-cykloheksanodion

(Schemat 9, **29**) z wysoką 80% wydajnością (niewielka ilość produktów ubocznych). Związek ten jest prekursorem karotenoidów [50]. Ta sama redukcja w obecności reduktazy OPR3 prowadzi tylko do jednego produktu, bez nawet śladowych ilości produktów redukcji grup karbonylowych [51]. W obecności większości en-reduktaz: NCR, OYE 1-3, YqiM z *Bacillus subtilis*, OPR1 (reduktaza 1 kwasu 12-oksofitodienowego), 2-metylocykloheksenon, inny karbonylowy związek nienasycony, był selektywnie redukowany do enancjomeru o konfiguracji (*R*) z dobrą lub bardzo dobrą stereoselektywnością (Schemat 9, **30**) [52, 53].

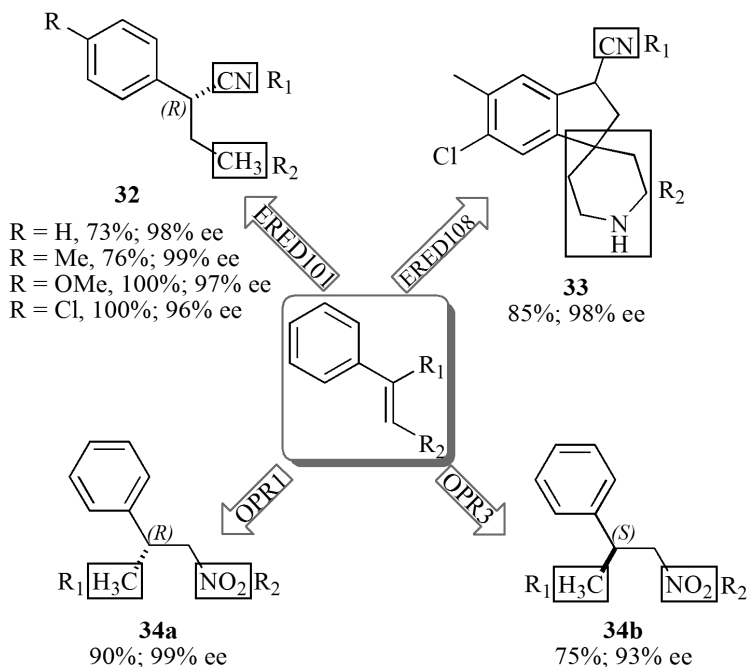


Schemat 9. Redukcja nienasyconych ketonów wobec en-reduktaz

Scheme 9. Reduction reaction of unsaturated ketones in the presence of ene-reductases

Jeszcze jednym przykładem mikrobiologicznej redukcji nienasyconych ketonów, jest reakcja biotransformacji metylenoketonów w obecności *Rhizopus arrhizus*, *Pseudomonas fluorescens* i immobilizowanej *S. cerevisiae*. Najlepsze wyniki uzyskano z zastosowaniem *P. fluorescens* jako biokatalizatora. Otrzymano czyste optycznie ketony nasycone z dobrą wydajnością (Schemat 9, **31**)

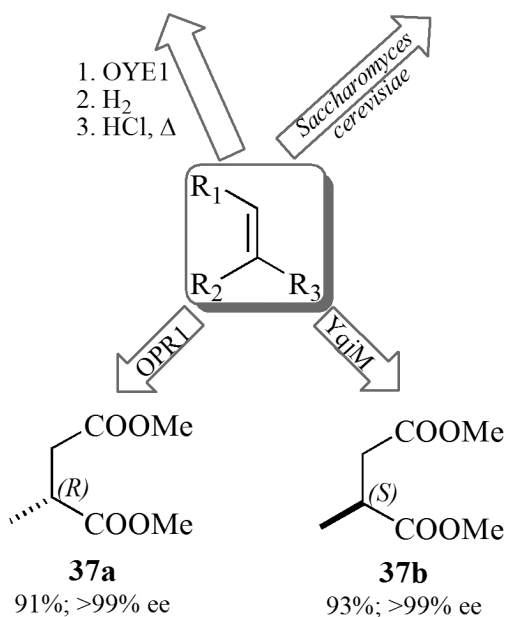
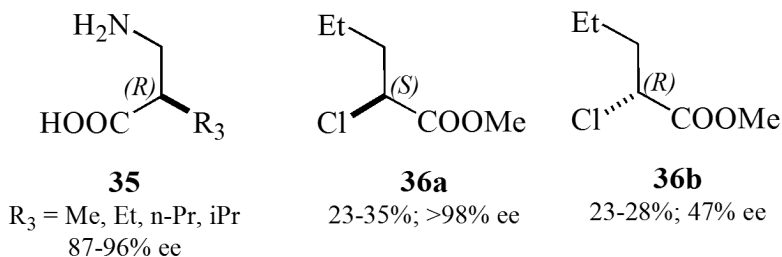
[54]. Drożdży *Saccharomyces cerevisiae* użyto do redukcji enonów otrzymując (*S*)- α -metyloketony z 63–96% ee. Enzymy zawarte w grzybie *Geotrichum candidum* były również w stanie zredukować tego typu związki, w ten sam sposób jak *S. cerevisiae*, chociaż nadmiary enancjomeryczne były niższe (17–87% ee) [55].



Schemat 10. Bioredukcja nitrozwiązków i α,β -nienasyconych nityrli
 Scheme 10. Bioreduction of nitro compounds and α,β -unsaturated nitriles

Jedną z ważniejszych grup związków selektywnie redukowanych za pomocą enzymów OYE są związki azotu: α,β -nienasycone nityrle oraz nitrozwiązki [56]. W reakcji bioredukcji uzyskuje się nasycone związki. Nityrle łatwo przekształca się do kwasów karboksylowych, amidów lub aldehydów, natomiast otrzymane nitrozwiązki stosuje się w syntezie amin, kwasów karboksylowych i węglowodorów. W obecności en-reduktaz selektywnie zredukowano 1,4-podstawione fenylbutenonitryle o geometrii *Z* z dobrą wydajnością i enancjoselektywnością. Enzym umożliwił otrzymanie czystych, optycznie nasyconych nityrli o konfiguracji (*R*) (Schemat 10, **32**). W wyniku bioredukcji w obecności tego samego katalizatora uzyskano jeden z ważniejszych chiralnych bloków budulcowych 6-chloro-5-metylospiro[1*H*-indeno-1,4'-piperidyno]-3-karbonitryl (Schemat 10, **33**) [52, 53]. Redukcja 1-nitro-2-fenylpropenu, w zależności od zastosowanego enzymu z grupy OYE, prowadzi do czystych optycznie nasyconych nitrozwiązków o różnej konfiguracji absolutnej. Reduktazy OPR wykazują w stosunku do tego samego substratu odmienną enancjopreferencję. Enzym OPR1 katalizuje (*R*)-stereoselektywną redukcję dostarczając

(*R*)-1-nitro-2-fenylpropan, podczas gdy reduktaza OPR3, podobnie jak drożdże piekarskie, daje produkt o konfiguracji przeciwnej (Schemat 10, 34). W przypadku reduktaz reakcja przebiega ilościowo. Prawdopodobnie zmiana sekwencji aminokwasowej w enzymach: w OPR1 (Lys-79), w OPR3 (Pro-75) jest przyczyną zmian konformacyjnych, które mogą wymuszać inną orientację substratu w miejscu aktywnym [52, 53].



Schemat 11. Stereoselektywna redukcja wiązania podwójnego wobec en-reduktazy
Scheme 11. Stereoselective reduction of double bond catalysed by ene-reductase

W bioredukcji en-reduktazami proste estry monokarboksylowe nie są przekształcane, gdyż wymagana jest dodatkowa grupa aktywująca: chlorowiec, grupa nitrowa lub grupa estrowa. β -Nitroakrylany mogą być z sukcesem redukowane przez OYE1. W wyniku chemoenzymatycznej redukcji syntetyzowano α -ketoestry używane jako półprodukty w syntezie β -aminokwasów (Schemat 11, 35). Konfiguracja *R/S* otrzymanych produktów w niektórych przypadkach była uwarunkowana geometrią *Z/E* wyjściowych reagentów. Dużą rolę również odgrywa wielkość pod-

stawnika przy $C-\beta$. Jeśli podstawnik jest duży objętościowo utrudniony jest atak jonu wodorkowego, co w konsekwencji może mieć wpływ na obniżenie selektywności. Redukcja estrów metylowych kwasów 2-chloro-2-alkenokarboksylowych drożdżami piekarskimi, w zależności od konfiguracji E/Z wyjściowych substratów, umożliwia otrzymanie obu enancjomerów. Izomery Z były selektywnie redukowane do czystych optycznie (S)-enancjomerów. Natomiast substraty o konfiguracji E przekształcane w (R)-produkty (Schemat 11, 36a i b). Selektywność redukcji izomerów o konfiguracji E była jednak niższa, niż izomerów Z . α -Podstawione estry kwasu butenodiowego mogą być również selektywnie redukowane do określonego enancjomeru. Wystarczy zastosować enzymy o różnej stereopreferencji lub wprowadzić enzym o określonej stereopreferencji do mieszaniny izomerów E/Z . Zastosowanie reduktazy OPR1 oraz SYE-4 (homolog OYE z *Shewanella oneidensis*) umożliwia otrzymanie (R)-produktu, natomiast redukcja tego samego substratu (izomer E) w obecności enzymu YqiM prowadzi do enancjomeru o konfiguracji przeciwnej (Schemat 11, 37 a i b). Enancjomer o konfiguracji (R) można również uzyskać, jeśli do mieszaniny dwóch izomerów Z i E wprowadzi się enzym YqiM. Enzym selektywnie przekształca tylko jeden z izomerów – izomer o konfiguracji Z [52, 53, 57–59].

Ester kwasu (R)-3-hydroksy-2-metylopropanowego tzw. ester Rocha, otrzymuje się w wyniku redukcji en-reduktazami. Zabezpieczenie grupy hydroksylowej umożliwia otrzymanie produktów z wysoką czystością optyczną. Związek ten ma znaczenie przemysłowe, jest to popularny blok budulcowy wykorzystywany do syntezy witamin (np. α -tokoferolu), związków zapachowych (np. muskonu), antybiotyków (np. calcimycyny, rapamycyny, lub diktiostatyny) oraz innych produktów naturalnych (np. spiculoic acid A) [60].

UWAGI KOŃCOWE

Problemy redukcji enzymatycznej sprowadzają się do poszukiwania specyficznych i wydajnych katalizatorów. Dlatego w tej pracy przedstawiono zestawienie wybranych reakcji redukcji z udziałem enzymów pochodzenia grzybiczego lub bakteryjnego. Przy udziale tych enzymów dokonano selektywnej redukcji ketoestrów, poliketonów, ketonitryli, wiązania podwójnego $C=C$ związków nienasyconych zawierających grupę nitylową, estrową, karbonylową oraz nitrową.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] N. Kizaki, Y. Yasohara, J. Hasegawa, M. Wada, M. Kataoka, S. Shimizu, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **55**, 590.
- [2] R.N. Patel, C.G. McNamee, A. Banerjee, J.M. Howell, R.S. Robison, L. Szarka, *J. Enzyme Microb. Technol.*, 1992, **14**, 731.
- [3] F. Aragazzini, M. Valenti, E. Santaniello, P. Ferraboschi, P. Grisenti, *Biocatalysis*, 1992, **5**, 325.
- [4] H. Yamamoto, N. Kimoto, A. Matsuyama, Y. Kabayashi, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 2002, **66**, 1775.
- [5] Y. Akakabe, M. Takahashi, M. Kamezawa, K. Kikuchi, H. Tachibana, T. Ohtani, Y. Naoshima, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1995, 1295.
- [6] M. Kataoka, K. Yamamoto, H. Kawabata, M. Wada, K. Kita, H. Yanase, S. Shimizu, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, **51**, 486.
- [7] H. Yamamoto, A. Matsuyama, Y. Kabayashi, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 2002, **66**, 481.
- [8] T. Zelinski, M.-R. Kula, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, **2**, 421.
- [9] N. Itoh, M. Matsuda, M. Mabuchi, T. Dairi, J. Wang, *Eur. J. Biochem.*, 2002, **269**, 2394.
- [10] Y. Yasohara, N. Kizaki, J. Hasegawa, S. Takahashi, M. Wada, M. Kataoka, S. Shimizu, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, **51**, 847.
- [11] M. Wada, M. Kataoka, H. Kawabata, Y. Yasohara, N. Kizaki, J. Hasegawa, S. Shimizu, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1998, **62**, 280.
- [12] M. Wada, H. Kawabata, A. Yoshizumi, M. Kataoka, S. Nakamori, Y. Yasohara, N. Kizaki, J. Hasegawa, S.J. Shimizu, *Biosci. Bioeng.*, 1999, **87**, 144.
- [13] C.E. Anson, M.J. Bibb, K.I. Booker-Milburn, C. Clissold, P.J. Haley, D.A. Hopwood, K. Ichinose, W.P. Revill, G.R. Stephenson, C.M. Surti, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2000, **39**, 224.
- [14] T. Fujisawa, T. Itoh, T. Sato, *Tetrahedron Lett.*, 1984, **25**, 5083.
- [15] D. Buisson, S. Henrot, M. Larcheveque, R. Azerad, *Tetrahedron Lett.*, 1987, **28**, 5033.
- [16] B.D. Feske, I.A. Kaluzna, J.D. Stewart, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 9654.
- [17] K. Faber, *Biotransformations in organic chemistry*, Springer, Berlin, 1992.
- [18] S.K. Padhi, I.A. Kaluzna, D. Buisson, R. Azerad, J.D. Stewart, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, **18**, 2133.
- [19] M.M. Kayser, M.D. Mihovilovic, J. Kearns, A. Feicht, J.D. Stewart, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 6603.
- [20] R.N. Patel, L. Chu, R. Chidambaram, J. Zhu, J. Kant, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2002, **13**, 349.
- [21] K. Ishihara, H. Yamaguchi, H. Hamada, N. Nakajiman, K. Nakamura, *J. Mol. Catal. B: Enzymol.*, 2000, **10**, 429.
- [22] A. Shafiee, H. Motamedi, A. King, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1998, **49**, 709.
- [23] M. Iwamoto, H. Kawada, T. Tanaka, M. Nakada, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 7239.
- [24] M. Wolberg, W. Hummel, M. Müller, *Chem. Eur. J.*, 2001, **7**, 4562.
- [25] M. Wolberg, A. Ji, W. Hummel, M. Müller, *Synthesis*, 2001, 937.
- [26] D. Enders, J.L. Vicario, A. Job, M. Wolberg, M. Müller, *Chem. Eur. J.*, 2002, **8**, 4272.
- [27] J.L. Vicario, A. Job, M. Wolberg, M. Müller, D. Enders, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 1023.
- [28] A. Job, M. Wolberg, M. Müller, D. Enders, *Synthesis*, 2001, 1796.
- [29] Z. Guo, Y. Chen, A. Goswami, R.L. Hanson, R.N. Patel, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 1589.
- [30] T. Fujisawa, E. Kojima, T. Sato, *Chem. Lett.*, 1987, 2227.
- [31] M. Takeshita, T. Sato, *Chem. Pharm. Bull.*, 1989, **37**, 1085.
- [32] O. Bortolini, G. Fantin, M. Fogagnolo, P.P. Giovannini, A. Guerrini, A. Medici, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 1854.
- [33] E. Keinan, S.C. Sinha, A. Sinha-Bagchi, *J. Org. Chem.*, 1992, **57**, 3631.
- [34] D.R. Dodds, J.B. Jones, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1982, 1080.
- [35] D.R. Dodds, J.B. Jones, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 577.

- [36] K. Nakamura, R. Yamanaka, T. Matsudab, T. Haradab, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 2659.
- [37] K.-I. Fuhshuku, N. Funa, T. Akeboshi, H. Ohta, H. Hosomi, S. Ohba, T. Sugai, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 129.
- [38] K.-I. Fuhshuku, M. Tomita, T. Sugai, *Adv. Synth. Catal.*, 2003, **345**, 766.
- [39] V. Gotor, J.R. Dehli, F. Rebolledo, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2000, 307.
- [40] J.R. Dehli, V. Gotor, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**, 1485.
- [41] J.R. Dehli, V. Gotor, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 3693.
- [42] C.V.C. Prasad, O.B. Wallace, J.W. Noonan, C.P. Sloan, W. Lau, S. Vig, M.F. Parker, D.W. Smith, S.B. Hansel, C.T. Polson, D.M. Barten, K.M. Felsenstein, S.B. Roberts, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, **14**, 3361.
- [43] E. Garcia-Urdiales, I. Alfonso, V. Gotor, *Chem. Rev.*, 2005, **105**, 313.
- [44] M. Hall, A.S. Bommarius, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 4088.
- [45] P. Gramatica, P. Manitto, D. Monti, G. Speranza, *Tetrahedron*, 1987, **43**, 4481.
- [46] P. Gramatica, P. Manitto, D. Monti, G. Speranza, *Tetrahedron*, 1988, **44**, 1299.
- [47] C. Stueckler, N.J. Mueller, C.K. Winkler, S.M. Glueck, K. Gruber, G. Steinkellner, K. Faber, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 8472.
- [48] C. Fuganti, S.J. Serra, *Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2000, 3758.
- [49] S. Serra, C. Fuganti, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**, 2191.
- [50] H.G. Leuenberger, W. Boguth, E. Widmer, R. Zell, *Helv. Chim. Acta*, 1976, **59**, 1832.
- [51] C. Stueckler, T.C. Reiter, N. Baudendistel, K. Faber, *Tetrahedron*, 2010, **66**, 663.
- [52] M. Hall, C. Stueckler, W. Kroutil, P. Macheroux, K. Faber, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 3934.
- [53] M. Hall, C. Stueckler, B. Hauer, R. Stuermer, T. Friedrich, M. Breuer, W. Kroutil, K. Faber, *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, **9**, 1511.
- [54] M. de Mancilha, R. de Conti, P.J.S. Moran, J.A.R. Rodrigues, *Arkivoc*, 2001, 85.
- [55] B.R.S. de Paula, D.S. Zampieri, J.A.R. Rodrigues, P.J.S. Moran, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2013, **24**, 973.
- [56] S. Laval, W. Dayoub, L. Pehlivan, E. Métay, D. Delbrayelle, G. Mignani, M. Lemaire, *Tetrahedron Lett.*, 2014, **55**, 23.
- [57] M. Utaka, S. Konishi, A. Mizuoka, T. Ohkubo, T. Sakai, S. Tsuboi, A. Takeda, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 4989.
- [58] A. Muller, B. Hauer, B. Rosche, *Biotechnol. Bioeng.*, 2007, **98**, 22.
- [59] C. Stueckler, M. Hall, H. Ehammer, E. Pointner, W. Kroutil, P. Macheroux, K. Faber, *Org. Lett.*, 2007, **9**, 5409.
- [60] C. Stueckler, C.K. Winkler, M. Bonnekessel, K. Faber, *Adv. Synth. Catal.*, 2010, **352**, 2663.

Praca wpłynęła do Redakcji 19 czerwca 2014

**DWIE DEKADY CHEMO-ENZYMATYCZNEJ
REAKCJI BAEYERA-VILLIGERA**

**TWO DECADES OF CHEMO-ENZYMATIC
BAEYER-VILLIGER REACTION**

Agnieszka Drożdż, Rafał Bielas, Anna Chrobok*

*Politechnika Śląska, Wydział Chemiczny,
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii,
ul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
e-mail: Anna.Chrobok@polsl.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Ogólna charakterystyka lipazy B *Candida antarctica*

2. Chemo-enzymatyczna reakcja Baeyera-Villigera – rys historyczny

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr inż. Agnieszka Drożdż w roku 2011 ukończyła studia magisterskie na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej na kierunku Chemia o specjalności Procesy Biochemiczne. W październiku 2011 roku rozpoczęła studia doktoranckie na tym samym Wydziale w Katedrze Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii. Jej zainteresowania badawcze koncentrują się wokół reakcji Baeyera-Villigera utleniania cyklicznych ketonów do odpowiednich chiralnych oraz achiralnych laktonów z zastosowaniem kompleksów glinu lub enzymów.



Mgr inż. Rafał Bielas w 2014 roku ukończył studia magisterskie na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej na kierunku Chemia, obecnie doktorant w Katedrze Fizykochemii i Technologii Polimerów na tym samym Wydziale. Jego zainteresowania naukowe obejmują zastosowanie cieczy jonowych w kontrolowanej polimeryzacji rodnikowej.



Dr hab. inż. Anna Chrobok profesor nadzwyczajny Politechniki Śląskiej, w roku 1996 ukończyła Wydział Chemiczny Politechniki Śląskiej. W 2001 roku uzyskała tytuł doktora nauk technicznych, a w 2011 roku stopień doktora habilitowanego na tym samym Wydziale. Obecnie jest zatrudniona na stanowisku kierownika Katedry Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii. Specjalność – technologia chemiczna organiczna.

ABSTRACT

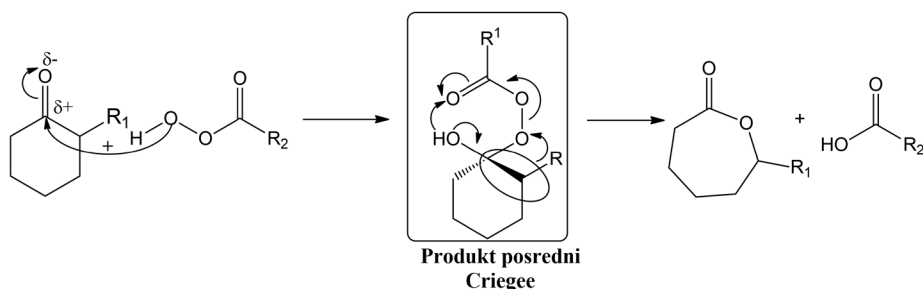
The Baeyer–Villiger oxidation of ketones to lactones or esters is a reaction of significant interest in organic chemistry owing to very wide range of possible applications, e.g. in the synthesis of antibiotics, steroids, pheromones and monomers for polymerisation. The organic percarboxylic acids typically used as oxidants in these reactions are fairly expensive, often poorly stable and hazardous, and this consequently limits their commercial application. Therefore, the chemo-enzymatic approach appears to be a very attractive alternative. The paper presents literature reports concerning the application the use of lipase B from *Candida antarctica* in the chemo-enzymatic Baeyer-Villiger oxidation. It involves oxidation of long- or medium-chain carboxylic acids with H₂O₂ or urea hydrogen peroxide to generate in situ peracid which is later used to oxidise ketones to lactones.

Keywords: chemo-enzymatic Baeyer–Villiger reaction, lactones, cyclic ketones oxidation, lipase B *Candida antarctica*

Słowa kluczowe: chemo-enzymatyczna reakcja Baeyera-Villigera, laktony, utlenianie cyklicznych ketonów, lipaza B *Candida antarctica*

WPROWADZENIE

Reakcja Baeyera-Villigera (BV) polega na utlenianiu cyklicznych i acyklicznych ketonów do odpowiednich laktonów lub estrów [1]. Do najczęściej wykorzystywanych czynników utleniających w tej reakcji należą nadkwasy organiczne, nadtlenek wodoru oraz wodoronadtlenki alkilowe. Mechanizm reakcji opisany przez Criegee przebiega w sposób uzgodniony i jest dwuetapowy [2]. Na początku następuje nukleofilowy atak związku nadtlenowego na węgiel karbonylowy ketonu, w wyniku czego powstaje tetraedryczny produkt pośredni, zwany adduktem Criegee (Schemat 1). Następnie dochodzi do migracji grupy alkilowej bądź arylovej ketonu w kierunku dodatnio naładowanego atomu tlenu związku nadtlenowego, z równoczesnym rozerwaniem wiązania O-O. Etap ten jest zazwyczaj najwolniejszym etapem reakcji i determinuje jej szybkość [3–5]. W drugim etapie energetycznie preferowane jest ustawienie grupy migrującej w pozycji antiperiplanarnej w stosunku do wiązania O–O grupy opuszczającej, oraz w pozycji antiperiplanarnej w odniesieniu do wolnej pary elektronowej grupy hydroksylowej. Uprzywilejowanie konformacji antiperiplanarnej wynika z mniejszej bariery energetycznej migracji. Reakcja jest stereoselektywna, a więc migrujące grupy zachowują swoją konfigurację [2–6].

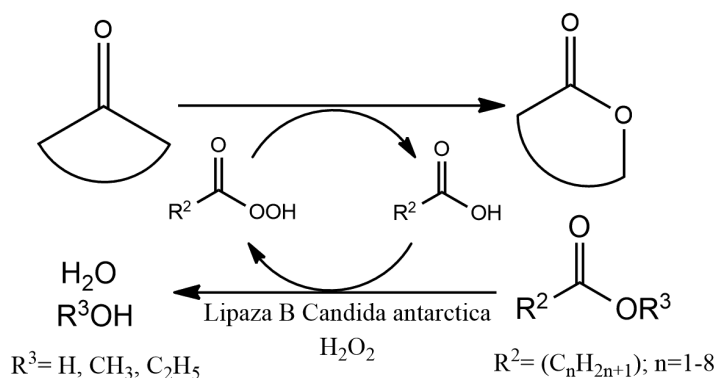


Schemat 1. Mechanizm reakcji Baeyera-Villigera [2]

Scheme 1. The mechanism of Baeyer-Villiger reaction [2]

Najczęściej stosowane utleniacze w reakcji BV to nadkwasy organiczne. Charakteryzują się one stosunkowo wysoką ceną i relatywnie niską stabilnością. Są one również szczególnie wrażliwe na wstrząsy, co powoduje utrudnienia w ich transporcie i przechowywaniu. Wady wynikające z zastosowania nadkwasów zostały wyeliminowane w 1948 r. dzięki pionierskiemu odkryciu Truffitta [7], który zaproponował enzymatyczną wersję reakcji Baeyera-Villigera. Zastosowanie wyselekcjonowanych enzymów w reakcji utleniania BV umożliwiło otrzymanie najwyższych wydajności (>99%) oraz czystości enancjomerycznych (>99%) laktonów ze wszystkich dotychczasowo poznanych katalitycznych układów [8–13]. Biokatalizatory wykorzystywane w niniejszej metodzie to monooksygenazy Baeyera-Villigera. Są to flawoproteiny charakteryzujące się wysoką specyficznością substratową oraz łagodnym środowiskiem prowadzenia biotransformacji. Na szczególną uwagę zasługuje monooksygenaza cykloheksanonu, którą zalicza

się do I typu monooksygenaz BV. Zawiera ona dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD), który jest koenzymem pełniącym funkcję przenośnika elektronów i protonów oraz wykorzystuje fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH), który jest źródłem elektronów. Główną wadą metody jest konieczność stosowania stechiometrycznych ilości drogiego kofaktora NADPH. Co więcej procesy wydzielania monooksygenaz są uciążliwe, a ich aktywność oraz stabilność w środowisku rozpuszczalników organicznych drastycznie spada [7–13].



Schemat 2. Chemo-enzymatyczna reakcja Baeyera-Villigera

Scheme 2. Chemo-enzymatic Baeyer-Villiger reaction

Alternatywnym rozwiązaniem, wykorzystującym stabilniejszy enzym jest chemo-enzymatyczna wersja reakcji BV (Schemat 2). W tym przypadku czynnikiem utleniającym jest wprowadzony nadkwas organiczny, lecz jest on wygenerowany *in situ* w trakcie trwania procesu wobec biokatalizatora. W pierwszym etapie, katalizowanym za pomocą lipazy B pochodzącej z *Candida antarctica* (CaLB), estry bądź kwasy karboksylowe o długich lub średnich łańcuchach alkilowych ulegają utlenieniu za pomocą nadtlenu wodoru do nadkwasów. Następnie świeżo utworzony nadkwas zużywa się w procesie utleniania ketonów do laktonów [14–21]. Unika się dzięki temu niebezpiecznych operacji z niestabilnymi nadkwasami. Do opisanego procesu najczęściej stosuje się lipazę immobilizowaną na makroporowatej żywicy akrylowej. Preparat ten jest dostępny handlowo pod nazwą Novozyme-435 i jest wielokrotnie tańszy od monooksygenazy cykloheksanonu.

Do dnia dzisiejszego ukazało się niewiele doniesień literaturowych opisujących chemo-enzymatyczną reakcję BV. Autorzy tych prac prawie we wszystkich przypadkach wykorzystują, jako katalizator lipazę w formie preparatu Novozyme-435 [14–18]. Tylko w trzech pracach zastosowano w roli biokatalizatora usieciowane agregaty enzymatyczne lipazy [19] lub perhydrolazy [21], jak również lipazę immobilizowaną na powierzchni krzemionki [20].

W powyższych pracach, jako prekursorzy nadkwasów wykorzystano kwas mirstynowy, oktanowy lub octan etylu wraz z utleniaczami w postaci 35–50% wodnego

roztworu H_2O_2 lub kompleksu nadtlenu wodoru z mocznikiem (UHP). Spośród najczęściej stosowanych substratów w chemo-enzymatycznej reakcji BV można wymienić alkilocykloheksanony, wśród nich modelowy 2-metylocykloheksanon oraz alkilocyklopentanony takie jak 2-metylocyklopentanon, a także acykliczne ketony jak oktanon. Procesy zwykle prowadzone były w temperaturze pokojowej w środowisku toluenu lub octanu etylu. Wymagany czas prowadzenia reakcji sięgał nawet do kilku dni.

1. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA LIPAZY B *CANDIDA ANTARCTICA*

Organizmy żyjące w ekstremalnych warunkach przyciągają coraz większą uwagę. Stanowią one często źródło interesujących substancji i biokatalizatorów. Jednym z najpopularniejszych przykładów mogą być drożdże *Candida antarctica*. Jak większość organizmów, wydzielają one lipazy, a konkretnie lipazę A oraz lipazę B. Pierwsze doniesienia na temat zastosowania tych enzymów pochodzą z roku 1992 i dotyczą asymetryzacji 2-mezo-cykloalkeno-1,4-dioli [22]. Opisują one zastosowanie oczyszczonej lipazy B immobilizowanej na żywicy akrylowej oraz dowodzą jej wysokiej enancjoselektywności w rozdziale racemicznych alkoholi drugorzędowych. Porównania obu lipaz dokonali w 1993 roku Theil i Björkling. [23] Zauważyli oni, że lipaza B wykazuje zdecydowanie większą selektywność i ma to miejsce niezależnie od tego czy enzym ten występuje samodzielnie, czy też jako składnik preparatu zawierającego obie lipazy.

W 1994 roku zespół badawczy pod kierownictwem Uppenberga opublikował wyniki badań, na podstawie których określona została sekwencja aminokwasów oraz sekwencja DNA kodująca ten enzym. [24] Po raz pierwszy dowiedziono, że lipaza B pochodząca z drożdży *Candida antarctica* składa się z 317 aminokwasów, a jej masa wynosi 33273Da. W strukturze enzymu obecnych jest również 286 cząsteczek wody, z których tylko 7 jest całkowicie „pochowanych” między łańcuchami aminokwasów. Zaskoczeniem był fakt, że sekwencja aminokwasów nie wykazuje znaczącej homologii do struktury innych lipaz. Mimo tego, tak jak w innych lipazach kluczowymi dla centrum aktywnego aminokwasami są w tym przypadku seryna, kwas asparaginowy i histydyna. Samo centrum aktywne jest dostępne dla zewnętrznego rozpuszczalnika poprzez wąski kanał o wymiarach $10 \times 4 \times 12 \text{ \AA}$. Ściany tego kanału są hydrofobowe i nie występują w nich elementy aromatyczne z wyjątkiem tryptofanu poprzedzającego w sekwencji katalityczną serynę. Azot obecny w łańcuchu bocznym tego aminokwasu tworzy wiązanie wodorowe z karbonylowym tlenem katalitycznej histydyny, co stabilizuje w tym miejscu strukturę. Lipaza B posiada w swej strukturze również dużą powierzchnię hydrofobową otaczającą wejście do kanału miejsca aktywnego, zajmującą około 450 \AA i będącą prawdopodobnie w bliskim kontakcie z powierzchnią lipidów podczas hydrolizy. Ta cecha jest szczególnie ważna i decyduje o wyższej aktywności CaLB w środowisku hydrofobowym. W 1995 roku ten sam zespół naukowców dowiódł na podstawie modelowania mole-

kularnego, że na dnie wnęki z miejscem aktywnym, tuż obok katalitycznej seryny znajduje się zagłębienie decydujące o stereospecyficzności enzymu [25].

W 1999 roku zespół pod kierownictwem Koopsa zbadał wpływ chemicznych modyfikacji enzymu oraz jego adsorpcji na nośniku stałym na aktywność i termostabilność. [26] Jak wykazały wyniki tych badań, adsorpcja enzymu na hydrofobowym nośniku pozwala na wielokrotne zwiększenie aktywności, a także na zwiększenie termostabilności. Zauważono jednak, że specyficzna aktywność maleje wraz ze wzrostem upakowania enzymu na powierzchni nośnika. Kowalencyjne modyfikacje nie wpływają pozytywnie na właściwości enzymu, kiedy jest on adsorbowany na nośniku hydrofobowym, a nawet mogą prowadzić do denaturacji. Zupełnie inaczej wpływają jednak one na adsorpcję na nośniku hydrofilowym, kiedy to pozwalają na większe upakowanie i zwiększenie aktywności. Należy jednak zauważyć, że niezależnie od modyfikacji, lipaza B *Candida antarctica* wykazuje lepsze właściwości, kiedy jest adsorbowana na nośnikach hydrofobowych.

Lipaza B *Candida antarctica* jest enzymem dobrze opisanym i scharakteryzowanym. W wielu publikacjach pokazano również, że jest to enzym wydajnie katalizujący znaczną liczbę reakcji organicznych, w tym wiele prowadzonych na skalę przemysłową. Najczęściej jednak stosuje się go do rozdziału racemicznych alkoholi, amin i kwasów oraz do syntezy aktywnych optycznie produktów ze związków *mezo* [27].

Novozyme-435 jest preparatem enzymatycznym często wykorzystywanym do procesów peroksydacji, o czym świadczy jego wysoka stabilność w rozpuszczalnikach organicznych oraz zdolność do przetwarzania *in situ* różnych średniołańcuchowych kwasów karboksylowych do odpowiednich nadkwasów w łagodnych warunkach.

W 1990 roku zespół pod kierownictwem Bjorklinga [28], jako pierwszy wykorzystał lipazę w celu generowania *in situ* nadkwasu przy pomocy nadtlenu wodoru. Wyniki tych badań wykazały, że najskuteczniejszym enzymem dla tego procesu jest lipaza pochodząca ze szczepu *Candida antarctica*. Nieco gorsze wyniki uzyskano stosując lipazy z *Pseudomonas sp.* czy *Candida cylindracea*. W toku dalszych badań okazało się, że lipaza najlepiej przekształca średniołańcuchowe kwasy karboksylowe, takie jak kwas oktanowy czy dodekanowy. Reakcja ta najefektywniej przebiega w niemieszających się z wodą rozpuszczalnikach, takich jak toluen czy heksan. Zaobserwowano również, że stosowany enzym nie wykazuje wrażliwości na duży nadmiar kwasu karboksylowego, natomiast szybko ulega dezaktywacji w kontakcie z dużymi stężeniami nadtlenu wodoru. Zauważono również, że biokatalityczne utlenianie kwasów karboksylowych do nadkwasów może z powodzeniem zostać wykorzystane w innych procesach utleniania [28].

W 2002 roku zespół pod kierownictwem Yadava [29] zbadał możliwości syntezy kwasu nadlaurylowego z wykorzystaniem szeregu różnych lipaz i rozpuszczalników. Badania te również wykazały, że enzymem najefektywniej katalizującym proces utleniania jest immobilizowana lipaza pochodząca ze szczepu *Candida antarctica*. Najlepszym rozpuszczalnikiem dla tego procesu jest toluen. Dobrano odpowiednie

parametry procesu: szybkość wytrząsania (600 rpm), 1,3-krotny nadmiar molowy 50% roztworu H_2O_2 w stosunku do kwasu laurylowego oraz temperatura 52°C . Niestety, aktywność enzymu spadła o 50% po pierwszym cyklu. Po ustaleniu, że jedynymi czynnikami wywołującymi denaturację białka były nadtlenek wodoru oraz wyższa temperatura przystąpiono do wyznaczenia kinetyki tego procesu. Stwierdzono, że przebiega ona według mechanizmu pseudo-pierwszorzędowego [29].

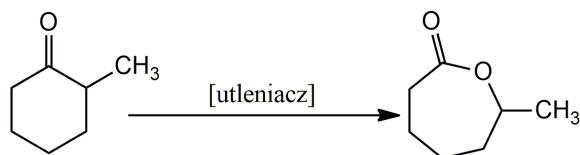
2. CHEMO-ENZYMATYCZNA REAKCJA BAEYERA-VILLIGERA – RYS HISTORYCZNY

Pierwsze wzmianki na temat chemo-enzymatycznej reakcji Baeyera-Villigera pojawiły się w 1995 roku. [14] W pracy tej zaproponowane zostało całkowicie nowatorskie rozwiązanie, które zakładało użycie lipazy B *Candida antarctica* jako katalizatora. Przeprowadzono cykl badań z zastosowaniem enzymatycznego dodatku na przebieg procesu utleniania cyklicznych ketonów wobec stechiometrycznych ilości kwasu mirystynowego oraz Novozyme-435 w ilości $225\text{g/mol}_{\text{ketonu}}$. W roli utleniacza użyto czterokrotny nadmiar molowy 30% roztworu H_2O_2 w wodzie. Proces prowadzono w środowisku toluenu w temperaturze pokojowej. Stężenie ketonu wynosiło $0,1\text{ mol/dm}^3$. Nadtlenek wodoru dozowano porcjami do układu reakcyjnego przez okres 10 h. Czas trwania reakcji od momentu zakończenia dozowania był relatywnie długi i wynosił 5,5 dnia. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń zaobserwowano, iż w przypadku utleniania 2-podstawionych cyklopentanonów lub 2-podstawionych cykloheksanonów, wydajności produktów mieszczą się w zakresie 57–73% (Tab. 1, poz. 1; Tab. 2, poz. 1). Zaproponowana metoda jest równie efektywna jak metoda utleniania przy użyciu kwasu *m*-chloronadbenzoesowego (*m*-CPBA) bądź kwasu trifluoronadocowego, a wydajności produktów są niższe zaledwie o 5–10%.

Choć opracowana przez grupę badawczą Lemoult metoda nie wymaga operacji z niebezpiecznymi nadkwasami przy jednoczesnym zachowaniu wysokich wydajności to posiadała ona również wady. Wyjątkowo długi czas prowadzenia procesu, trudności związane z pozbyciem się odpadowego kwasu mirystynowego oraz niemożliwość przewidzenia stereochemia reakcji stanowiły niewątpliwie niedogodności [14].

Tabela 1. Porównanie uzyskanych wydajności syntezy 6-metylo- ϵ -kaprolaktonu w różnych warunkach [6–12]

Table 1. Comparison of obtained yields of synthesis of 6-methyl- ϵ -caprolactone in various conditions [6–12]



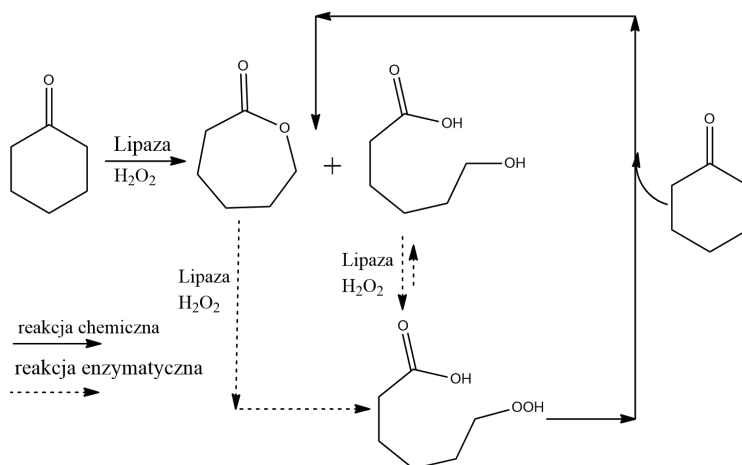
L.p.	Preparat enzymatyczny, ilość [g/mol _{ketonu}]	Kwas/ester	Utl.	Temp. [°C]	Czas [h]	Wyd. ^a [%]	Lit.
1.	Novozyme-435; 225 g/mol _{ketonu}	kwas mirystynowy	30% H ₂ O ₂	rt	144	57	[14]
2.	Novozyme-435; 500 g/mol _{ketonu}	–	UHP	25	40	44	[15]
3.	Novozyme-435; 50 g/mol _{ketonu}	octan etylu	UHP	27	72	95	[16]
4.	CaLB-CLEA; 50 g/mol _{ketonu}	octan etylu	50% H ₂ O ₂	40	48	84 ^b	[19]
5.	CaLB immobilizowana na krzemionce; 20 g/mol _{ketonu}	octan etylu	50% H ₂ O ₂	rt	29	97	[20]

^a wydajność wyznaczona na podstawie analizy GC.

^b konwersja wyznaczona na podstawie analizy GC.

Ponieważ, nowo odkryta metoda wymagała udoskonalenia, zaledwie trzy lata później ukazała się następna praca. Grupa badawcza Guibé-Jampela postanowiła pójść o krok dalej i sprawdzić, czy istnieje możliwość przeprowadzenia autokatalitycznej reakcji BV wspomaganej przez lipazę B *Candida antarctica* [15].

Badania wstępne wykazały, że bez udziału lipazy reakcja chemo-enzymatycznego utleniania Baeyera-Villigera nie zachodzi. Efekt ten pozwolił wysnuć przypuszczenie, iż nadtlenek wodoru, wspierany obecnością grup karboksylowych pochodzących z bocznych łańcuchów lipazy odpowiedzialny jest za zainicjowanie reakcji BV. Utworzony w ten sposób lakton ulega reakcji hydrolizy pod wpływem działania lipazy oraz nadtlenu wodoru, przekształcając się w odpowiedni nadkwas, który następnie użyty jest jako kolejny czynnik utleniający keton. W ten sposób cykl autokatalityczny zostaje zamknięty (Schemat 3) [15].



Schemat 3. Autokatalityczny schemat chemo-enzymatycznej reakcji BV [15]

Scheme 3. Autocatalytic Baeyer-Villiger reaction [15]

Warto podkreślić, iż w metodzie tej nie stosuje się rozpuszczalnika. Przykładowy proces utleniania 2-metylocykloheksanonu (Tab. 1, poz. 2) prowadzony był w następujący sposób: Novozyme-435 w ilości 500 g/mol_{ketonu} mieszało z roztworem wybranego ketonu w eterze dietylowym (0,5–1,0 mol/dm³), który następnie usunęto. Do mieszaniny substratu i immobilizowanej w ten sposób lipazy wprowadzany był w jednej porcji jedenastokrotny nadmiar utleniacza.

Autokatalityczny mechanizm nie był jedyną nowością. Modyfikacji poddany został również czynnik utleniający. 30% wodny roztwór nadtlenu wodoru zastąpiono kompleksem nadtlenu wodoru z mocznikiem (UHP), który jest komercyjnie dostępny, stabilny, łagodny i bezpieczny w użyciu.

Uzyskane wyniki dowiodły jednoznacznie, że reakcje prowadzone w bezwodnych warunkach z wykorzystaniem kompleksu UHP przebiegają szybciej oraz pozwalają otrzymać wyższe stopnie konwersji substratów w porównaniu do reakcji, w których czynnikiem utleniającym jest 30% nadtlenek wodoru. W przypadku autokatalitycznego utleniania 2-metylocykloheksanonu otrzymano 6-metylo-ε-kaprolakton z wydajnością 44% po upływie 40 godzin, czyli czas reakcji skrócono o 104 godziny w porównaniu z procedurą opracowaną przez grupę Lemoult [14]. (Tab. 1, poz. 1 i 2). Kolejny przykład, to utlenianie 2-hekso-cykloheksanonu, w którym można było zaobserwować, iż stopień konwersji ketonu po 24 godzinach prowadzenia procesu wynosił 11%, natomiast po 48 godzinach wynosił już 65%. W przypadku wykorzystania nadtlenu wodoru w tych samych przedziałach czasowych stopień konwersji wynosił odpowiednio jedynie 11% i 20%. Przeprowadzone doświadczenia wykazały również stereospecyficzny charakter autokatalitycznej syntezy laktonów, a także ścisłą zależność szybkości reakcji od wielkości oraz umiejscowienia podstawnika w utlenianym związku [15].

Kolejną nowością wprowadzoną do opisywanej metody było użycie octanu etylu w roli prekursora kwasu nadoctowego oraz rozpuszczalnika. [8] Octan etylu wybrany został ze względu na swoje charakterystyczne właściwości, a mianowicie relatywnie niską temperaturę wrzenia, zdolność do rozpuszczania wielu związków organicznych oraz niską toksyczność. Ponownie zastosowano Novozyme-435, którego zadaniem było przekształcenie octanu etylu w kwas nadoctowy w obecności kompleksu UHP, jako utleniacza. Powstały nadkwas jest właściwym czynnikiem utleniającym w reakcji BV i przekształca cykliczne ketony w odpowiednie laktony. Generowany w niniejszej reakcji produkt uboczny, czyli kwas octowy ulega utlenianiu do nadkwasu. Reakcja ta jest również katalizowana przez lipazę.

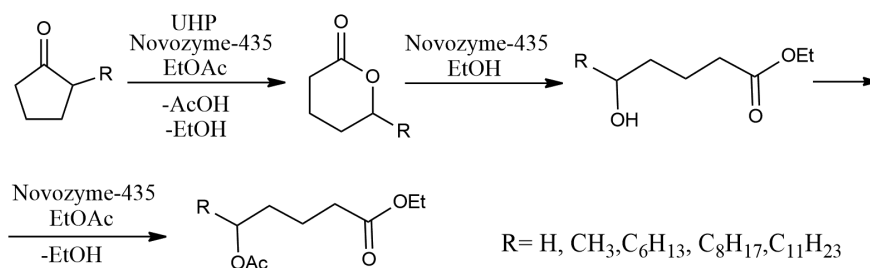
Przeprowadzono szereg optymalizacji, w których badano wpływ ilości enzymu, utleniacza (UHP) oraz rozpuszczalnika na stopień konwersji modelowego 2-fenylcykloheksanonu. Wykazano, że stopniowe zwiększanie ilości preparatu enzymatycznego wpływa na wzrost konwersji ketonu. Jednakże, przekroczenie pewnej wartości nie powoduje wzrostu szybkości reakcji, co świadczy o tym, że reakcja utleniania ketonu jest etapem limitującym szybkość procesu. Dlatego wyznaczono optymalną ilość Novozyme-435 (50 g preparatu na 1 mol ketonu). Zaobserwowano również, że reakcja przebiega wolniej w przypadku, gdy substrat jest bardziej rozcieńczony. Dlatego też na ogół nie stosuje się nadmiaru rozpuszczalnika, a jedynie taką ilość, aby rozpuścić używane reagenty.

Korzystne warunki badanej chemo-enzymatycznej reakcji to: Novozyme-435 w ilości 50g/mol_{ketonu}, stężenie ketonu w octanie etylu 0,3 mol/dm³ oraz dwukrotny nadmiar molowy UHP. Zaobserwowano również, że na szybkość utleniania alkilocykloheksanonów wpływa rodzaj podstawnika znajdującego się w pozycji α względem grupy karbonylowej ketonu. Jeśli jest to krótki łańcuch allilowy bądź podstawnik fenylowy czy benzylowy, uzyskuje się wyższą wydajność odpowiednich laktonów. W przypadku utleniania 2-metylocykloheksanonu już po 3 dniach prowadzenia reakcji w temperaturze pokojowej można otrzymać produkt z wydajnością 95% (Tab. 1, poz. 3). Natomiast w przypadku, gdy reakcji tej poddawane są alkilocykloheksanony posiadające duży podstawnik znajdujący się w pozycji α względem grupy karbonylowej, reakcja przebiega wolniej. Związkiem tego typu jest 1-tetralon, z którego dopiero po 15 dniach prowadzenia procesu otrzymano lakton z wydajnością 28%. Omawiana metoda jest wysoce selektywna, nie zaobserwowano żadnych niepożądanych reakcji ubocznych, takich jak np. polimeryzacja z otwarciem pierścienia ϵ -kaprolaktonu, hydroliza czy alkoholiza produktów. [16]

Ta sama grupa badawcza już rok później przeprowadziła cykl badań nad chemo-enzymatyczną reakcją utleniania BV cyklopentanonów i podstawionych cyklopentanonów do odpowiednich δ -walerolaktonów. [17]

Prowadząc reakcję utleniania w warunkach opracowanych dla alkilocykloheksanonów otrzymano oprócz laktonów również niepożądane produkty uboczne. Reakcja octanu etylu z UHP w obecności Novozyme-435 prowadziła do powstania zarówno kwasu nadoctowego, jak również cząsteczki etanolu (Schemat 4). Kwas nadoctowy łatwo utlenia cyklopentanon do δ -walerolaktonu generując równocześnie

śnie kwas octowy, jako produkt uboczny. Powstały w ten sposób δ -walerolakton jest zdolny do utworzenia wiązania z centrum aktywnym lipazy z takim samym prawdopodobieństwem jak octan etylu czy kwas octowy, w wyniku czego tworzy się kompleks enzymu z tą cząsteczką. W reakcji octanu etylu bądź kwasu octowego z lipazą zostaje utworzony kompleks enzymu z resztą acylową, następnie nukleofilowy atak etanolu przyczynia się do regeneracji octanu etylu, a nukleofilowy atak nadtlenu wodoru na utworzony ester powoduje wygenerowanie kwasu nadoctowego. Dodatkowo, tak wygenerowany lakton reaguje z łańcuchem bocznym seryny w miejscu aktywnym lipazy tworząc hydroksyester. Doświadczenia te potwierdziły, że δ -walerolakton reaguje z lipazą znacznie szybciej niż ϵ -kaprolakton. Atak etanolu na kompleks enzymu z δ -walerolaktonem może powodować powstanie 5-hydroksypentanianu etylu. Tak utworzony nowy alkohol może również konkurować o atak nukleofilowy na kompleks enzymu z resztą acylową, co pozwala otrzymać 5-acetoksypentanian etylu.



Schemat 4. Reakcja utleniania pochodnych cyklopentanonu w środowisku octanu etylu z zastosowaniem Novozyme-435 oraz kompleksu UHP [17]

Scheme 4. Oxidation of cyclopentanone derivatives in ethyl acetate with Novozyme-435 and UHP [17]

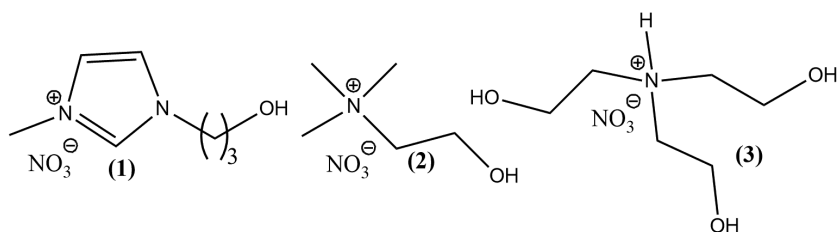
Przeprowadzono również próbę bez użycia enzymu, która wykazała, że reakcja utleniania nie zachodzi. Natomiast reakcja transestryfikacji δ -walerolaktonów jest ściśle zależna od ich struktury, podobnie jak przebieg reakcji acylowania wynika bezpośrednio z budowy hydroksyestrów. Badania wykazały, że nowo utworzona cząsteczka δ -walerolaktonu reaguje z lipazą i etanolem tworząc hydroksyester. Powstały hydroksyester ulega reakcji acylowania z utworzeniem diestru, który jest głównym produktem reakcji po 7 dniach prowadzenia procesu. W przypadku utleniania 2-metylocyklopentanonu, reakcja BV przebiegała szybciej w porównaniu do niepodstawionego cyklopentanonu, jednak i tym razem głównym produktem zaobserwowanym po 9 dniach prowadzenia reakcji nie był wcale preferowany lakton, lecz hydroksyester (Tab. 2, poz. 2).

W przypadku utleniania 2-*n*-heksylocyklopentanonu, który posiada większą zawadę steryczną, osiągnięto 50% konwersji po 3 dniach prowadzenia procesu. Transestryfikacja powstałego δ -walerolaktonu z etanolem przebiegała wyjątkowo powoli, nie zaobserwowano reakcji acetylowania powstałego hydroksyestru.

W celu uniknięcia dalszej reakcji transestryfikacji δ -walerolaktonów octan etylu zastąpiono acetonitrylem. Dodano również katalityczne ilości kwasu oktanowego do mieszaniny reakcyjnej. Opracowano korzystne warunki prowadzenia niniejszego procesu: temperatura 60°C, Novozyme-435 w ilości 25g/mol_{ketonu}, stężenie ketonu w acetonitrylu 0.3 mol/dm³ oraz dwukrotny nadmiar molowy UHP (Tab. 2, poz. 2) [17].

Nowe drogi syntezy związków organicznych powinny spełniać wymagania stawiane wymogom 12 zasad „zielonej chemii”. Jednym z istotnych problemów są poszukiwania nowych rozpuszczalników. Ciecze jonowe ze względu na swoje unikalne właściwości takie jak: niemierzalna prężność par, jednoczesna rozpuszczalność związków zarówno organicznych jak i nieorganicznych, czy szeroki zakres, w jakim związki te są cieciami, znalazły już szerokie zastosowanie w syntezie organicznej, jako efektywne rozpuszczalniki [30, 31]. W ostatniej dekadzie można zaobserwować duże zainteresowanie zastosowaniem cieczy jonowych, jako alternatywnych mediów dla reakcji enzymatycznych [32–34]. Wiąże się to przede wszystkim ze wzrostem stabilności oraz aktywności enzymów w ich środowisku. Struktura cieczy jonowych to rozbudowana sieć kationów i anionów powiązanych wiązaniami wodorowymi, które tworzą polarne i niepolarne regiony. Pozwala to na ochronę enzymu. Niezwykle uporządkowanie supramolekularnej budowy cieczy jonowych w fazie ciekłej może działać jak „forma” utrzymująca aktywną strukturę 3-D enzymu w wodnym nano-otoczeniu, a co za tym idzie pozwala uniknąć zmiany struktury czwartorzędowej białka. Dodatkowo po zakończeniu reakcji produkty można w łatwy sposób wydzielić z cieczy jonowej poprzez ekstrakcję za pomocą klasycznego rozpuszczalnika. Enzym pozostaje jednak „uwięziony” w cieczy jonowej. Może być to jeden ze sposobów immobilizacji enzymu, a układ taki można zawracać do kolejnych cykli reakcji [30–34].

Obecnie znana jest tylko jedna publikacja dotycząca zastosowania cieczy jonowych w chemo-enzymatycznej reakcji BV. Ukazała się ona w 2011 roku, kiedy to zespół pod kierownictwem Kotlewskiej do swoich badań zastosował trzy ciecze jonowe posiadające w swojej strukturze anion azotanowy i kationy: 1-metylo-3-(3-hydroksypropylo)-imidazoliowy (1), 2-hydroksyetylotrimetyloamoniowy (2) oraz trietanolamoniowy (3) (Schemat 5), które można zaliczyć do grupy HBD (Hydrogen Bond Donating) [18].



Schemat 5. Struktura cieczy jonowych użytych w chemo-enzymatycznej reakcji BV [18]

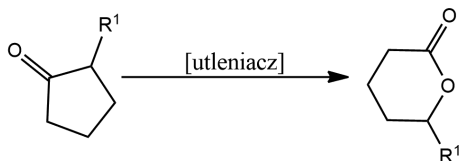
Scheme 5. Structure of ionic liquids used in chemo-enzymatic Baeyer-Villiger reaction [18]

Wybrane do badań cieczy jonowe stabilizują strukturę enzymu, a także zwiększają jego stabilność mechaniczną i termiczną. Najefektywniejsze warunki prowadzenia chemo-enzymatycznej reakcji Baeyera-Villigera w środowisku cieczy jonowej to: temperatura 50°C, Novozyme-435 w ilości 50 g/mol_{ketonu}, stężenie ketonu 0,5 mol/dm³, dwukrotny nadmiar molowy 50% H₂O₂ oraz dwukrotny nadmiar kwasu oktanowego. Całkowity czas prowadzenia niniejszej reakcji w temperaturze 50°C wynosił jedynie 5 h.

Użycie cieczy jonowych (1) pozwala na uzyskanie γ -butyrolaktonu z bardzo wysoką wydajnością (99%) (Tab. 2, poz. 3). Jednakże w przypadku utleniania cykloheksanonu uzyskano nieco niższą wydajność laktonu (45%), za to efektywniejszą okazała się ciecz jonowa (2) (62%). Selektywność powstawania praktycznie wszystkich laktonów oscylowała w granicach 99%. Metoda z użyciem cieczy jonowych jest znacznie bardziej efektywna od opracowanej wcześniej przez grupę Olivo [16], gdyż przebiega z o wiele większą szybkością. W przypadku reakcji utleniania cykloheksanonu za pomocą UHP w środowisku octanu etylu dopiero po 6 dniach otrzymano lakton z 80% wydajnością, podczas gdy zastosowanie cieczy jonowej (2) pozwoliło zredukować czas do 5 godzin otrzymując ϵ -kaprolakton z nieznacznie niższą wydajnością (62%). Dodatkową zaletą tej metody jest brak produktów ubocznych [18].

Tabela 2. Wyniki utleniania wybranych 2-podstawionych cyklopentanonów do odpowiednich δ -walerolaktonów [14–20]

Table 2. The results of the oxidation of various 2-substituted cyclopentanones to the corresponding δ -valerolactones [14–20]



Lp.	Preparat enzymatyczny, ilość [g/mol _{ketonu}]	Kwas/ester	Utl.	R ¹	Temp. [°C]	Czas [h]	Wyd. ^a [%]	Lit.
1.	Novozyme-435; 225 g/mol _{ketonu}	kwas mirystynowy	30% H ₂ O ₂	C ₆ H ₁₃	rt	144	73	[14]
				C ₈ H ₁₇			64	
				C ₁₁ H ₂₃			66	
2.	Novozyme-435; 25 g/mol _{ketonu}	octan etylu	UHP	CH ₃	rt	48	48	[17]
		kwas oktanowy				96	47	
						144	23	
		40			24	52 ^b		
		60				73 ^b		
3.	Novozyme-435; 50 g/mol _{ketonu}	kwas oktanowy	50% H ₂ O ₂	H	50	5	99	[18]

Lp.	Preparat enzymatyczny, ilość [g/mol _{ketonu}]	Kwas/ester	Utl.	R ¹	Temp. [°C]	Czas [h]	Wyd. ^a [%]	Lit.
4.	CaLB-CLEA; 50 g/mol _{ketonu}	octan etylu	50% H ₂ O ₂	H	40	48	88 ^b	[19]
5.	CaLB immobilizowana na krzemionce; 20 g/mol _{ketonu}	octan etylu	50% H ₂ O ₂	H	rt	6	35 ^c	[20]

^a wydajność wyznaczona na podstawie analizy GC.

^b konwersja wyznaczona na podstawie analizy GC.

^c analiza NMR mieszaniny reakcyjnej potwierdziła tworzenie się hydroksykwasu.

Zespół pod kierownictwem Mamo w 2013 roku opublikował badania dotyczące zastosowania lipazy w formie usieciowanych agregatów lipazy (CaLB-CLEA) w chemo-enzymatycznej reakcji BV. [19] Otrzymywanie tego typu biokatalizatorów polega na wytrąceniu cząsteczek enzymów z roztworu oraz potraktowaniu ich bifunkcyjnym czynnikiem sieciującym, takim jak aldehyd glutarowy. Zaletą stosowania takiego rozwiązania jest fakt, że tak przygotowane preparaty CaLB-CLEA nie ulegają wymywaniu w środowisku wodnym.

We wspomnianej powyżej pracy opisano wyniki badań, w których przetestowano wpływ struktury prekursora nadkwasu, jego stężenia oraz stężenia ketonu na aktywność enzymatyczną preparatu CaLB-CLEA. Dodatkowo porównano jego działanie do Novozyme-435. Wstępnie przetestowano szereg estrów, jako prekursorów utleniaczy w reakcji utleniania cykloheksanonu do ϵ -kapolaktonu. Zauważono, że wszystkie stosowane estry z wyjątkiem estrów alkoholu amylowego pozwalają na uzyskanie zadowalających konwersji ketonów, a najlepsze wyniki uzyskano dla propionianu etylu.

W dalszych badaniach nowy biokatalizator użyto w procesie utleniania różnych cyklicznych ketonów o zróżnicowanym rozmiarze pierścienia i różnych podstawnikach w pierścieniu. Podobnie jak we wcześniejszych publikacjach, także tutaj zauważono, że im mniejszy jest pierścień, tym szybciej ulega utlenieniu. Najwyższą konwersję uzyskano dla cyklopentanonu (88%) (Tab. 2, poz. 4), natomiast nie zaobserwowano produktów utlenienia w przypadku reakcji z cyklooktanonem. Wykazano również, że najszybciej proces utleniania zachodzi dla cyklicznych ketonów podstawionych w pozycji 2 pierścienia. Najsłabsze wyniki uzyskano natomiast dla cyklicznych ketonów podstawionych w pozycji 3 pierścienia względem grupy karbonylowej.

Na koniec postanowiono zbadać wpływ składników mieszaniny reakcyjnej na aktywność enzymatyczną nowych biokatalizatorów. Wykazano, że podwyższenie stężenia ketonu nie powoduje obniżenia aktywności enzymu. Niezależnie od ilości stosowanego cykloheksanonu, wydajność uzyskanego laktonu wahała się w niewielkim zakresie od 69–77%. Dużo większy wpływ na stabilność enzymu miało stężenie nadtlenu wodoru. Zauważono mianowicie, że zastosowanie wyższych stężeń ($> 0,8 \text{ mol/dm}^3$) H₂O₂ prowadzi do dezaktywacji preparatu białkowego

poprzez utlenianie aminokwasów i zrywanie mostków disiarczkowych enzymu. Wykazano, że powstający jako produkt uboczny kwas octowy ma również negatywny wpływ na stabilność enzymu. Wzrastające stężenie kwasu skutkuje bowiem zakwaszeniem środowiska reakcji, a co za tym idzie, zmianami konformacyjnymi enzymu co wpływa na jego dezaktywację. Korzystne warunki badanej metody to: Novozyme-435 w ilości 50 g/mol_{ketonu}, stężenie ketonu w octanie etylu 0,5 mol/dm³ oraz dwukrotny nadmiar molowy UHP lub H₂O₂. Autorzy publikacji argumentują, że zastosowanie sieciowanych agregatów enzymatycznych pozwala na uzyskanie porównywalnych wyników jak w przypadku stosowania Novozyme-435 [19].

Zespół pod kierownictwem Chavez w 2014 roku zaprezentował nieco zmodyfikowaną metodę dla chemo-enzymatycznej reakcji BV również z zastosowaniem sieciowanych agregatów enzymatycznych. Tym razem użyto jednak perhydrolazy, którą wykorzystano do generowania nadkwasu *in situ* z dioctanu glikolu etylenowego [21]. Jak zaobserwowano, w tym przypadku najlepsze warunki procesu utleniania cykloheksanonu to czterokrotny nadmiar molowy utleniacza oraz stężenie ketonu w odpowiednim rozpuszczalniku 0,05 mol/dm³. Dodatkowo wpływ użytego rozpuszczalnika okazał się nie bez znaczenia dla niniejszej metody. Wydajności uzyskane dla reakcji w rozpuszczalnikach organicznych były niskie i wynosiły 30, 17 i 10% odpowiednio dla octanu etylu, toluenu i eteru metylowo *tert*-butylowego. Dużo wyższą wydajność, bo aż 63% udało się uzyskać dla reakcji prowadzonej w buforze fosforanowym. Są to jak do tej pory jedyne doniesienia dotyczące utleniania ketonów do laktonów w środowisku wodnym.

Tak więc zastosowanie usieciowanego agregatu enzymatycznego perhydrolazy jest kolejnym kamieniem milowym na drodze do stworzenia zielonej metody syntezy laktonów [21].

Kolejne wyzwania, takie jak obniżenie relatywnie długiego czasu procesu, podwyższenie stabilności lipazy w obecności H₂O₂ zostały podjęte przez zespół badawczy Chrobok w kolejnej pracy dotyczącej chemo-enzymatycznej reakcji BV z 2013 roku [20]. Enzym CaLB został unieruchomiony na mezoporowatym materiale krzemionkowym o zmodyfikowanej powierzchni. Do immobilizacji wykorzystano mezoporowaty nośnik krzemionkowy typu MH (rozdrobiony monolit) oraz materiał SBA-15, który jest nośnikiem proszkowym. Materiały te poddano modyfikacji różnymi hydrofobowymi grupami, takimi jak: metylowa, oktylowa bądź heksadecylowa. Na tak sfunkcjonalizowane nośniki naniesiono lipazę B *Candida antarctica* (75–198 mg/g nośnika).

Nowe biokatalizatory zastosowano w chemo-enzymatycznej reakcji BV utleniania cyklicznych ketonów do laktonów za pomocą wygenerowanego *in situ* z octanu etylu kwasu nadoctowego. Przeprowadzono cykl badań, w których użyto 2-metylocykloheksanonu w roli modelowego substratu. Korzystne warunki prowadzenia procesu to: temperatura 40°C, ilość lipazy CaLB immobilizowanej na krzemionce 20 g/mol_{ketonu}, stężenie ketonu w octanie etylu 0,3 mol/dm³ oraz dwukrotny nadmiar molowy 60% wodnego roztworu H₂O₂ (Tab. 1, poz. 5; Tab. 2, poz. 5). Stwierdzono, że najefektywniejszym katalizatorem jest katalizator oparty na matrycy MH

modyfikowanej grupą metylową. Zaobserwowano, że matryce zmodyfikowane grupami heksadecylowymi oraz oktylowymi są mocniej obciążone białkiem. W takim wypadku enzymy mają tendencję do agregacji, co utrudnia dostęp reagentów do miejsc aktywnych enzymu a tym samym źle wpływa na jego aktywność.

Badania wykazały, że nowe biokatalizatory są trzy krotnie aktywniejsze od Novozyme-435. Już po 28 h otrzymano produkt 6-metylo- ϵ -kaprolakton z wydajnością 99%. Prowadząc utlenianie 2-metylocykloheksanonu w tych samych warunkach w obecności Novozyme-435 otrzymano lakton z wydajnością 80% po upływie 50 h.

Ukoronowaniem badań były nieopisane dotychczas w literaturze z tego zakresu próby zawrotu biokatalizatorów. Wykazano, że nowe biokatalizatory są wysoce aktywne nawet w obecności 60% roztworu nadtlenu wodoru, który pozwala na skrócenie czasu reakcji o 8 h w temperaturze pokojowej. Co więcej, mogą one być ponownie wykorzystane, co najmniej pięć razy przy stosunkowo niewielkiej utracie masy oraz aktywności biokatalizatora. Wydajność reakcji utleniania 2-metylocykloheksanonu w każdym z pięciu cykli praktycznie nie ulegała zmianie i kształtuje się na poziomie 99% [20].

PODSUMOWANIE

W pracy zamieszczono doniesienia literaturowe opisujące badania nad chemo-enzymatyczną reakcją BV, które są prowadzone od 1995 roku. Chemo-enzymatyczna wersja reakcji BV nie wymaga stosowania drogich oraz niebezpiecznych nadkwasów organicznych i potencjalnie może w przyszłości znaleźć zastosowanie w przemyśle zastępując stosowane dotychczas metody wykorzystujące stechiometryczne ilości niebezpiecznych nadkwasów.

W powyższych pracach, jako prekursorzy nadkwasów wykorzystano: kwasy, takie jak mirystynowy lub oktanowy w dwukrotnym nadmiarze, równomolowo lub w ilościach katalitycznych w stosunku do ketonu lub octanu etylu jako rozpuszczalnik i reagent. W roli utleniacza stosowano 30%, 50% bądź 60% wodny roztwór H_2O_2 lub kompleks nadtlenu wodoru z mocznikiem zazwyczaj w dwukrotnym nadmiarze w stosunku do ketonu. Ilość stosowanego biokatalizatora mieściła się w przedziale od 500–20 g/mol_{ketonu}. Procesy zwykle prowadzone były w temperaturze pokojowej, a wymagany czas prowadzenia reakcji sięgał nawet do kilku dni.

Opracowana metoda pozwala na otrzymanie szerokiej gamy laktonów z wysoką wydajnością. Dodatkowe atuty tej metody to łagodne warunki prowadzenia reakcji oraz możliwość zawrotu katalizatora. Dodatkowo lipaza, jako białko, jest całkowicie biodegradowalna, co upraszcza problem utylizacji zużytego biokatalizatora. Jest to doskonały przykład zielonej syntezy organicznej, przyjaznej dla środowiska, niegenerującej znacznych ilości odpadów. Chemo-enzymatyczna metoda jest również zdecydowanie tańsza od metody enzymatycznej, gdyż w przeciwieństwie do kosztownych monoooksygenaz lipaza B *Candida antarctica* nie wymaga stosowania drogich kofaktorów w reakcji.

Obniżenie czasów prowadzenia reakcji oraz nadmiarów reagentów oraz dalsze zwiększanie aktywności i stabilności biokatalizatora to wyzwania, które zachęcają do kontynuacji badań nad niniejszym problemem.

Niniejsza praca była finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, Grant numer nr UMO-2013/09/N/ST8/02059.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. von Baeyer, V. Villiger, Ber. Dtsch. Chem. Ges., 1899, **32**, 3625.
- [2] W. von E. Doering, E. Dorfman, J. Am. Chem. Soc., 1953, **75**, 5595.
- [3] G. Strukul, Angew. Chem. Int. Ed., 1998, **37**, 1198.
- [4] M. Renz, B. Meunier, Eur. J. Org. Chem., 1999, **4**, 737.
- [5] G.J. Ten Brink, I.W.C.E. Arends, R.A. Sheldon, Chem. Rev., 2004, **104**, 4105.
- [6] M. Snowden, A. Bermudez, D.R. Kelly, J.L. Radkiewicz-Poutsma, J. Org. Chem., 2004, **69**, 7148.
- [7] G.E. Turfitt, Biochem. J., 1948, **42**, 376.
- [8] J.D. Stewart, Curr. Org. Chem. 1998, **2**, 195.
- [9] M.D. Mihovilovic, G. Chen, S. Wang, B. Kyte, F. Rochon, M.M. Kayser, J.D. Stewart, J. Org. Chem. 2001, **66**, 733.
- [10] M.D. Mihovilovic, Curr. Org. Chem. 2006, **10**, 1265.
- [11] M.D. Mihovilovic, F. Rudroff, B. Grötzl, J. Mol. Catal. B: Enzym., 2006, **39**, 135.
- [12] N.M. Kamerbeek, D.B. Janssen, W.J.H. van Berkel, J.M. Fraaije, Adv. Syn. Catal., 2003, **345**, 667.
- [13] D. Sheng, D.P. Ballou, V. Massey, Biochem., 2001, **40**, 11156.
- [14] S.C. Lemoult, P.F. Richardson, S.M. Roberts, J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1995, **1**, 89.
- [15] B.K. Pchelka, M. Gelo-Pujic, E. Guibé-Jampel, J. Chem. Soc. Perkin Trans., 1998, **1**, 2625.
- [16] M.Y. Rios, E. Salazar, H. F. Olivo, Green Chem., 2007, **9**, 459.
- [17] M.Y. Rios, E. Salazar, H.F. Olivo, J. Mol. Catal. B, 2008, **54**, 61.
- [18] A.J. Kotlewska, F. van Rantwijk, R.A. Sheldon, I.W.C.E. Arends, Green Chem., 2011, **13**, 2154.
- [19] G. Chavez, R. Hatti-Kaul, R.A. Sheldon, G. Mamo, J. Mol. Catal. B, 2013, **89**, 67.
- [20] A. Drożdż, A. Chrobok, S. Baj, K. Szymańska, J. Mrowiec-Białoń, A.B. Jarzębski, Appl. Catal. A, 2013, **467**, 163.
- [21] G. Chavez, J.-A. Rasmussen, M. Janssen, Top. Catal., 2014, **57**, 349.
- [22] C.R. Johnson, S.J. Bis, Tetrahedron Lett., 1992, **33**, 48, 7287.
- [23] F. Theil, F. Björkling, Biotechnol. Lett., 1993, **15**, 6, 605.
- [24] J. Uppenberg, M. Trier Hansen, S. Patkar, Structure, 1994, **2**, 293.
- [25] J. Uppenberg, Biochem., 1995, **34**, 16838.
- [26] B.C. Koops, E. Papadimou, Appl. Microbiol. Biotechnol., 1999, **52**, 791.
- [27] O. Kirk, M. Würtz Christensen, Org. Process Res. Dev., 2002, **6**, 446.
- [28] F. Bjoerkling, S.E. Godtfredsen, O. Kirk, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1990, **19**, 1301.
- [29] G.D. Yadav, K. Manjula Devi, Biochem. Eng. J., 2002, **10**, 93.
- [30] P. Lozano, Green Chem., 2010, **12**, 555.
- [31] T. Payagala, D.W. Armstrong, Chirality, 2012, **24**, 17.
- [32] H. Olivier-Bourbigou, L. Magna, D. Morvan, Appl. Cat. A, 2010, **373**, 1.
- [33] H. Zhao, J. Chem. Technol. Biotechnol., 2010, **85**, 891.
- [34] Z. Yang, W. Pan, Enzyme Microb. Technol., 2005, **37**, 19.

DEHYDROGENAZY ALKOHOLOWE POCHODZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO – WŁAŚCIWOŚCI I ICH ZASTOSOWANIE

MICROBIAL ALCOHOL DEHYDROGENASES – PROPERTIES AND THEIR APPLICATION

Ewa Szczepańska, Filip Boratyński*

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Katedra Chemii*

ul. C. K. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

**e-mail: filip.boratynski@up.wroc.pl*

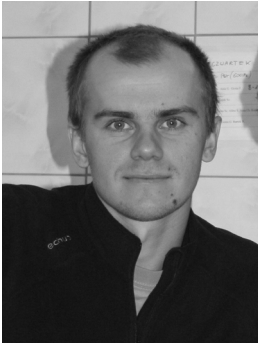
Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Dehydrogenazy alkoholowe zależne od NAD^+/NADH ; 1.1. Drożdżowa alkoholowa dehydrogenaza (YADH); 1.2. Alkoholowa dehydrogenaza z *Rhodococcus erythropolis* (READH); 1.3. Alkoholowa dehydrogenaza z *Rhodococcus ruber* (ADH-A); 1.4. Alkoholowa dehydrogenaza z *Leifsonia* sp. (LSADH); 1.5. Alkoholowa dehydrogenaza z *Nocardia globerula* (NGADH); 1.6. Alkoholowa dehydrogenaza z *Pseudomonas fluorescens* (PFADH); 1.7. Alkoholowa dehydrogenaza z *Bacillus thuringiensis* (BtADH); 1.8. Alkoholowa dehydrogenaza z *Bacillus stearothermophilus* (BSADH); 1.9. Alkoholowa dehydrogenaza z *Sulfolobus solfataricus* (SsADH); 1.10. Alkoholowa dehydrogenaza z *Sulfolobus acidocaldarius* (SaADH); 1.11. Alkoholowa dehydrogenaza z *Thermus* sp. (TADH); 1.12. Alkoholowa dehydrogenaza z *Thermus thermophilus* (TtADH); 1.13. Alkoholowa dehydrogenaza z *Acetobacter pasteurianus*; 1.14. Alkoholowa dehydrogenaza z *Moraxella*
2. Dehydrogenazy alkoholowe zależne od NAD^+/NADH lub $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$; 2.1. Alkoholowa dehydrogenaza z *Nocardia fusca* (NFADH); 2.2. Alkoholowa dehydrogenaza z *Pyrococcus furiosus* (PFADH); 2.3. Alkoholowa dehydrogenaza z *Micrococcus* sp.
3. Dehydrogenazy alkoholowe zależne od $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$; 3.1. Alkoholowa dehydrogenaza z *Lactobacillus kefir* (LKADH); 3.2. Alkoholowa dehydrogenaza z *Lactococcus brevis* (LBADH); 3.3. Alkoholowa dehydrogenaza z *Thermoanaerobacter brockii* (TBADH); 3.4. Alkoholowa dehydrogenaza z *Thermoanaerobacter ethanolicus* (TeSADH)

Piśmiennictwo cytowane



Dr inż. Filip Boratyński, w 2004 roku ukończył Biotechnologię Żywności na Wydziale Nauk o Żywności na Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy) we Wrocławiu. Obecnie jest adiunktem w Katedrze Chemii tej samej Uczelni. Zajmuje się biotransformacjami laktonów, zarówno przy zastosowaniu enzymów, jak i całych komórek mikroorganizmów.



Inż. Ewa Szczepańska, studiuje Biotechnologię na Wydziale Nauk o Żywności na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Od 2012 roku aktywnie działa w Studenckim Kole Naukowym „OrgChem”, gdzie zajmuje się biotransformacjami laktonów z użyciem całych komórek mikroorganizmów.

ABSTRACT

Biotransformations involve mainly microorganisms or individual enzymes applied to catalyze chemical reactions [1]. This field of science is particularly important, because it allows to obtain optically active compounds, which are valuable raw materials for pharmaceutical (Fig. 3, Fig. 6, Fig. 20, Fig. 21), wood and paper (Fig. 18), food (Fig. 4), textile (Fig. 12), cosmetic (Fig. 14) industries and environmental protection (Fig. 19).

Oxidoreductases, in particular alcohol dehydrogenases (E.C.1.1.1.1, ADH) are valuable biocatalysts enabling to obtain enantiomerically pure products. These enzymes, commonly found in nature, catalyze both oxidation and reduction reactions [3].

Described dehydrogenases descend from mesophilic, psychrophilic and thermophilic microorganisms. The increasing application of thermophiles is due to their exceptional resistance against heat and organic solvents.

The article describes and explains how microbial ADH's interact with NAD^+/NADH or $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ and present those enzymes which catalyze reactions with both forms of cofactors. The alcohol dehydrogenases from yeast are particularly commonly used [9–14]. Bacterial enzymes, among them ADH isolated from *Thermoanaerobacter brockii* [47–51], are widely distributed too. In addition, the literature describes a number of (*R*)-specific ADH's from *Lactobacillus kefir* [40–42], *L. brevis* [45, 46], *Leisofonia* sp. [20] *Pseudomonas fluorescens* [23] and (*S*)-specific ADH's from *Rhodococcus erythropolis* [15, 16], *Thermus* sp. [30], *Sulfolobus solfataricus* [23, 28] and many others.

Keywords: alcohol dehydrogenase, biotransformations, bacteria

Słowa kluczowe: dehydrogenaza alkoholowa, biotransformacje, bakterie

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ADH	– dehydrogenaza alkoholowa
CBMDH	– dehydrogenaza mrówczanowa z <i>Candida boidinii</i>
G6PDH	– dehydrogenaza glukozo-6-fosforanowa (ang. <i>glucose-6-phosphate dehydrogenase</i>)
LDH	– dehydrogenaza mleczanowa (ang. <i>lactate dehydrogenase</i>)
GDH	– dehydrogenaza glukozowa
NAD ⁺ /NADH	– dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy forma utleniona/forma zredukowana (ang. <i>nicotinamide adenine dinucleotide oxidized/reduced form</i>)
NADP ⁺ /NADPH	– fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego forma utleniona/forma zredukowana (ang. <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidized/reduced form</i>)
YADH	– drożdżowa alkoholowa dehydrogenaza (ang. <i>yeast alcohol dehydrogenase</i>)
READH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Rhodococcus erythropolis</i>
ADH-A	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Rhodococcus ruber</i>
LSADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Leifsonia</i> sp.
NGADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Nocardia globerula</i>
PFADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Pseudomonas fluorescens</i>
BtADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Bacillus thuringiensis</i>
BSADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Bacillus stearothermophilus</i>
SsADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Sulfolobus solfataricus</i>
SaADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Sulfolobus acidocaldarius</i>
TADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Thermus</i> sp.
TtADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Thermus termophilus</i>
NFADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Nocardia fusca</i>
PFADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Pyrococcus furiosus</i>
LKADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Lactobacillus kefir</i>
LBADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Lactococcus brevis</i>
TBADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Thermoanaerobacter brockii</i>
TeSADH	– alkoholowa dehydrogenaza z <i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>

WPROWADZENIE

Jedną z najlepiej rozwijających się aktualnie dziedzin łączącą ze sobą nauki chemiczne i biologiczne to biotransformacje, czyli zastosowanie mikroorganizmów lub organizmów, bądź wyizolowanych z nich enzymów w celu przekształcania związków chemicznych. Takie reakcje charakteryzują się stereospecyficznością oraz enacjo-, chemo- i regioselektywnością. Ponadto zachodzą w łagodnych warunkach, a zarazem są bezpieczne dla środowiska, gdyż nie ma potrzeby utylizacji toksycznych odpadów, a ilość ubocznych produktów reakcji jest ograniczona. Ograniczeniami biotransformacji są czynniki zewnętrzne, które mają wpływ na zdolności katalityczne enzymów takie jak: temperatura, pH, ciśnienie, stężenia substratu i produktu [1]. Wciąż poszukiwane są enzymy o wyższej enancjoselektywności, specyficzności substratowej i aktywności oraz o podwyższonej odporności na rozpuszczalniki organiczne [2].

Ważną grupę katalizatorów stosowanych w biotransformacjach stanowią dehydrogenazy alkoholowe (ADH), ponieważ mogą one przeprowadzać zarówno reakcję utleniania jak i redukcji.

Dehydrogenazy alkoholowe (E.C.1.1.1.1) należą do klasy oksydoreduktaz. Występują powszechnie w naturze i są jednymi z najlepiej zbadanych enzymów [3]. Charakteryzują się wysoką enancjoselektywnością, przez co są znakomitymi biokatalizatorami stosowanymi w przemyśle farmaceutycznym umożliwiającymi otrzymanie optycznie czystych leków z wykorzystaniem „zielonej chemii” [4]. Największą grupę ADH stanowią dehydrogenazy współdziałające z $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ jako kofaktorem [5]. W procesach biotransformacji wymagana jest regeneracja kofaktora, która zachodzi z wykorzystaniem między innymi dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej (G6PD), dehydrogenazy alkoholowej (ADH), dehydrogenazy glukozowej (GDH) [6].

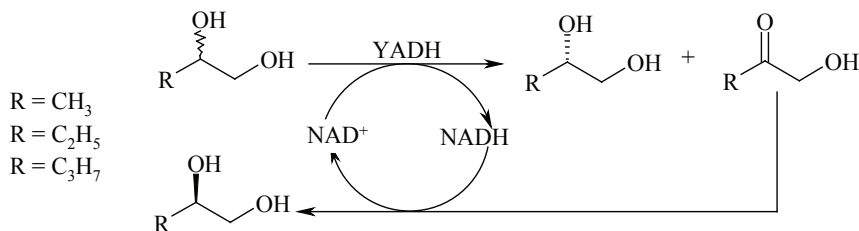
Różnorodność dehydrogenaz alkoholowych sprawia, że istnieje w literaturze wiele kryteriów ich klasyfikacji (budowa enzymu, źródło pochodzenia, rodzaj katalizowanej reakcji, środowisko działania). Poniżej przedstawiono podział w zależności od rodzaju koenzymu z jakim dany enzym współdziała. Wśród nich można wyróżnić dehydrogenazy alkoholowe NAD^+/NADH -zależne, $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ -zależne oraz takie, które katalizują reakcje w obecności obu tych kofaktorów.

1. DEHYDROGENAZY ALKOHOLOWE ZALEŻNE OD NAD⁺/NADH

1.1. DROŻDŻOWA ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA (YADH)

Enzymem odpowiedzialnym za właściwości oksydo-redukcyjne drożdży *Saccharomyces cerevisiae* jest tetrameryczna dehydrogenaza alkoholowa YADH, która występuje aż w pięciu izoformach (YADH1 – YADH5) [7]. Enzym ten składa się z dwóch domen – katalitycznej oraz tej odpowiedzialnej za wiązanie z NAD⁺/NADH [8]. Posiada masę 150 kDa i zbudowany jest z 347 aminokwasów, a jego struktura stabilizowana jest obecnością jonów cynku [9, 10]. YADH katalizuje, zgodnie z regułą Preloga, reakcje redukcji aldehydów [11] i metyloketonów [12] oraz nierozgałęzionych alifatycznych pierwszo- i drugorzędowych alkoholi [13].

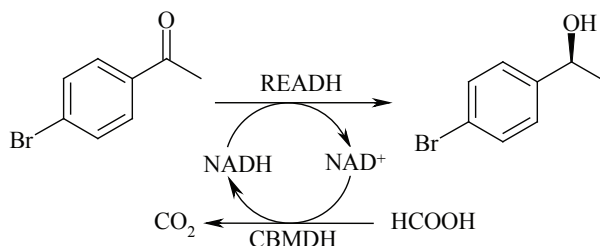
YADH wykorzystano, między innymi, w celu otrzymania optycznie czynnych krótkołańcuchowych alifatycznych nasyconych dioli (Rys. 1). Jako kosubstrat do regeneracji NAD⁺ wykorzystano etanol. Pierwszy etap biotransformacji polegał na enancjoselektywnym utlenieniu racemicznych dioli w celu otrzymania mieszaniny zawierającej enancjomerycznie czysty diol i hydroksyketon. W drugim etapie otrzymano przeciwny enancjomer danego diolu poprzez asymetryczną redukcję prochiralnych hydroksyketonów [14].



Rysunek 1. Kinetyczny rozdział racemicznych dioli za pomocą YADH
 Figure 1. Kinetic resolution of racemic diols with YADH

1.2. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* (READH)

Średniołańcuchowa NAD⁺/NADH-zależna dehydrogenaza alkoholowa z *Rhodococcus erythropolis* (READH) wykazuje szerszy od poprzedniej (YADH) zakres działania i katalizuje redukcję ketonów zarówno alifatycznych jak i aromatycznych do enancjomerycznie czynnych (S)-alkoholi [15, 16]. Enzym ten transformował z wysoką wydajnością pochodne acetofenonu podstawione bromem lub fluorem w pozycji *para*. Regeneracja koenzymu zachodziła poprzez utlenienie kwasu mrówkowego do dwutlenku węgla za pomocą dehydrogenazy mrówczanowej z *Candida boidinii* (CBMDH; Rys. 2).

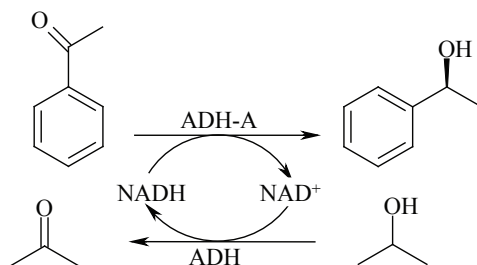


Rysunek 2. Redukcja *para*-bromoacetofenonu za pomocą READH

Figure 2. Reduction of *para*-bromoacetophenon with READH

1.2. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *RHODOCOCCUS RUBER* (ADH-A)

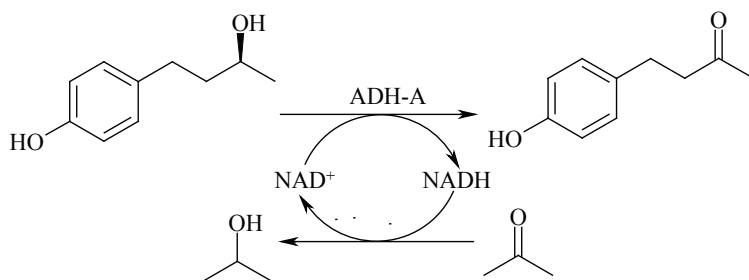
Dehydrogenaza alkoholowa z *Rhodococcus ruber* (ADH-A) zależna od NAD⁺/NADH jest wysoce chemo- i termotolerancyjna. Ma ona budowę homodimeryczną a podjednostki (38 kDa) są stabilizowane przez jony cynku. Optymalna temperatura jej działania mieści się w zakresie 30–50°C, zaś optymalne pH wynosi 6,5 dla reakcji redukcji oraz 9,0 dla utlenienia. Enzym ten katalizuje oksydację średniołańcuchowych drugorzędowych alkoholi i asymetryczną redukcję ketonów [17]. ADH-A została użyta przez Rauter i in. do syntezy enancjomerycznie czystego 1-(S)-fenyloetanolu z acetofenonu, zaś NADH regenerowano poprzez utlenienie izopropanolu za pomocą dehydrogenazy glukozowej. W wyniku biotransformacji otrzymano 1-(S)-fenyloetanol o czystości optycznej 98,3% z 90% konwersją acetofenonu (Rys. 3) [18].



Rysunek 3. Otrzymywanie 1-(S)-fenyloetanolu z acetofenonu za pomocą ADH-A

Figure 3. Biosynthesis of 1-(S)-phenylethanol from acetophenone with ADH-A

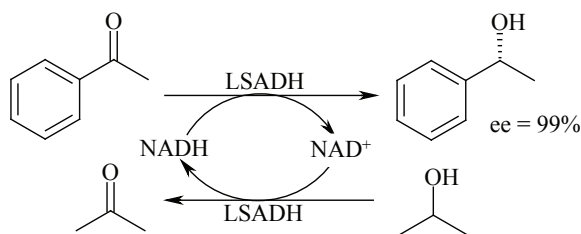
Kolejnym przykładem zastosowania dehydrogenazy alkoholowej z *Rhodococcus ruber* jest produkcja ketonu malinowego z rododendrolu w skali preparatywnej. Keton malinowy (4-(*p*-hydroksyfenyl)butan-2-on) stosuje się głównie jako składnik smakowo-zapachowy w przemyśle spożywczym. Jest obecny w owocach takich jak brzoskwinie, winogrona, jabłka oraz w korze sosny, cisu i klonu, jednakże jego ilość jest zbyt mała, aby jego izolacja z tych źródeł była opłacalna w skali przemysłowej (Rys. 4) [19].



Rysunek 4. Utlenianie rododendrolu za pomocą ADH-A
Figure 4. Oxidation of rhododendrol with ADH-A

1.4. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *LEIFSONIA SP.* (LSADH)

NAD⁺/NADH-zależna dehydrogenaza alkoholowa z *Leifsonia* wysoce enancjoselektywnie katalizuje redukcję prochiralnych ketonów, w tym pochodnych acetofenonu, 2-alkanonów i ketoestrów niezgodnie z regułą Preloga, w wyniku czego powstają (*R*)-alkohole (Rys. 5) [20]. LSADH wykazuje wysoką aktywność w reakcjach utlenienia średniołańcuchowych drugorzędowych alkoholi (C5-C8) przy czym aktywność ta jest zdecydowanie wyższa w stosunku do izomeru (*R*) niż (*S*) [21]. Enzym ten wykorzystano w połączeniu z monoooksygenazą styrenu z *Rhodococcus sp.* (SMO) do produkcji enancjomerycznie czystych (*S*)-epoksydów z pochodnych styrenu [22].



Rysunek 5. Redukcja pochodnych acetofenonu z udziałem LSADH
Figure 5. Reduction of acetophenone derivatives with LSADH

1.5. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *NOCARDIA GLOBERULA* (NGADH)

Krótko- i średniołańcuchowa dehydrogenaza alkoholowa z *Nocardia globerula* jest NAD⁺/NADH-zależnym tetramerem o masie 135 kDa. Optimum działania to 35°C i pH 6,5. Wyróżnia się specyficznością substratową w stosunku do prochiralnych alifatycznych ketonów i ketoestrów o podstawnikach większych objętościowo oraz tioestrów [2]. Przeprowadzone badania przez Parkot i in. wykazały, że enzym ten redukuje 4-chloro-3-oksobutanian etylu do (*S*)-4-chloro-3-hydroksybutanianu etylu z ee > 99% oraz 2-okso-4-fenylbutanian etylu do (*S*)-2-hydroksy-4-fenyl-

butanianu etylu z ee > 96% (Rys. 6). Co ciekawe, standardowy substrat większości znanych dehydrogenaz alkoholowych, acetofenon nie ulega redukcji.

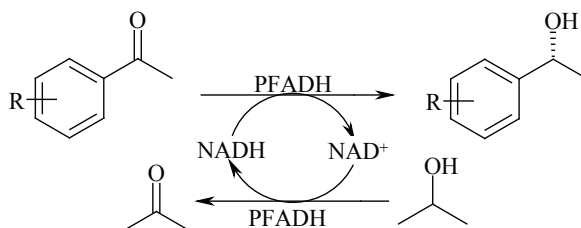


Rysunek 6. Redukcja 2-okso-4-fenylobutanianu etylu za pomocą NGADH

Figure 6. Reduction of ethyl 2-oxo-4-phenylbutanoate with NGADH

1.6. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* (PFADH)

Jak wykazały badania Hildenbrandt i in. dehydrogenaza alkoholowa z *Pseudomonas fluorescens* redukuje szeroki wachlarz arylo-alifatycznych ketonów niezgodnie z regułą Preloga, w wyniku czego powstają (*R*)-alkohole. PFADH wykazuje szeroką aktywność i stereoselektywność w redukcji acetofenonu i jego pochodnych (ee = 45–99%). Recykling kofaktora NADH zachodzi poprzez dodanie do środowiska reakcji 10–20% v/v izopropanolu (Rys. 7).



Rysunek 7. Redukcja arylo-alifatycznych ketonów katalizowana przez PFADH

Figure 7. Reduction of aryl-aliphatic ketones catalyzed by PFADH

Rezultaty desymetryzacji substratów przez PFADH przedstawiono w Tabeli 1. Najefektywniej prowadzona była biotransformacja modelowego związku, czyli acetofenonu (1). Mimo iż enzym akceptuje również pochodne tego związku, to na konwersję substratu i nadmiar enancjomeryczny znacząco wpływa natura podstawionego pierścienia. Redukcja substratu z grupą metylową (2) i grupą metoksyłową (5) przy węglu w pozycji 4 przebiegała z niską stereoselektywnością wynoszącą 42–45%. Natomiast wysokie nadmiary enancjomeryczne (ee = 91–99%) uzyskano z pochodnymi 2- i 3-metoksyacetofenonem (3, 4) oraz 4-fluoroacetofenonem (6) jako substratami. Pochodne zawierające grupę nitrową i aminową nie były akceptowane przez PFADH [23].

Tabela 1. Wyniki desymetryzacji substratów 1–6 z użyciem PFADH
 Table 1. Results of desymmetrization of substrates 1-6 using PFADH.

Substrat/R	Konwersja (%)	ee (%)	Czas (godz.)
1/H	95	92	21
2/4-Me	82	42	19
3/2-MeO	31	>99	21
4/3-MeO	89	92	19
5/4-MeO	38	45	20
6/4-F	91	91	21

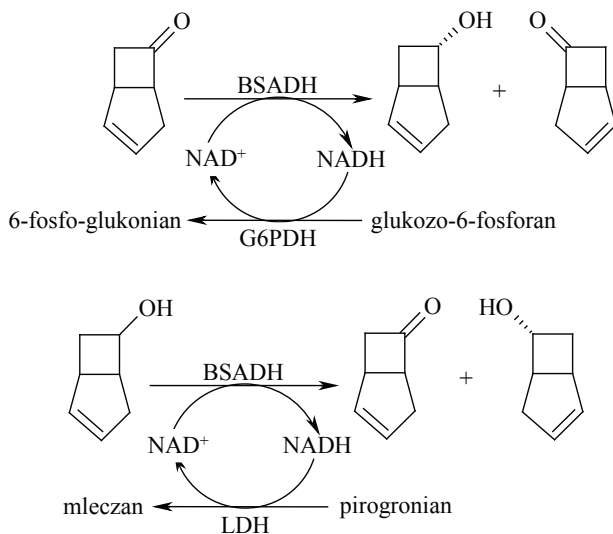
1.7. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *BACILLUS THURINGIENSIS* (BTADH)

Dehydrogenaza alkoholowa z *Bacillus thuringiensis* utlenia krótko- i średniołańcuchowe alkohole (od C2-C9) oraz redukuje proste ketony takie jak aceton, keton metylo-etylowy oraz metylo-propylowy do odpowiednich drugorzędowych alkoholi. Do tego celu wykorzystuje NAD^+/NADH jako kofaktor. BtADH często używa się do regeneracji kofaktora nikotynoamidowego, przez co może być zastosowany ponownie podczas biotransformacji. Najczęściej regeneracja zachodzi poprzez konwersję acetonu do izopropanolu lub w reakcji odwrotnej [24].

Enzymy produkowane przez hipertermofilne mikroorganizmy coraz częściej znajdują zastosowanie w biotransformacjach ze względu na to, że zachowują one swoje właściwości w warunkach denaturujących (wysoka temperatura, niekorzystne pH, obecność rozpuszczalników organicznych, SDS i proteaz) [25]. Istotne jest również to, że wysoka temperatura środowiska reakcji pozwala na użycie większego stężenia substratu oraz na uniknięcie zastosowania rozpuszczalników organicznych w stosunku do ciężko rozpuszczalnych substancji [26].

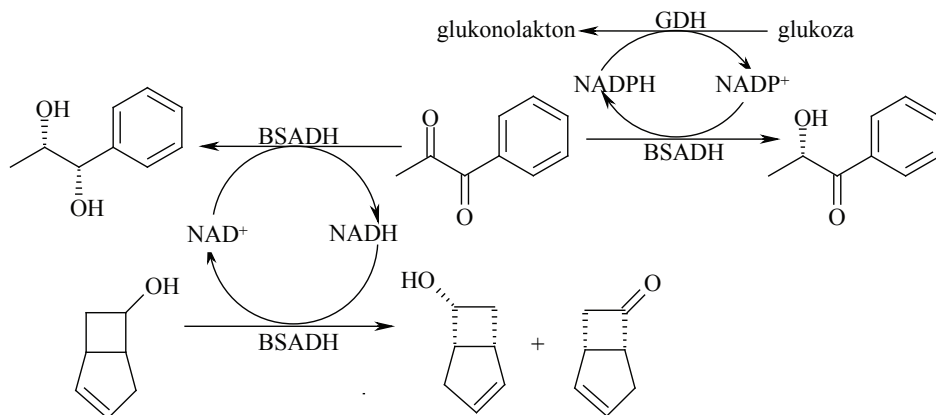
1.8. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *BACILLUS STEAROTHERMOPHILUS* (BSADH)

Jednym z termofilnych enzymów jest dehydrogenaza z *Bacillus stearothermophilus* zależna od NAD^+/NADH . W doświadczeniu opisanym przez Giovannini i in. BSADH wykorzystano do reakcji redukcji ketonów i utlenienia alkoholi. Enzym ten w obu przypadkach katalizował biotransformacje z wysoką wydajnością oraz stereoselektywnością. Pozwoliło to na uzyskanie optycznie czystych bicyklicznych ketonów i alkoholi. W reakcji redukcji do regeneracji koenzymu zastosowano dehydrogenazę glukozo-6-fosforanową, zaś przy utlenianiu dehydrogenazę mleczanową (Rys. 8) [27].



Rysunek 8. Redukcja ketonów i utlenianie alkoholi katalizowane za pomocą BSADH
 Figure 8. Reduction of ketones and oxidation of alcohols catalyzed by BSADH

W wyniku redukcji α -diketonu za pomocą dehydrogenazy alkoholowej z *B. stearothermophilus* otrzymano produkty z wysoką czystością optyczną ($ee > 98\%$) (Rys. 9). Zastosowanie BSADH zarówno do redukcji grup karbonylowych diketonu, jak i regeneracji koenzymu dostarczyło odpowiedniego diolu. Natomiast zastosowanie dehydrogenazy glukozowej do regeneracji NADH pozwoliło uzyskać (S)- α -hydroksyketony. Zatem enzymu tego można użyć do produkcji dwóch interesujących związków równocześnie.



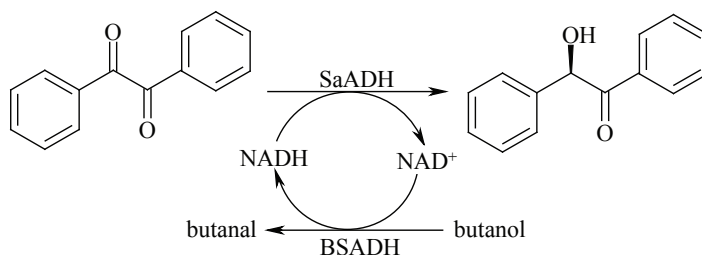
Rysunek 9. Możliwe procesy redukcji 1-fenylpropan-1,2-dionu katalizowane przez BSADH w zależności od systemu regenerującego koenzym
 Figure 9. Possible processes of reduction of 1-phenylpropan-1,2-dion catalyzed by BSADH depending on the coenzyme regenerating system

1.9. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *SULFOLOBUS SOLFATARICUS* (SSADH)

Dehydrogenaza alkoholowa z *Sulfolobus solfataricus* jest termofilnym NAD^+ / NADH -zależnym homotetramerem stabilizowanym jonami cynku. Enzym ten jest (S)-specyficzny i wykazuje aktywność w stosunku do pierwszorzędowych rozgałęzionych i alifatycznych alkoholi oraz drugorzędowych aromatycznych i alifatycznych alkoholi [28]. Optymalna temperatura dla SsADH to 50°C (czas półtrwania > 100 h), lecz zachowuje on również swoje właściwości nawet w 85°C (czas półtrwania 3 h) [23].

1.10. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS* (SAADH)

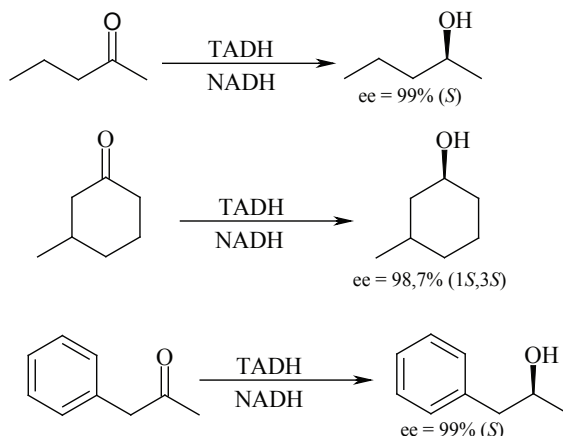
NAD^+ / NADH -zależna dehydrogenaza alkoholowa z *Sulfolobus acidocaldarius* jest tetramerem zawierającym identyczne podjednostki o masie 27 kDa zbudowane z 255 aminokwasów. Zachowuje aktywność w temperaturach sięgających nawet 88°C . Enzym ten efektywnie katalizuje redukcję alicyklicznych, bicyklicznych oraz aromatycznych ketonów i α -ketoestrów. Z kolei niską wydajność wykazuje w stosunku do alifatycznych, cyklicznych i aromatycznych alkoholi. Rysunek 10 przedstawia biokonwersję benzylu z udziałem SaADH do enancjomerycznie wzbogaczonego (R)-izomeru benzoiny (ee = 80%). Do regeneracji kofaktora użyto butanol, jako substrat w reakcji redukcji z udziałem innego enzymu – BSADH [29].



Rysunek 10. Produkcja chiralnego diarylowego alkoholu za pomocą SaADH
Figure 10. Production of chiral diaryl alcohol by SaADH

1.11. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *THERMUS SP.* (TADH)

Dehydrogenaza alkoholowa została również zidentyfikowana u hipertermofilnego drobnoustroju *Thermus sp.* TADH jest homotetramerem zbudowanym z 347 aminokwasów i jest zależna od niefosforylowanego kofaktora NAD^+ / NADH . Redukuje szereg aldehydów i ketonów takich jak 2-pentanon, 3-metylocykloheksanon i fenyloaceton do odpowiednich (S)-alkoholi z wysoką enancjoselektywnością (Rys. 11). TADH wykazuje aktywność w wysokich temperaturach sięgających nawet 100°C i toleruje obecność rozpuszczalników organicznych o stężeniu wynoszącym 50% v/v [30].



Rysunek 11. Przykładowe reakcje redukcji katalizowane przez TADH
 Figure 11. Examples of reduction reactions catalyzed by TADH

1.12. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *THERMUS TERMOPHILUS* (TTADH)

Krótkołańcuchowa $NAD^+/NADH$ -zależna dehydrogenaza alkoholowa z *Thermus thermophilus* jest tetramerem zawierającym identyczne podjednostki o masie 26 kDa zbudowane z 256 aminokwasów. Pennachio i wsp. badali TtADH1, który enancjoselektywnie redukuje, zgodnie z regułą Preloga, aromatyczne ketony i α -ketoestry takie jak acetofenon, 2,2,2-trifluoroacetofenon, α -tetralon, α -metylobenzen i α -etylobenzen (Tab. 2). Jednakże wykazuje niską aktywność względem aromatycznych alkoholi i aldehydów [31].

Tabela 2. Asymetryczna redukcja związków karbonylowych przez TtADH
 Table 2. Asymmetric reduction of carbonyl compounds by TtADH

Substrat	Konwersja (%)	ee (%)	Konfiguracja
MBF	99	91	R
α -etylobenzen	90	95	R
acetofenon	70	>99	S
2,2,2-trifluoroacetofenon	100	93	R
α -tetralon	18	>99	S

Z kolei Rocha-Martin i in. analizowali właściwości TtADH2, enzymu specyficznego w stosunku do krótkołańcuchowych substratów prowadzącego zarówno reakcję utleniania jak i redukcji w pH neutralnym. Optymalna temperatura działania enzymu to 85°C. Nie wykazuje on aktywności oksydacyjnych w stosunku do pierwszorzędowych alifatycznych alkoholi, Natomiast redukuje substraty takie jak acetofenon i 2,2,2-trifluoroaceton z wysoką konwersją i enancjoselektywnością (Tab. 3) [4].

Tabela 3. Asymetryczna redukcja prochiralnych ketonów przez TtADH2
 Table 3. Asymmetric reductions of prochiral ketones by TtADH2

Substrat	Konwersja (%)	ee (%)	Konfiguracja
acetofenon	100	71	S
2,2,2-trifluoroacetofenon	100	96	R

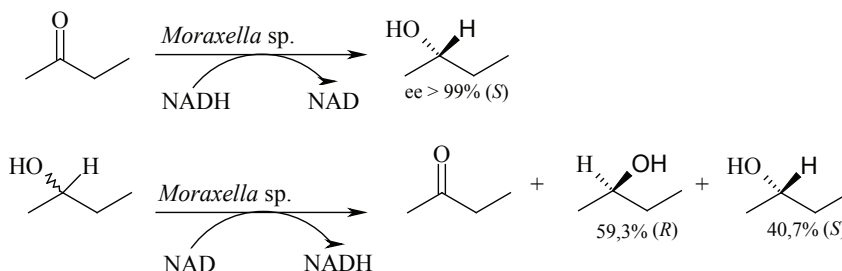
1.13. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *ACETOBACTER PASTEURIANUS*

Chinnawirotpisan i in. wyizolowali i scharakteryzowali dwie dehydrogenazy (ADH I i ADH II) z *Acetobacter pasteurianus*. Obie są zależne od NAD^+/NADH . Pierwsza z nich jest homotrimerem zawierającym podjednostki o masie 42 kDa i stabilizowane trzema jonami cynku, zaś druga dimerem zbudowanym z identycznych podjednostek o masie 31 kDa. ADH I wykazuje szeroką specyficzność substratową w stosunku do krótko- i średniołańcuchowych pierwszorzędowych alkoholi (C2-C10) i aldehydów. Z kolei ADH II preferuje średniołańcuchowe (C6-C8) drugorzędowe (R)-alkohole. Ich optimum działania to 37°C, zaś w 55°C tracą swoje właściwości po 30 min [32].

1.14. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *MORAXELLA*

NAD^+/NADH -zależna dehydrogenaza alkoholowa wyizolowana z psychrofilnego drobnoustroju *Moraxella* sp. TAE123 wykazuje głównie aktywność oksydacyjną w stosunku do pierwszo- i drugorzędowych alifatycznych alkoholi. Co ciekawe ADH z *Moraxella* sp., w przeciwieństwie do mezofilnego enzymu HLADH i termofilnego TBADH, katalizuje unikalną reakcję utlenienia benzohydrołu.

Velonia i in. przeprowadzili redukcję 2-butanonu z wykorzystaniem ADH z *Moraxella* sp. w celu sprawdzenia specyficzności transferu wodoru z NADH do substratu. Biotransformacja zaszła z 16% konwersją, a jedynym produktem był (S)-2-butanol (ee > 99%). Dodatkowo przeprowadzili utlenienie racemicznej mieszaniny 2-butanolu w wyniku czego otrzymano 59,3% (R)-2-butanolu i 40,7% (S)-2-butanolu z 16% konwersją substratu. Obydwie reakcje przeprowadzono w temperaturze 0°C (Rys. 12) [33].



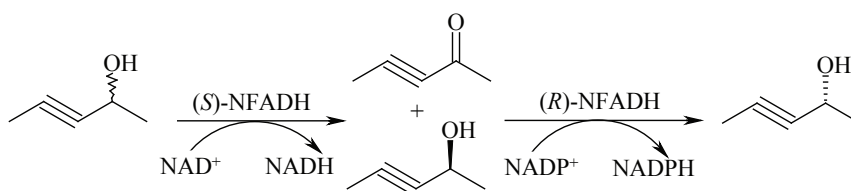
Rysunek 12. Redukcja 2-butanonu i utlenienie racemicznej mieszaniny 2-butanolu

Figure 12. Reduction of 2-butanone and oxidation of racemic mixture of 2-butanol

2. DEHYDROGENAZY ALKOHOŁOWE ZALEŻNE OD NAD⁺/NADH LUB NADP⁺/NADPH

2.1. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *NOCARDIA FUSCA* (NFADH)

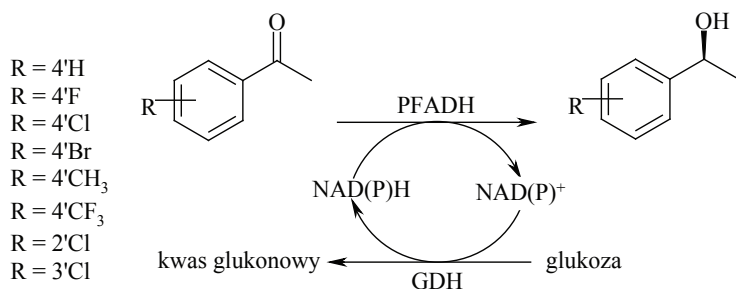
Rzadko spotykaną, choć niezwykle cenną właściwością mikroorganizmów jest odmienna specyficzność zawartych w nich dehydrogenaz w zależności od wykorzystywanego koenzymu. NAD⁺/NADH-zależna (S)-dehydrogenaza z *Nocardia fusca* (NFADH) jest zaliczana do średniołańcuchowych ADH posiadających w swojej strukturze jony cynku. Katalizuje ona głównie reakcje utleniania drugorzędowych alkoholi. Z kolei NADP⁺/NADPH-zależna (R)-ADH z *N. fusca* katalizuje redukcję ketonów do odpowiednich (R)-alkoholi. Xie i in. wykorzystali (S)- i (R)-dehydrogenazy alkoholowe tego samego szczepu *N. fusca* w celu otrzymania optycznie czynnych alkoholi (Rys. 13) [34].

Rysunek 13. Otrzymywanie optycznie czynnych alkoholi w wyniku reakcji oksydoredukcyjnych katalizowanych przez (S)- i (R)-ADH z *Nocardia fusca*Figure 13. Biosynthesis of optically active alcohols by oxidation-reduction reactions catalyzed by (S)- and (R)-ADH from *Nocardia fusca*

2.2. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *PYROCOCCUS FURIOSUS* (PFADH)

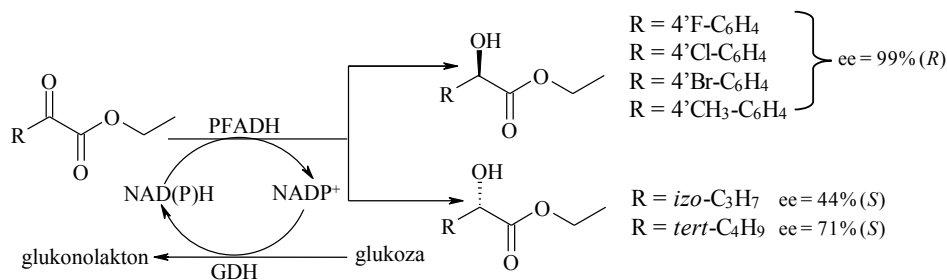
Kolejnym przykładem hipertermofilnego enzymu jest dehydrogenaza alkoholowa z *Pyrococcus furiosus* (PFADH), która jest zależna od NAD⁺/NADH oraz

NADP⁺/NADPH, a jej okres półtrwania wynosi aż 130 min w 100°C. Enzym wykazuje szeroką specyficzność substratową, szczególnie względem rozbudowanych substratów. Dunming i in. przeprowadzili asymetryczną redukcję szeregu aromatycznych ketonów i α -ketoestrów za pomocą PFADH. Badania wykazały, że enzym prowadzi redukcję ketonów arenowych oraz ketoestrów ze znacznie wyższą enancjoselektywnością, w porównaniu do alifatycznych związków. Produktami redukcji ketonów były odpowiednie (*S*)-alkohole (Rys. 14), zaś z aromatycznych ketoestrów odpowiednie (*R*)-hydroksyestry otrzymywane z ee = 99%. Alifatyczne ketoestry redukowane były natomiast do (*S*)-hydroksyestrów z mniejszą enancjoselektywnością (ee = 41–71%) (Rys. 15) [35].



Rysunek 14. Redukcja pochodnych acetofenonu za pomocą PFADH

Figure 14. Reduction of acetophenone derivatives with PFADH



Rysunek 15. Redukcja pochodnych α -ketoestru za pomocą PFADH

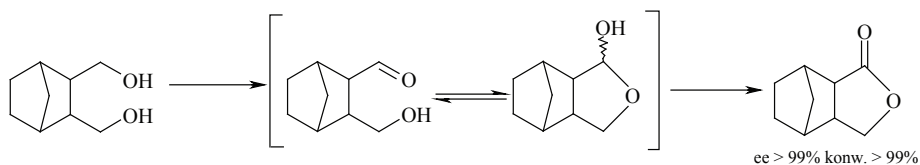
Figure 15. Reduction of α -ketoester derivatives with PFADH

2.3. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *MICROCOCOCCUS* SP.

Dehydrogenaza alkoholowa z *Micrococcus* sp. jest zależna zarówno od NAD⁺/NADH jak i NADP⁺/NADPH, jej masa wynosi 185 kDa. Optymalne pH dla reakcji utlenienia to 9,5–10, zaś dla redukcji 5,5–6,0. Jak wykazały badania Stibor i in. enzym ten utlenia krótko- i średniołańcuchowe alkohole drugorzędowe [36].

Dehydrogenazy alkoholowe pochodzenia mikrobiologicznego mogą służyć do zastąpienia ADH pochodzących z innych źródeł, lecz wykazujących specyficzną w stosunku do tych samych substratów. Przykładem jest eksperyment przeprowadzony przez Boratyńskiego i in., którzy poszukiwali mikrobiologicznego katalizatora w celu utlenienia mezo monocyklicznych i bicyklicznych dioli do odpowiednich chiralnych laktonów [37]. Poprzednio w tym celu wykorzystywano dehydrogenazę alkoholową izolowaną z wątroby końskiej (HLADH), lecz aktualnie nie jest ona już komercyjnie dostępna. Z kolei rekombinowany HLADH z *E. coli* (HLADH-rec) nie wykazuje również wysokiej stereoselektywności w stosunku do dioli jak naturalny HLADH [38, 39].

Badania skринingowe przeprowadzone wśród wielu szczepów bakterii pozwoliły wyselekcjonować *Micrococcus* sp. jako drobnoustrój najefektywniej katalizujący biotransformację mezo dioli do enancjomerycznie czystych laktonów z wysoką konwersją (72–99%), dzięki czemu drogie reakcje enzymatyczne z udziałem HLADH-rec z *E. coli* mogą zostać skutecznie zastąpione przez biotransformacje całymi komórkami *Micrococcus* sp. (Rys. 16) [37]. Wstępne badania wykazały, że dehydrogenaza alkoholowa z *Micrococcus* sp. wykorzystywana przez Boratyńskiego i in. jest zależna od NAD^+/NADH , w porównaniu do enzymu badanego przez Stibor i in., który jest zależny od obu kofaktorów.



Rysunek 16. Utlenienie mezo bicyklicznych dioli do odpowiednich chiralnych laktonów za pomocą *Micrococcus* sp.

Figure 16. Oxidation of *meso* bicyclic diols to the corresponding chiral lactones using *Micrococcus* sp.

3. DEHYDROGENAZY ALKOHOLOWE ZALEŻNE OD $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$

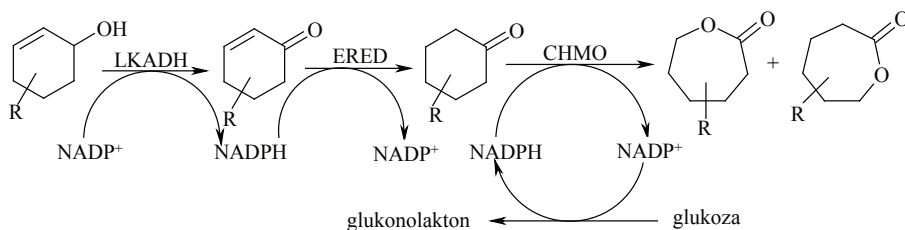
3.1. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *LACTOBACILLUS KEFIR* (LKADH)

ADH wyizolowana z *Lactobacillus kefir* jest $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ -zależna i katalizuje reakcje niezgodnie z regułą Preloga [40–42]. Biokatalizator ten jest stosowany na skalę przemysłową w reakcji redukcji głównie alifatycznych i cyklicznych związków karbonylowych, szczególnie metyloketonów z rozbudowanym drugim podstawnikiem.

Interesujące wyniki uzyskali De Temiño i in., którzy wykorzystali LKADH do redukcji hydrofobowych ketonów do odpowiednich enancjomerycznie czystych (*R*)-alkoholi. Uzyskali dzięki temu (*R*)-fenyloetanol z ee = 98% i konwersją równą

60%. Dehydrogenaza alkoholowa z *L. kefir* z powodzeniem transformowała również związki rozbudowane przestrzennie o dużej masie cząsteczkowej, takie jak α -tetralon i 1-benzyl-4-piperidon, które mogą mieć potencjalne zastosowanie w syntezie leków neuroleptycznych [43].

W celu otrzymania nasyconych cyklicznych laktonów, mogących służyć do syntezy biodegradowalnych surowców, Oberleitner i in. w ciekawy sposób zastosowali LKADH prowadząc trzyetapową reakcję enzymatyczną. Pierwszą biotransformację katalizowaną przez LKADH stanowiło utlenienie nienasyconych cyklicznych alkoholi do odpowiednich ketonów. Drugi etap polegał na redukcji podwójnego wiązania w pierścieniu cykloheksanonu za pomocą odpowiedniej reduktazy (ERED), zaś trzecim etapem było utlenianie Baeyera-Viligera poprzez zastosowanie CHMO (monooksygenaza cykloheksanolu) (Rys. 17). W wyniku kaskadowej reakcji otrzymano cykliczne laktony z wysokim nadmiarem enancjomerycznym. Najlepszy rezultat osiągnięto podczas biotransformacji (1*S*,5*S*)-karweolu (konwersja 97%, ee > 99%, czas 6 godz.) (Tab. 4) [44].



Rysunek 17. Kaskadowa biotransformacja

Figure 17. Cascade biotransformation

Tabela 4. Biokonwersja wybranych substratów za pomocą kaskadowej reakcji z LKADH, ERED i CHMO

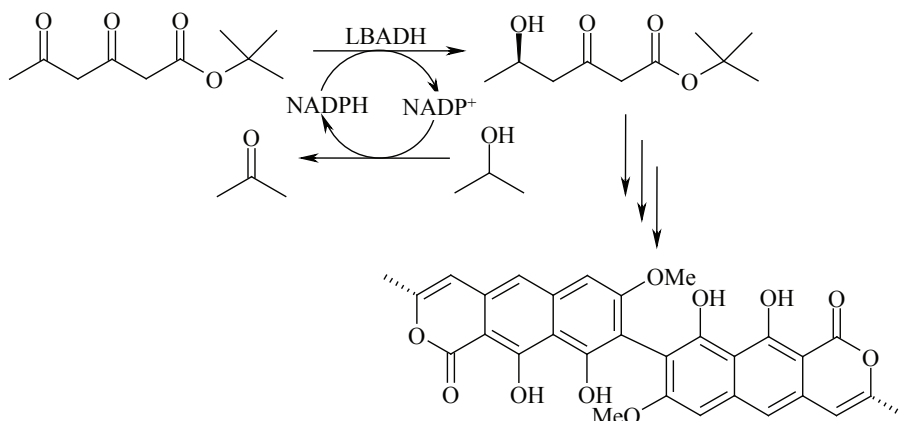
Table 4. Bioconversion of selected substrates using a cascade reaction with LKADH, ERED and CHMO

Substrat	Konwersja (%)	ee (%)
4-metylocykloheks-2-en-1-ol	>99	>99
2-metylocykloheks-2-en-1-ol	74	93
3-metylocykloheks-2-en-1-ol	82	>99
(1 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-karweol	55	>99
(1 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-karweol	99	>99
(1 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-karweol	97	>99

3.2. ALKOHOLOWA DEHYDROGENAZA Z *LACTOCOCCUS BREVIS* (LBADH)

Kolejnym $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ -zależnym enzymem katalizującym enancjoselektywną redukcję prochiralnych ketonów do (*R*)-alkoholi jest dehydrogenaza alkoholowa z *Lactococcus brevis* [45]. Enzym ten przekształcał ester *tert*-butylo-3,5-dioksoheksanowy do odpowiedniego (*R*)-hydroksyestru z wydajnością równą 78% i ee

> 99% (Rys. 18). Produkt znalazł zastosowanie jako związek pośredni w syntezie dimeru vioksantyny, która pełni ważną funkcję w utlenianiu fenolu podczas procesu tworzenia lignin [46].

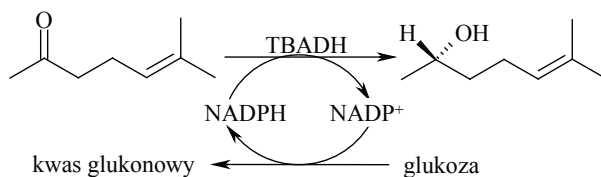


Rysunek 18. Redukcja estru *tert*-butylo-3,5-dioksoheksanowego za pomocą LBADH

Figure 18. Reduction of *tert*-butyl-3,5-dioxahexane with LBADH

3.3. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *THERMOANAEROBACTER BROCKII* (TBADH)

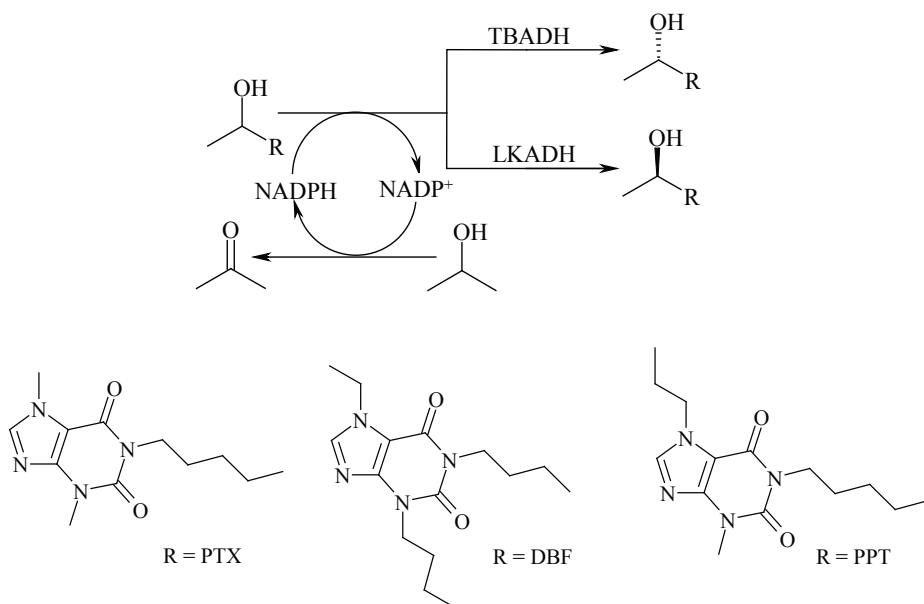
Średniołańcuchowa NADP⁺/NADPH-zależna dehydrogenaza alkoholowa wyizolowana z *Thermoanaerobacter Brockii* jest homotetramerem, a każda podjednostka zbudowana jest z 352 aminokwasów [47]. Zachowuje swoje właściwości w warunkach denaturujących takich jak wysoka temperatura (85°C) i wysokie stężenie rozpuszczalników organicznych [48]. Jej specyficzność substratowa jest bardzo szeroka i obejmuje zarówno mniejsze, jak większe objętościowo aldehydy oraz alifatyczne i cykliczne ketony. Ponadto biotransformacje z udziałem TBADH zachodzą z wysoką enancjoselektywnością. Niską wydajność wykazuje natomiast w stosunku do ketonów z długim łańcuchem alifatycznym lub pierścieniem aromatycznym. Ciekawym aspektem jest różna stereoselektywność powstających produktów, co wynika z obecności dwóch hydrofobowych domen (mniejszej i większej) wiążących substrat w centrum aktywnym. Produktami biokonwersji ketonów z niewielkim objętościowo podstawnikiem są (*R*)-alkohole, zaś o większym – (*S*)-alkohole [49]. TBADH z powodzeniem wykorzystano do produkcji feromonu jakim jest (*S*)-(+)-sulkatol poprzez wydajną konwersję (100%) i wysoce enancjoselektywną redukcję (*ee* > 99%) sulkatonu (Rys. 19) [48, 50].



Rysunek 19. Otrzymywanie sulcatolu z sulcotonu za pomocą TBADH

Figure 19. Biosynthesis of sulcatol from sulcotone with TBADH

Natomiast Pękała i Żelaszczyk przeprowadziły badania nad otrzymaniem obu enancjomerów pochodnych hydroksylowych metabolitów leków: pentoksyfiliny (PTX), denbufiliny (DBF) i propentofiliny (PPT) [51]. W tym celu zastosowano ADH z *T. brockii* i *L. kefir*. Biotransformacje z użyciem TBADH dostarczyły enancjomerycznie czystych form (S)-hydroksylowych pochodnych, zaś z LKADH izomerów R (Rys. 20).



Rysunek 20. Utlenianie hydroksylowych pochodnych metabolitów leków za pomocą TBADH i LKADH

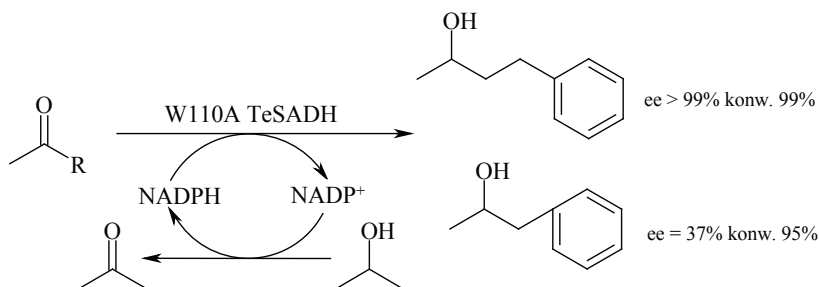
Figure 20. Oxidation of drug metabolites hydroxyl derivatives with TBADH and LKADH

3.4. ALKOHOŁOWA DEHYDROGENAZA Z *THERMOANAEROBACTER ETHANOLICUS* (TESADH)

Połączenie technik chemicznych i biologicznych może służyć również w celu poszerzenia specyficzności substratowej enzymu oraz zwiększenia jego stereoselektywności. Przykładem jest modyfikacja sekwencji białkowej drugorzędowej dehydrogenazy wyizolowanej z *Thermoanaerobacter ethanolicus*. TeSADH jest wysoce

termostabilna i zachowuje właściwości katalityczne w rozpuszczalnikach organicznych oraz wykazuje aktywność w stosunku do szerokiego wachlarza substratów.

NADP⁺/NADPH-zależny TeSADH nie jest specyficzny dla (S)-1-fenyl-2-propanolu, który jest głównym prekursorem farmaceutyków zawierających drugorzędową grupę hydroksylową. W wyniku mutacji punktowej polegającej na wymianie jednej z walin na alaninę (W110A), TeSADH katalizował biotransformację (S)-1-fenyl-2-propanonu oraz (S)-4-fenyl-2-butanonu (Rys. 20), a także produkował (S)-4-fenyl-2-butanol z benzyloacetonu z ee > 99% [52]. Mutanta W110A TeSADH wykorzystano również do racemizacji enancjomerycznie czystych form (R)- i (S)- pochodnych fenylu posiadających drugorzędową grupę alkoholową [53].



Rysunek 21. Redukcja (S)-1-fenyl-2-propanonu oraz (S)-4-fenyl-2-butanonu za pomocą mutanta W110A TeSADH

Figure 21. Reduction of (S)-1-phenyl-2-propanone and (S)-4-phenyl-2-butanone by W110A TeSADH mutant

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] T. Kołek, *Biotransformacje*, AWA, Wrocław 2005.
- [2] J. Parkot, H. Gröger, W. Hummel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, **86**, 1813.
- [3] P. Goswami, S.S.R. Chinnadaiyala, M. Chakraborty, A.K. Kumar, A. Kakoti, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, **97**, 4259.
- [4] J. Rocha-Martín, D. Vega, J.M. Bolivar, A. Hidalgo, J. Berenguer, J.M. Guisán, F. López-Gallego, *Bioresour. Technol.*, 2012, **103**, 343.
- [5] A. Dołęga, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 916.
- [6] L. Lauterbach, O. Lenz, K.A. Vincent, *FEBS J.*, 2013, **280**, 3058.
- [7] O. de Smidt, J.C. du Preez, J. Albertyn, *FEMS Yeast Res.*, 2012, **12**, 33.
- [8] O. de Smidt, J. C. du Preez, J. Albertyn, *FEMS Yeast Res.*, 2008, **8**, 967.
- [9] Y. Pocker, *Chem. Biol. Interact.*, 2001, **130-132**, 383.
- [10] E. Magonet, P. Hayen, D. Delforge, E. Delaive, J. Remacle, *Biochem. J.*, 1992, **287** (2), 361.
- [11] F.M. Dickinson, G.P. Monger, *Biochem. J.*, 1973, **131**, 261.
- [12] B. Orlich, H. Berger, M. Lade, R. Schomäcker, *Biotechnol. Bioeng.*, 2000, **70**, 638.
- [13] F.M. Dickinson, S. Dack, *Chem. Biol. Interact.*, 2001, **130-132**, 417.
- [14] T. Kometani, Y. Morita, H. Yoshii, Y. Kiyama, R. Matsuno, *J. Ferment. Bioeng.*, 1995, **80**, 180.
- [15] K. Abokitse, W. Hummel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, **62**, 380.
- [16] W. Kruse, W. Hummel, U. Kragl, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1996, **115**, 239.

- [17] B. Kosjek, W. Stampfer, M. Pogorevc, W. Goessler, K. Faber, W. Kroutil, *Biotechnol. Bioeng.*, 2004, **86**, 55.
- [18] M. Rauter, J. Kasprzak, K. Becker, K. Baronian, R. Bode, G. Kunze, H.-M. Vorbrod, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2014, **104**, 8.
- [19] B. Kosjek, W. Stampfer, R. van Deursen, K. Faber, W. Kroutil, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 9517.
- [20] K. Inoue, Y. Makino, N. Itoh, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 2539.
- [21] N. Itoh, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2014, **98**, 3889.
- [22] H. Toda, R. Imae, N. Itoh, *Tetrahedron: Asymm.*, 2012, **23**, 1542.
- [23] P. Hildebrandt, T. Riermeier, J. Altenbuchner, U. T. Bornscheuer, *Tetrahedron: Asymm.*, 2001, **12**, 1207.
- [24] A. Çelik, F. Aktaş, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2013, **89**, 114.
- [25] C.A. Raia, S. D'Auria, *Biosens. Bioelectron.*, 1995, **10**, 135.
- [26] L. Álvarez, F. Acevedo, A. Illanes, *Process Biochem.*, 2011, **46**, 1342.
- [27] P.P. Giovannini, S. Hanau, M. Rippa, O. Bortolini, M. Fagnolo, A. Medici, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 1669.
- [28] A. Pennacchio, L. Esposito, A. Zagari, M. Rossi, C.A. Raia, *Extremophiles*, 2009, **13**, 751.
- [29] A. Pennacchio, V. Sannino, G. Sorrentino, M. Rossi, C.A. Raia, L. Esposito, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, **97**, 3949.
- [30] H. Man, S. Gargiulo, A. Frank, F. Hollmann, G. Grogan, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2014, **105**, 1.
- [31] A. Pennacchio, B. Pucci, F. Secundo, F. La Cara, M. Rossi, C.A. Raia, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, **74**, 3949.
- [32] W. Kanchanarach, G. Theeragool, T. Yakushi, H. Toyama, O. Adachi, K. Matsushita, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, **85**, 741.
- [33] K. Velonia, I. Tsigos, V. Bouriotis, I. Smonou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1991, **9**, 65.
- [34] S.-X. Xie, J. Ogawa, S. Shimizu, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1999, **63**, 1721.
- [35] D. Zhu, H. T. Malik, L. Hua, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 3010.
- [36] M. Stibor, M. Potocký, A. Picková, P. Karasová, N. J. Russell, B. Králová, *Enzyme Microb. Technol.*, 2003, **32**, 532.
- [37] F. Boratyński, J. Pannek, P. Walczak, A. Janik-Polanowicz, E. Huszcza, E. Szczepańska, E. Martinez-Rojas, T. Olejniczak, *Process Biochem.*, 2014, **49**, 1637.
- [38] F. Boratyński, M. Smuga, C. Wawrzeńczyk, *Food Chem.*, 2013, **141**, 419.
- [39] T. Olejniczak, F. Boratyński, A. Białońska, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 6071.
- [40] C. Bradshaw, W. Hummel, C.H. Wong, *J. Org. Chem.*, 1992, **57** (5), 1532.
- [41] A. Weckebecker, W. Hummel, *Biocatal. Biotransform.*, 2006, **24**, 380.
- [42] P. Bisel, L. Walter, M. Nieger, W. Hummel, M. Müller, *Tetrahedron: Asymm.*, 2007, **18**, 1142.
- [43] D.M.-R. de Temiño, W. Hartmeier, M.B. Ansorge-Schumacher, *Enzyme Microb. Technol.*, 2005, **36**, 3.
- [44] N. Oberleitner, C. Peters, F. Rudroff, U.T. Bornscheuer, M.D. Mihovilovic, *J. Biotechnol.*, 2014, DOI: 10.1016/j.jbiotec.2014.04.008.
- [45] M. Eckstein, M.V. Filho, A. Liese, U. Kragi, *Chem. Commun.*, 2004, 1084.
- [46] D. Drochner, M. Müller, *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, **2001**, 211.
- [47] O. Bogin, M. Peretz, Y. Burstein, *Protein Sci.*, 1997, **6**, 450.
- [48] F.M. Bastos, T.K. França, G.D.C. Machado, G.F. Pinto, E.G. Oestreicher, L.M.C. Paiva, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2002, **19-20**, 459.
- [49] E. Keinan, E.K. Hafeli, K.K. Seth, R. Lamed, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 162.
- [50] F.M. Bastos, A.G. dos Santos, J. Jones Jr, E.G. Oestreicher, G.F. Pinto, L.M.C. Paiva, *Biotechnol. Tech.*, 1999, **13**, 661.
- [51] E. Pękala, D. Żelaszczyk, *Sci. Pharm.*, 2009, **77**, 9.

-
- [52] M.M. Musa, K.I. Ziegelmann-Fjeld, C. Vieille, J.G. Zeikus, R.S. Phillips, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 30.
- [53] M.M. Musa, R.S. Phillips, M. Laivenieks, C. Vieille, M. Takahashie, S.M. Hamdane, *Org. Biomol. Chem.*, 2013, **11**, 2911.

Praca wpłynęła do Redakcji 4 listopada 2014

SKŁAD CHEMICZNY I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA LAWENDY LEKARSKIEJ

CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF MEDICAL LAVENDER

Michalina Adaszyńska-Skwirzyńska*, Maria Swarczewicz

*Zakład Syntezy Organicznej i Technologii Leków
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Al. Piastów 42, 71-065 Szczecin
e-mail: madaszynska@zut.edu.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Skład chemiczny lawendy lekarskiej

1.1. Terpenoidy

1.2. Związki fenolowe

1.2.1. Flawonoidy

1.2.2. Fenolokwasy

1.2.3. Kumaryny

1.2.4. Garbniki

2. Aktywność biologiczna

2.1. Aktywność przeciwbakteryjna

2.2. Aktywność przeciwgrzybicza

2.3. Aktywność przeciwutleniająca

2.4. Inne aktywności biologiczne

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr inż. Michalina Adaszyńska-Skwirzyńska, absolwentka kierunku technologia chemiczna na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. W 2010 roku uzyskała tytuł magistra inżyniera, pracę dyplomową wykonywała w Zakładzie Syntezy Organicznej i Technologii Leków. Obecnie jest słuchaczką Studium Doktoranckiego przy Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej ZUT oraz przy Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT w Szczecinie, gdzie wykonuje prace doktorskie pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Marii Swarczewicz oraz prof. dr hab. inż. Danuty Szczerbińskiej. Prowadzone przez nią badania dotyczą roślinnych związków biologicznie aktywnych oraz ich wykorzystania w kosmetykach, lekach oraz hodowli zwierząt.

Prof. dr hab. inż. Maria Swarczewicz, pracownik Zakładu Syntezy Organicznej i Technologii Leków w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej, Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie od 2005. Zainteresowania naukowe: ocena zagrożeń środowiska i metody ich ograniczania w wodzie i glebie ze szczególnym uwzględnieniem środków ochrony roślin i farmaceutyków; analiza jakościowa kosmetyków. Nowy kierunek badań zespołu to: związki naturalne w kosmetykach i lekach, ich synteza i wyodrębnianie; analiza składu chemicznego; opracowanie receptur kosmetycznych oraz badania aktywności przeciwutleniających i mikrobiologicznych ekstraktów roślinnych i olejków eterycznych; poszukiwanie nowych naturalnych sorbentów do usuwania pozostałości farmaceutyków z wody.

ABSTRACT

Lavender *Lavandula angustifolia* Miller (formerly used synonym of *L. officinalis* Chaix or *L. vera*), commonly known as medical lavender is a species of greatest industrial importance. Lavender cultivated to be the most frequently due of the essential oil and the unique biological activity [1–4]. It is clear from the literature on the subject that lavender is characterized by its antimicrobial, antifungal, antioxidant, immunostimulating, and spasmolytic activity [5–18]. It is also claimed that it can be effective in preventing many illnesses. It is proved that lavender essential oil can be an effective drug in the treatment of many neurological disorders [13–18]. The research conducted on animals and humans exhibit activity this plant such as anxiolytic, sedative, sleep-inducing, analgesic, antitumor, anticonvulsant, and mood improving [13–26].

This paper presents an overview of the literature from recent years on the lavender [1–93]. The general characteristics of the plant and the main classes of biologically active substances are discussed. Drew attention to the need for standardization of plant and variety, identification of plant material for use in the following industries: pharmaceutical, chemical, cosmetic and food. It was found that there are few studies comparing the activity of different varieties of lavender. There is also little information about the chemical composition of different parts of the plant. There are current studies conducted towards natural synergies. This plant collects various types of biologically active substances that have therapeutic potential, but the lack of relevant information concerning dosage formulations lavender.

Medical lavender (*L. angustifolia* Miller) has a great potential for future applications.

Keywords: lavender (*Lavandula angustifolia*), chemical composition of lavender, biologically active substances.

Słowa kluczowe: lawenda wąskolistna (*Lavandula angustifolia*), skład chemiczny lawendy, biologicznie aktywne substancje

WPROWADZENIE

Lawenda jest rośliną pochodzącą z terenów śródziemnomorskich, która poprzez północną i wschodnią Afrykę, dotarła aż po Indie. Cały rodzaj *Lavandula* obejmuje ponad 30 różnych gatunków oraz setki odmian i jej hybryd. Trzy gatunki: *L. angustifolia* Mill. (lawenda wąskolistna), *L. stoechas* (lawenda francuska), *L. latifolia* oraz ich hybrydy to najczęściej uprawiane rośliny. Lawenda wąskolistna *Lavandula angustifolia* Mill. (dawniej synonim *L. officinalis* Chaix lub *L. vera*), nazywana zwyczajowo lawendą lekarską to gatunek o największym znaczeniu przemysłowym. Lawenda lekarska należy do najczęściej uprawianych, ze względu na olejek eteryczny oraz unikalną aktywność biologiczną [1–4]. Obecnie dzięki rozwojowi metod analitycznych oraz tendencji do poszukiwania nowych, naturalnych alternatyw w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym, lawenda lekarska cieszy się zainteresowaniem wielu badaczy.

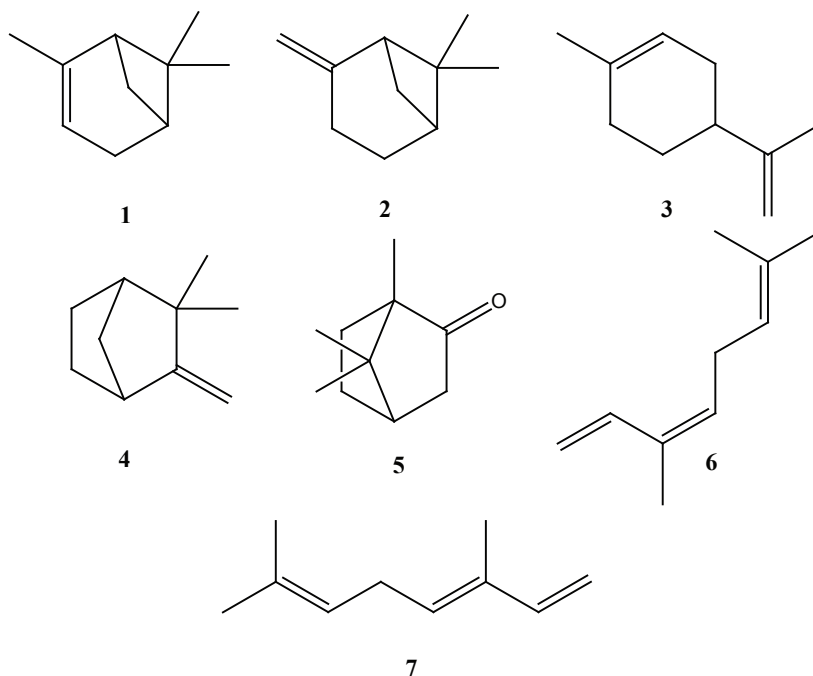
Współczesna nauka potwierdza wiele korzystnych właściwości lawendy lekarskiej analizując jej składniki chemiczne oraz określając mechanizmy ich działania. Z literatury wynika, że lawenda charakteryzuje się działaniem: przeciwbakteryjnym, przeciwrzybicznym, przeciwutleniającym, immunostymulującym, spazmolitycznym, uważa się także, że może być skuteczna w zapobieganiu wielu chorób [5–18]. Istnieje coraz więcej doniesień literaturowych wskazujących, że olejek lawendowy może być skutecznym lekiem w leczeniu wielu schorzeń neurologicznych [13–18]. Badania przeprowadzone na zwierzętach i ludziach wykazują, że lawenda ma potencjalne działanie przeciwłękowe, uspokajające, nasenne, przeciwbólowe, przeciwnowotworowe, przeciwdrgawkowe i poprawiające nastrój [13–26]. Lawenda wykazuje potencjał terapeutyczny i jako lek uzupełniający w różnych zaburzeniach, brakuje natomiast istotnych informacji dotyczących jej dawkowania. Wskazuje się w tych badaniach na niedociągnięcia metodologiczne, np. zbyt małą ilość próbek oraz krótki czas aplikacji.

W niniejszej pracy przedstawiono przegląd literatury z ostatnich lat na temat lawendy lekarskiej [1–93]. Omówiono ogólną charakterystykę tej rośliny oraz główne grupy substancji biologicznie aktywnych. Zwrócono uwagę na konieczność standaryzacji rośliny i określania odmiany surowca roślinnego w zastosowaniu w przemyśle: farmaceutycznym, chemiczno-kosmetycznym i spożywczym. Obecne badania koncentrują się na naturalnej synergii, a lawenda lekarska (*L. angustifolia* Mill.) może posiadać ten potencjał w przyszłych zastosowaniach.

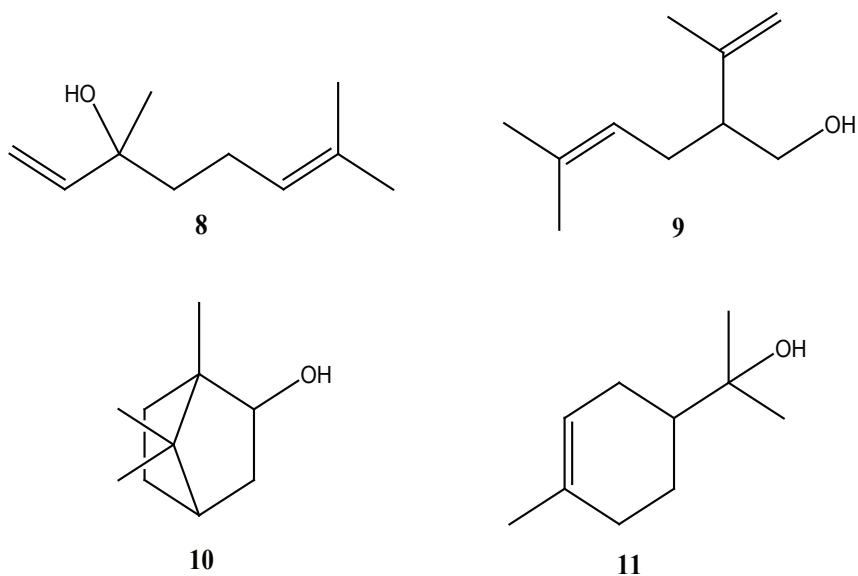
1. SKŁAD CHEMICZNY LAWENDY LEKARSKIEJ

1.1. TERPENOIDY

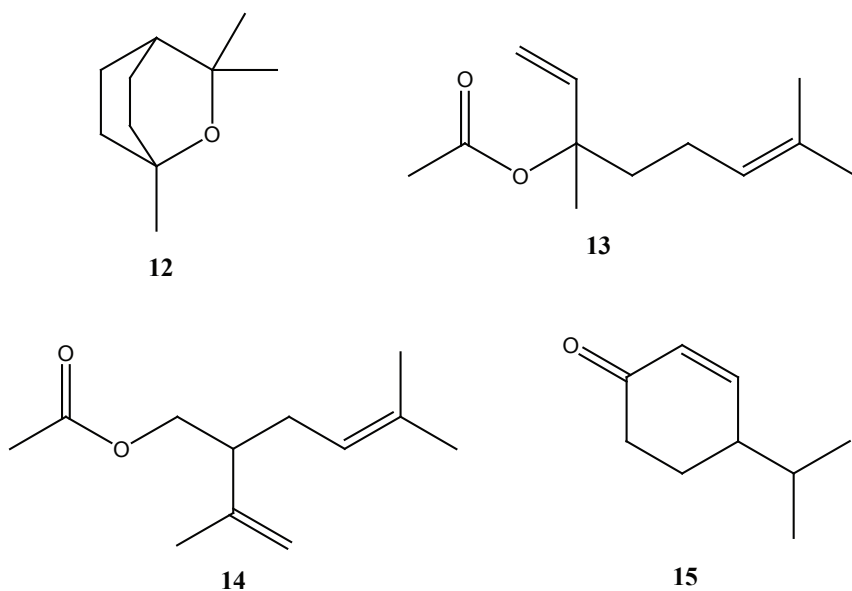
W lecznictwie ma zastosowanie jedynie olejek wyizolowany z kwiatów lawendy wąskolistnej (*L. angustifolia* Mill.), który powinien zawierać powyżej 3% olejku [1, 40, 41]. Z piśmiennictwa wynika, że głównymi składnikami olejku z *L. angustifolia* są związki terpenoidowe, w szczególności linalol i jego estry [1, 27–30]. Olejek występuje zarówno w kwiatach, jak i ulistnionej łodydze, przy czym więcej jest jego w kwiatach [1, 3]. Olejek lawendowy może zawierać ponad 100 różnych składników, głównie związków terpenoidowych [41]. Monoterpeny (Rys. 1) wchodzące w skład olejku to: α -pinen (1), β -pinen (2), limonen (3), kamfen (4), kamfora (5), *cis* i *trans* ocimeny (6-7). W olejku obecne są także alkohole monoterpenowe (Rys. 2), w tym jako główne związki: linalol (8), lawandulol (9), borneol (10), α -terpineol (11). Ponadto występują także etery, estry i ketony (Rys. 3), takie jak: eukaliptol (12), octan linalolu (13), octan lawandulolu (14) czy kripton (15).



Rysunek 1. Budowa chemiczna monoterpenowych składników występujących w olejku lawendowym
Figure 1. Chemical structure of monoterpenes as ingredients of lavender essentials oil

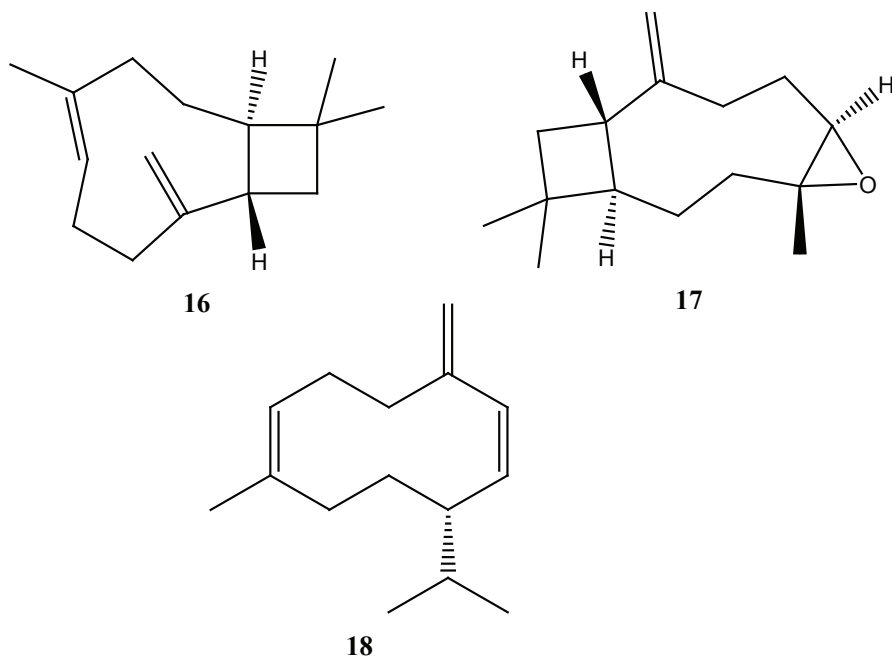


Rysunek 2. Budowa chemiczna alkoholi monoterpenowych występujących w lawendzie
 Figure 2. Chemical structure of monoterpene alcohols in lavender



Rysunek 3. Budowa chemiczna monoterpenowych eterów, estrów i ketonów występujących w lawendzie
 Figure 3. Chemical structure of monoterpene ethers, esters and ketones in lavender

Kolejną grupą związków terpenoidowych wchodzących w skład olejku lawendowego są seskwiterpeny (Rys. 4), których przedstawicielami są m.in.: kariofilen (**16**) i jego tlenek (**17**) oraz Germakren D (**18**) [1, 28, 33–35, 42].



Rysunek 4. Budowa chemiczna seskwiterpenów występujących w lawendzie
Figure 4. Chemical structure of sesquiterpenes in lavender

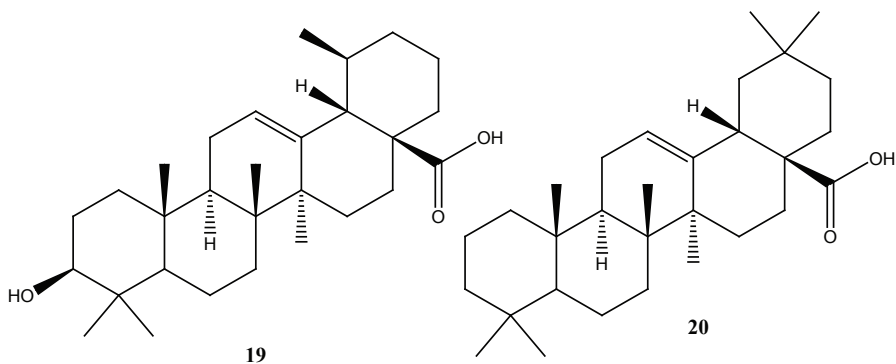
Skład olejku eterycznego izolowanego z *L. angustifolia* Mill., stosowanego do celów leczniczych, określa dokładnie Farmakopea Europejska 6, Farmakopea Polska VIII oraz norma PN-ISO 3515:2004 [40, 43, 44]. Według powyższych zaleceń olejek powinno się otrzymywać przez destylację z parą wodną. Olejek powinien być bezbarwną lub jasnożółtą, przezroczystą cieczą oraz posiadać charakterystyczny zapach. Głównymi składnikami olejku powinny być linalol (20–45%) oraz jego octan (25–46%). Procentowa zawartość innych składników powinna występować w następujących zakresach: limonen (> 1,0%), eukaliptol (< 2,5%), kamfora (> 1,2%), terpinen-4-ol (0,1–6,0%), lawandulol (< 0,1%), octan lawandulolu (< 0,2%), α -terpineol (> 2,0%) [40, 43].

Z licznych doniesień literaturowych wynika, że na zawartość i skład olejku ma wpływ czas i rodzaj destylacji [1, 27, 41, 42]. Mimo, iż lawenda lekarska jest rośliną bardzo popularną, posiadającą wiele odmian i hybryd, w publikacjach jest niewiele danych dotyczących składu chemicznego olejków eterycznych z różnych jej odmian. Jednakże najnowsze badania potwierdzają, że olejki z poszczególnych odmian *L. angustifolia* charakteryzują się zawartością tych samych głównych składników, ale występują różnice w składzie chemicznym przy niewielkich stężeniach

związków, które mogą mieć istotny wpływ na właściwości olejku [29, 30, 45, 46]. Olejek, w zależności od pochodzenia, może zawierać w swoim składzie wiele innych związków, które występują w mniejszych stężeniach. Przykładem może być olejek pochodzący z Indii, w którym zidentyfikowano cytronelol, w olejku z Serbii kadinol i octan nerolu, a w olejku pochodzącym z Chin – β -mircen [1, 4, 41]. Badania doprowadziły do hipotezy, że istnieje zależność pomiędzy takimi składnikami olejku jak, octan linalolu i ocymeny. Potwierdzono, że duży udział octanu linalolu często związany jest z niewielkim udziałem ocymenów i odwrotnie.

Współczesne badania wskazują także, że olejek eteryczny można także wyizolować z ulistnionej łodygi lawendy, która przy przemysłowej produkcji olejku lawendowego traktowana jest jako odpad poprodukcyjny. Zawartość olejku z ulistnionej łodygi mieści się w zakresie od 0,45 do 1,1%. W składzie tego olejku związkami o najwyższym udziale procentowym są eukaliptol (6,2–65,4%) oraz borneol (11,5–23,6 %) [31, 47, 48].

W lawendzie lekarskiej zidentyfikowano również związki z grupy triterpenoidów (Rys. 5). Obecność kwasu urosolowego (**19**) oraz oleanowego (**20**) wyizolowano z lawendy pochodzącej z Bułgarii. Kwasy te występują głównie w liściach, zawartość kwasu urosolowego wynosi około 0,7% w stosunku do suchej masy liścia, natomiast kwasu oleanowego 0,5%. Obecnie wiadomo, że roślina zawiera także inne związki triterpenoidowe występujące w mniejszym stężeniu, są to: kwas formylo-urosolowy, kwas epiurosolowy, kwas betulinowy, betulinę oraz lakton kwasu urosolowego [1].



Rysunek 5. Triterpenoidy w lawendzie
Figure 5. Triterpenoids in lavender

Olejek lawendowy stosowany jest w chorobach zakaźnych jamy ustnej, gardła, górnych dróg oddechowych i płuc, a także w dermatologii do leczenia trudno gojących się ran, owrzodzeń i oparzeń. W przemyśle kosmetycznym znalazł zastosowanie w produkcji soli do kąpieli, szamponów, toników, masek kosmetycznych, olejów do masażu (rozprowadzony w oleju nośnikowym, np. z jojoby lub słonecznikowym) oraz do aromatyzowania naturalnie wytworzonych kremów, balsamów czy wód toa-

letowych [1, 3, 50–54]. Olejek może być także używany do konserwacji produktów kosmetycznych [54].

1.2. ZWIĄZKI FENOLOWE

Lawenda jest cennym źródłem związków fenolowych. Związki fenolowe charakteryzują się różnorodnością pod względem budowy chemicznej oraz właściwości chemicznych, fizycznych i biologicznych, dlatego trudne jest ich usystematyzowanie. Jako kryterium podziału można przyjąć szkielet węglowy. W lawendzie występują następujące grupy polifenoli: flawonoidy, fenolokwasy, garbniki, kumaryny i jej pochodne oraz antocyjaniny (0,03 %) czy procyjanidyny (1,3–1,5 %) [1, 30–36]. Całkowita zawartość polifenoli mieści się w przedziale od 4,5 do 15,0 % [1, 46, 49, 55]. Stwierdzono, że liście lawendy charakteryzują się wyższą zawartością związków fenolowych niż kwiaty [55]. Roślina ta zawiera także sterole (cholesterol, kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol) [33, 36].

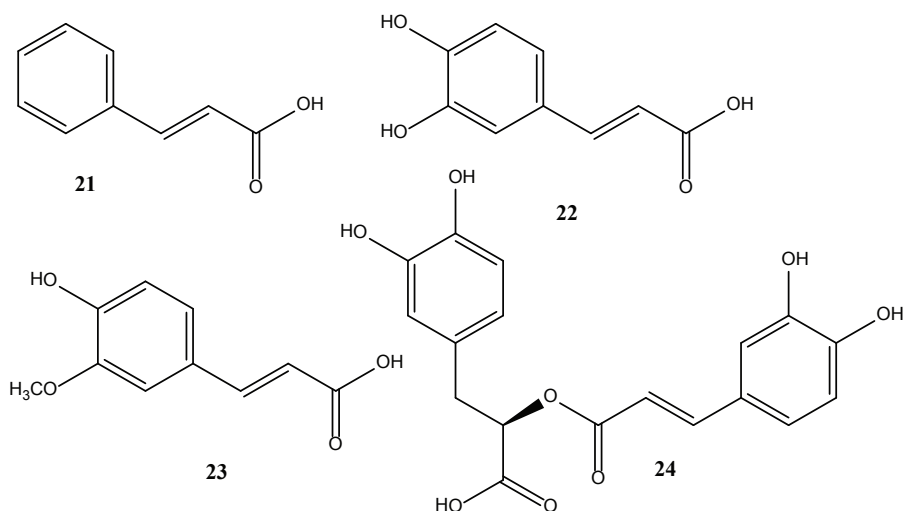
1.2.1. Flawonoidy

Flawonoidy są to związki o charakterze barwników, których częścią wspólną jest podstawowy szkielet węglowy składający się z 15 atomów węgla, tworzących ugrupowanie $C_{6-C_3-C_6}$. Flawonoidy możemy podzielić na kilka głównych klas: flawony, flawonole, flawanony, flawanole, antocyjanidyny, izoflawonoidy oraz chalcony [34]. Związki flawonoidowe charakteryzuje wielokierunkowa aktywność biologiczna, która jest wykorzystywana w celach leczniczych, terapeutycznych oraz kosmetycznych. Stwierdzono że, niektóre flawonoidy działają: uszczelniająco na naczynia krwionośne, przeciwzapalnie, przeciwutleniająco, przeciwwirusowo, przeciwdrobnoustrojowo oraz estrogenie [34, 57, 52]. Liczne prace naukowe dowodziły związku pomiędzy zawartością flawonoidów a aktywnością przeciwutleniającą, przeciwbakteryjną oraz przeciwnowotworową [34, 52]. Lawenda zawiera flawonoidy od 0,09% w kwiatach, oraz do 0,26% w liściach [1, 55]. Całkowita zawartość flawonoidów waha się od 86 mg/100 g w kwiatach, do nawet 618 mg/100 g w liściach. Należy zwrócić uwagę, że liście, w porównaniu do kwiatów, mogą zawierać aż sześciokrotnie więcej flawonoidów. Przykładem badań nad składem chemicznym liści jest praca Kyunga i in. [58], w której autorzy wykazali, że ekstrakty z liści lawendy wąskolistnej (nieznanej odmiany) zawierały 390 mg/100 g flawonoidów w przeliczeniu na katechinę. Zdaniem Bouayeda i in. [59] liście lawendy mogą zawierać aż 618 mg/100 g flawonoidów w przeliczeniu na katechinę. Przykładem niskiej zawartości flawonoidów w liściach lawendy wąskolistnej, w porównaniu do wyżej wymienionych, jest lawenda badana przez Miliauska i in., [60], w której ekstrakt z liści zawierał jedynie 30 mg/100 g flawonoidów w przeliczeniu na rutynę. W lawendzie związki flawonoidowe występują zarówno w postaci glikozy-

dów, jak i wolnych aglikonów. W postaci glikozydów najczęściej występują flawonole oraz flawony. Kwiaty i liście lawendy zawierają bogaty zestaw flawonoidów, w którym obok wolnych flawonów (luteoliny), flawanonów (naryngeniny) oraz flawonoli (mirycetyny, kemferolu), występują także ich O-, C-, oraz C-O-glikozydy, a także C-diglikozydy, m.in. rutyna, witeksyna, wicenina, cynarozyd, apigetryna, hiperozyd, 7,4-dwuglukuronid luteoliny [1]. W przemyśle kosmetycznym ekstrakty lawendowe o wysokiej zawartości flawonoidów wykorzystywane są w produkcji kremów, lotionów i okładów pielęgnacyjno-leczniczych [50, 51, 53].

1.2.2. Fenolokwasy

Do grupy fenolokwasów zaliczamy hydroksylowe pochodne kwasu benzo-esowego (kwasy fenylokarboksylowe) i cynamonowego (kwasy hydroksycynamonowe). W lawendzie występują głównie kwasy hydroksycynamonowe. Prekursorem większości kwasów fenolowych jest tyrozyna i fenyloalanina, z której w wyniku deaminacji powstaje kwas cynamonowy (**21**) oraz jego hydroksylo pochodne, których głównymi przedstawicielami są kwasy: kawowy (**22**) i felurowy (**23**) (Rys. 6) [64, 65].



Rysunek 6. Kwasy fenolowe w lawendzie

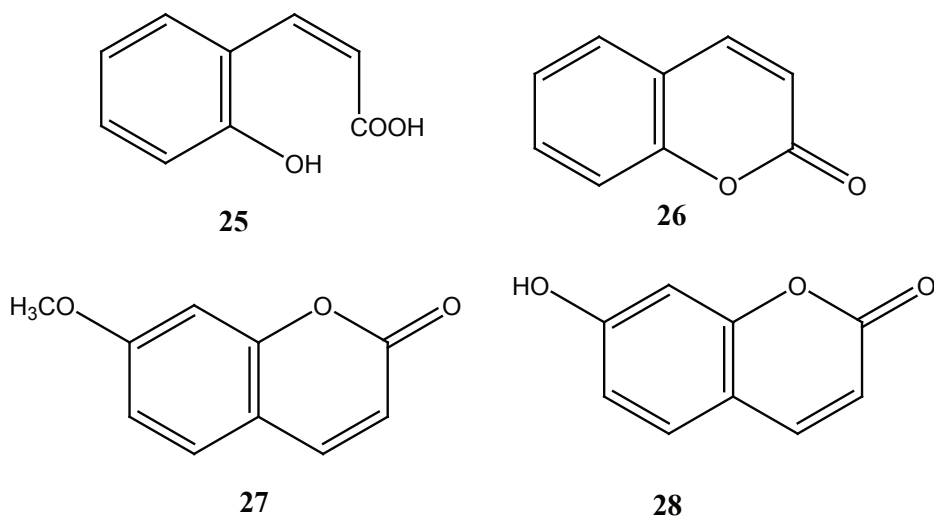
Figure 6. Phenolic acids in lavender

Kwasy hydroksycynamonowe pełnią rolę ochronną frakcji LDL przed oksydacyjną modyfikacją, w wyniku czego hamują aterosclerogenezę (proces powstawania blaszki miażdżycowej w naczyniach wieńcowych, który może prowadzić do choroby niedokrwiennej serca). Wykazują również zdolności do hamowania powstawania mutagennych związków, oraz do hamowania rozwoju choroby nowotworowej [66].

Stwierdzono, że w lawendzie zawartość fenolokwasów w kwiatach i liściach jest podobna i wynosi odpowiednio: 5,0% w kwiatach i 5,3% w liściach [46]. W kwiatach lawendy najbardziej rozpowszechnione są kwasy: rozmarynowy (**24**), kawowy oraz ferulowy [55, 64]. Fenolokwasy stanowią cenne komponenty preparatów kosmetycznych, gdyż aktywują proces złuszczenia naskórka, jednocześnie opóźniają proces jego starzenia się, co wynika z ich właściwości antyoksydacyjnych [51, 53].

1.2.3. Kumaryny

Do związków fenolowych występujących w lawendzie zalicza się także kumaryny. Kwas kumarynowy (**25**) ma samoistną tendencję do tworzenia wewnętrznego wiązania estrowego, w wyniku którego powstaje lakton kwasu cis-*o*-hydroksycynamonowego, czyli kumaryna (**26**). Badania ostatnich lat dostarczyły nowych interesujących danych o właściwościach farmakologicznych kumaryn, a do nich zaliczamy działania: uspokajające, przeciwskurczowe i rozszerzające naczynia krwionośne oraz przeciwnowotworowe [1, 57, 67]. Wśród kumaryn w *L. angustifolia* (Rys. 7) dominują kumaryna, herniaryna (**27**) oraz umbeliferon (**28**) [1, 3].



Rysunek 7. Kumaryny w lawendzie
Figure 7. Coumarins in *L. angustifolia*

Badania pokazują, że związki te mogą występować zarówno w ekstraktach z kwiatów, jak i z liści [1, 67, 69]. W niektórych pracach stwierdzono także obecność kumaryny w olejku eterycznym. Wykazano że związek ten charakteryzuje się działaniem przeciwskurczowym, przeciwbrzękowym i uspokajającym, ale także toksycznym bo uszkadza wątrobę. Kumaryna jest stosowana jako środek zapachowy ze względu na silny aromat, a także jako utrwalacz zapachu perfum i naturalnych olejków, m.in.

lawendowego [70]. Umbeliferon należy do związków o właściwościach fotoochronnych, wchodzi w skład preparatów przeciwsłonecznych. Natomiast herniaryna, czyli 7-metoksykumaryna jest związkiem chemicznym posiadającym właściwości ochronne przed promieniowaniem UV, ale może wykazywać również działanie uczulające [67–70].

1.2.4. Garbniki

Substancje garbnikowe dzieli się na dwie grupy: hydrolizujące (galotaniny i elagotaniny) oraz skondensowane. Najpowszechniej występującym i stosowanym przedstawicielem garbników jest kwas taninowy, zaliczający się do galotanin. Garbniki występujące w lawendzie odpowiadają za działania: przeciwutleniające, przeciwbakteryjne, ściągające i przeciwzapalne [57, 71, 72]. Działanie przeciwzapalne polega na wytwarzaniu powłoki ochronnej skoagulowanego białka na powierzchni błon śluzowych. Garbniki występują głównie w wodnych ekstraktach z lawendy, które są wykorzystywane w przemyśle kosmetycznym jako komponenty preparatów przeciwtrądzikowych oraz do pielęgnacji stóp. Lawenda jest surowcem bogatym w garbniki, jednakże dane na temat ich zawartości są zróżnicowane. Niektórzy autorzy wykazują, że ilość garbników w lawendzie może dochodzić do 13% [35, 55]. Według badań przeprowadzonych przez Komasa, liście lawendy mogą zawierać do 12% garbników [55]. Natomiast inne badania wykazały obecność garbników na poziomie: 0,02–1,04% w kwiatach; 0,02–0,41% w łodygach, oraz 0,03–1,17% w liściach [73]. Oznaczono też całkowitą zawartość garbników w dwóch gatunkach lawendy *L. intermedia* 'Budrovka' oraz *L. angustifolia*. Zawartość garbników w pierwszej lawendzie kształtowała się na poziomie od 0,01 do 2,02% w kwiatach, 0,04–1,01% w łodygach, oraz 0,03–2,21% w liściach. Natomiast *L. angustifolia* charakteryzowała się zawartością garbników w kwiatach od 0,05 do 2,77%, w łodygach 0,19–1,38%, a w liściach 0,22–3,18% [46]. Badania potwierdzają tezę, że zawartość procentowa garbników jest uzależniona od gatunku lawendy, gleby, czasu zbioru oraz klimatu [74].

Lawenda może być także cennym źródłem mikro- i makroelementów, a forma w jakiej występują jest z reguły łatwo przyswajalna w organizmie człowieka [37]. Zawartość żelaza w lawendzie kształtuje się na poziomie od 137 do 489 mg/kg s.m., cynku od 23 do 106 mg/kg s.m. Roślina ta zawiera stosunkowo niewielkie ilości miedzi (7,2–11,1 mg/kg s.m.). Lawenda zawiera także mangan (9,60–18,0 mg/kg s.m.). W roślinie stwierdzono zawartość wybranych makroelementów, w tym wysoki poziom wapnia (2,1–13,8 g/kg s.m.), ponad to także: potas (17,7–23,9 g/kg s.m.), magnez (1,40–4,15 g/kg s.m.) i sód (0,11–0,15 g/kg s.m.) [30, 37–39].

2. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

2.1. AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA

Ekstrakty z lawendy, a w szczególności jej olejek eteryczny charakteryzują się wysoką aktywnością wobec różnych drobnoustrojów. Istnieje wiele prac potwierdzających działanie przeciwbakteryjne olejku lawendowego, szczególnie wobec bakterii: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium smegatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salomonella typhimarium*, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* [1–4, 8–11, 29, 35, 36, 45, 49, 52, 54, 75]. Olejek lawendowy może stanowić alternatywę w zwalczaniu bakterii patogennych u ludzi, które wykształciły odporność na wiele antybiotyków i chemioterapeutyków [1, 4, 11, 75]. Udowodniono, że wykazuje silne działanie bakteriobójcze wobec *S. aureus* MRSA, a także bakterii z rodzaju *Enterococcus sp.* opornych na wankomycynę (VRE). Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, olejek lawendowy wzmacnia swoje działanie w połączeniach z innymi olejkami czy konserwantami syntetycznymi. Stwierdzono, że olejek charakteryzuje się przydatnością w leczeniu infekcji bakteryjnych. Zidentyfikowano ponad 600 możliwych kombinacji różnych olejków eterycznych, z których większość zawierała połączenia z olejkami lawendowymi. W wyniku badań *in vitro* stwierdzono, że olejek lawendowy działa silnie antyseptycznie w połączeniu z wieloma innymi olejkami (m.in. z gorzkiej pomarańczy, kminkowym, cedrowym, rumiankowym, grejpfrutowym, szałwiowym, cytrynowym) [11, 76]. Według najnowszych badań olejek lawendowy połączony w stosunku 1:1 z wybranymi olejkami (np. z olejkiem z tymianku), wykazuje zwiększony efekt hamowania względem *S. aureus*. Podsumowując, analiza mieszanin olejku lawendowego z innymi selektywnie wybranymi olejkami eterycznymi, w większości wykazała pozytywne działanie względem *S. aureus*. Tylko jedna kombinacja olejku lawendowego z olejkiem z trawy cytrynowej – wykazała efekty antagonistyczne [76].

W innym eksperymencie naukowcy przetestowali aktywność mikrobiologiczną handlowych olejków: lawendowego, cytrynowego oraz z drzewa herbacianego, w emulsjach typu O/W. Badano możliwość wykorzystania mieszaniny olejków eterycznych w układach z syntetycznymi środkami konserwującymi, np. hydantoiną, EDTA czy 3-jodo-2-propylokarbaminianem butylu. Hamująca aktywność badanych olejków ustalona na podstawie wartości MIC była następująca: olejek drzewa herbacianego > olejek lawendowy > olejek cytrynowy. Tym samym wrażliwość drobnoustrojów była następująca: *Asp. niger* > *Candida sp.* > *S. aureus* > *Ps. aeruginosa*. W eksperymencie *in vitro* drożdże i pleśnie były bardziej wrażliwe niż bakterie. Jednakże, olejki eteryczne bez syntetycznych środków konserwujących działały jak aktywny system konserwujący przeciwko bakterii *S. aureus*. Stwierdzono że, olejek lawendowy użyty w preparatach kosmetycznych może zmniejszać poziom stosowania konserwantu syntetycznego do ośmiu razy [52, 54]. Działanie zapro-

ponowanych systemów wprowadzonych w eksperymencie do lotionów i płynów do mycia, wydaje się być dość obiecujące. Jednakże możliwość interakcji pomiędzy składnikami olejku, syntetycznymi środkami konserwującymi a komponentami danego kosmetyku są trudne do przewidzenia. Z tego powodu konieczne są dalsze badania każdego układu konserwującego w konkretnym preparacie kosmetycznym.

2.2. AKTYWNOŚĆ PRZECIWGRZYBICZA

Wiele grzybów, w tym *Candida*, *Trichophyton*, *Aspergillus* czy *Fusarium* jest podatnych na działanie ekstraktów i olejków z lawendy [35, 77]. Stwierdzono, że za działanie przeciwgrzybicze lawendy mogą być odpowiedzialne monoterpeny, wchodzące głównie w skład olejku eterycznego. Hammer i wsp. wykazali aktywność monoterpenu wobec drożdżaków i grzybów nitkowatych [77]. Podczas badań okazało się, że grzyby z rodzaju *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*) charakteryzują się wrażliwością na mieszaniny monoterpenu. Wysoką aktywność przeciwgrzybiczą wykazują: terpinen-4-ol, α -pinen, β -pinen, 1,8-cyneol, linalol i 4-terpineol. Ta mieszanina metabolitów terpenoidowych hamuje także rozwój dermatofitów, w tym *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum* czy *Microsporum gypseum*. Podobnie, wzrost *Aspergillus niger* i *A. flavus* również hamowany jest przez te monoterpeny [77].

Stwierdzono, że olejek lawendowy działa silnie antygrzybiczo w połączeniu z innymi olejkami w wyniku badań *in vitro* [11, 76]. Przy połączeniu olejku lawendowego z olejkami z drzewa herbacianego nastąpiło działanie synergizujące pod względem aktywności wobec grzybów *Trichophyton rubrum* i *T. mentagrophytes* [76].

2.3. AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA

Stwierdzono, iż lawenda lekarska jest potencjalnym antyoksydantem, a materiał roślinny może być pozyskiwany zarówno z konwencjonalnej uprawy, jak i z kultur *in vitro* [2, 7-8, 73, 90]. Liczne badania wykazują, że olejek eteryczny oraz ekstrakty z lawendy lekarskiej charakteryzują się działaniem przeciwutleniającym, a ich mechanizm działania polega na terminacji reakcji wolnorodnikowych, poprzez stabilizację lub delokalizację niesparowanych elektronów, czy chelatowaniu jonów metali enzymów katalizujących reakcję utleniania [1-3, 5, 8, 35, 36]. W badaniach z wykorzystaniem rodnika DPPH przeprowadzonych przez zespół Hamada [5] stwierdzono, że olejek eteryczny z lawendy wąskolistnej pochodzącej z Iraku wykazuje silne działanie przeciwutleniające, które w zależności od stężenia olejku wynosiło odpowiednio od 2,28 do 88,91%. Inne badania potwierdziły tę aktywność olejku na poziomie 93,4% [7, 8, 35]. Jego działanie jest zbliżone do takich syntetycznych przeciwutleniaczy jak: butylohydroksytoluen (BHT), butylohydroksyanizol

(BHA) czy witamina C. Antyoksydacyjne właściwości olejku lawendowego mogą być zastosowane w ochronie żywności zawierającej tłuszcze [89]. Olejek lawendowy wykazuje aktywność przeciwutleniającą wobec kwasu linolowego, co pozwala chronić kwas linolowy przed utlenianiem, jak i hamować proces jego peroksydacji [6–8, 35, 73, 89]. Właściwości przeciwutleniające posiadają także ekstrakty lawendowe z różnych rozpuszczalników. Stwierdzono że, ekstrakty wodne charakteryzują się wyższą aktywnością niż etanolowe. Różnice te wynikają z ich składu chemicznego, gdyż różnią się ilością i rodzajem ekstrahowanych związków [7, 90, 91]. Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują także, iż wodne ekstrakty z kwiatów mogą wspomagać ochronę organizmu przed stresem oksydacyjnym [92].

2.4. INNE AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNE

Działanie na układ nerwowy

Leki pochodzenia roślinnego mogą stanowić alternatywę dla środków syntetycznych działających na układ nerwowy. Lawenda lekarska należy do roślin o potencjalnych właściwościach przeciwdrgawkowych, antydepresyjnych, przeciwłękowych, nasennych oraz uspokajających. Lawendowa aromaterapia uważana jest za skuteczną, ze względu na swoje działanie psychologiczne (związane z zapachem), oraz fizjologiczne (związane z inhalacją lotnych składników, głównie linalolu i jego octanu). Działanie na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) przypisywane jest związkowi terpenoidowemu (octanowi linalolu, linalolowi), które stanowią główną grupę olejku eterycznego z kwiatów lawendy. Tylko w nielicznych eksperymentach określony był skład preparatów lawendowych. Błędy metodologiczne i niepełna identyfikacja składu chemicznego, np. olejku eterycznego, utrudniają obiektywną ocenę znaczenia terapeutycznego lawendy. Niektóre badania określają skład i pochodzenie lawendy, istotne jest, aby wszystkie przyszłe badania kliniczne określały dokładną ilość użytych w badaniu preparatów lawendowych oraz dokładny ich skład chemiczny. Ponadto, kilka ważnych czynników nie zostało uwzględnionych w eksperymentach, np. temperatura czy wielkość obszaru skóry pacjenta, które mogą mieć istotny wpływ na poziom i tempo wchłaniania olejku lawendowego.

Istnieją doniesienia literaturowe opisujące działanie sedatywne olejku lawendowego [78, 79]. Działanie takie, według niektórych badaczy, przypisuje się także kwasowi rozmarynowemu i chlorogenowemu, flawonoidom oraz kwasom seskwiterpenowym, występujących głównie w kozłku lekarskim (*Valeriana officinalis*) [78]. Doświadczenia farmakologiczne z udziałem ludzi potwierdziły działanie sedatywne olejku eterycznego z kwiatów lawendy lekarskiej oraz jego głównych składników. Badania dowiodły, że kwiat lawendy może być stosowany w zaburzeniach lękowych oraz zaburzeniach przewodzenia pokarmowego na tle psychicznym [14–16]. Wstępne eksperymenty przeprowadzone na zwierzętach wykazały działanie przeciwlękowe

i przeciwdepresyjne. Należy jednak ostrożnie podejść do przedstawionych wyników, gdyż stwierdzono, że linalol posiada właściwości antykonwulsyjne, a większych dawkach charakteryzuje się działaniem narkotycznym, polegającym na upośledzeniu koordynacji ruchowej [17].

Stwierdzono że, olejek lawendowy wywołuje potencjalny efekt terapeutyczny w konfliktach Gellera i Vogela [18]. Efekt przeciwlękowy został porównany z chlordiazepoksydem oraz diazepamem. Porównano to w eksperymencie przeprowadzonym na myszach, które udowodniło, że silny zapach olejku lawendowego ma wpływ na działanie przeciwlękowe, porównywalne z syntetycznymi lekami [19]. Inhalacje myszy roztworem linalolu charakteryzowały się działaniem uspokajającym i przeciwlękowym, zmniejszając ich agresywność [20]. Potencjalne wzmaganie działania uspokajającego olejku lawendowego zaobserwowano także w trakcie wstrzykiwania toksyny botulinowej typu A (BotoxCosmetic), stosowanej przy korekcji zmarszczek u kobiet. W trakcie zabiegu stwierdzono znaczny wzrost aktywności układu przywspółczulnego, przy jednoczesnym zastosowaniu aromaterapii olejkiem lawendowym. Grunebaum i in. uważają, że wykorzystanie olejku lawendowego do aromaterapii u pacjentów poddawanych inwazyjnym zabiegom kosmetycznym, może łagodzić niepokój i stany lękowe [80].

Zaburzenia snu są coraz częściej występującym problemem populacji krajów zachodnio-europejskich. Pilotażowe badania kliniczne wykazały, że lawenda lekarska jest może być pomocna w leczeniu bezsenności, najczęściej przez ograniczenie latencji oraz polepszenie jakości snu. Działanie nasenne wykazują wodne i alkoholowe ekstrakty z surowca lawendowego oraz olejku eterycznego. Skuteczność działania nasennego lawend, zbadali japońscy naukowcy, którzy testowali lawendę na grupie studentów. Badania wykazały, że zapach lawendy poprawia jakość snu oraz zmniejszają senność po przebudzeniu [25]. Tezę tę potwierdzają badania porównawcze przeprowadzone przez zespół Lee [26]. Kolejnym dowodem na nasenne działanie olejku lawendowego jest test polegający na pomiarze długości snu w różnych fazach leczenia, podczas terapii olejkiem lawendowym oraz konwencjonalnej terapii farmakologicznej [81].

Zespół Sayorwana zbadał wpływ olejku lawendowego na OUN, w tym celu dwudziestu zdrowych ochotników poddano inhalacjom. Wyniki wykazały, że olejek lawendowy spowodował znaczące obniżenie ciśnienia krwi, tętna i temperatury skóry. Osoby poddane inhalacjom z olejkiem lawendowym były bardziej zrelaksowane, niż osoby wdychające olejek bazowy (migdałowy). W porównaniu z olejkiem bazowym, olejek lawendowy charakteryzował się zwiększoną mocą theta (4–8 Hz) i alfa (8–13 Hz) czynności mózgu, co dostarczyło dowodów na relaksujący efekt olejku lawendowego [22]. Inne wyniki badań sugerują, że zastosowanie aromaterapii lawendowej ma korzystny wpływ na relaksację oraz krążenie wieńcowe [23].

Działanie przeciwbólowe

Olejek lawendowy oraz jego główne komponenty (linalol oraz octan linalolu) charakteryzują się miejscowym działaniem znieczulającym, udowodnionym w testach na zwierzętach (*in vivo* i *in vitro*) [20]. W przypadku testu przeprowadzanego na królikach, wyciąg olejku lawendowego, jak i roztworu linalolu i jego octanu spowodował, zależnie od stosowanej dawki, zwiększenie liczby bodźców koniecznych, aby spowodować odruch [20]. Inhalacje lawendowe mogą być częścią multidyscyplinarnego leczenia bólu oraz depresji poporodowej [82]. Ból jest jednym z najczęściej występujących problemów pooperacyjnych, a leki stosowane, w celu jego zmniejszenia, powodują skutki uboczne. Najnowsze badania wykazują, że w leczeniu mogą znaleźć zastosowanie terapie alternatywne i uzupełniające, np. aromaterapia. W eksperymentach pod kierownictwem Olapour wykazano, że ból u kobiet po cięciu cesarskim zmniejszał się po operacji, dzięki inhalacjom lawendowym. Działanie lawendy charakteryzował znaczący spadek bólu w porównaniu z placebo. Kontrola bólu po cięciu cesarskim stanowi wielkie wyzwanie dla anestezjologów oraz ginekologów, ponieważ stosowanie leków syntetycznych może spowodować działania niepożądane, takie jak, wymioty, nudności czy nadmierną sedację. Inne badania pilotażowe na grupie dwudziestu ośmiu kobiet wykazały, że zastosowanie aromaterapii lawendą, jako terapii uzupełniającej charakteryzuje się pozytywnymi wynikami, bez ryzyka i skutków ubocznych [83].

Aktywność przeciwnowotworowa i inne własności

Interesujące są doniesienia literaturowe o wodnych ekstraktach lawendowych, które mogą charakteryzować się aktywnością cytotoksyczną w stosunku do komórek raka żołądka [84]. Przypuszcza się, że związkiem odpowiedzialnym za to działanie jest linalol. Innym związkiem mającym coraz większe znaczenie w chemoprewencji jest alkohol perylowy, który wykryto w lawendzie lekarskiej [85, 93]. Zespół Cromwell badał wpływ zarówno alkoholu perylowego, jak i D-limonenu na raka piersi w kolejnych fazach rozwoju nowotworu piersi oraz trzustki, począwszy od fazy inicjacji nowotworu, aż do detoksykacji. Zastosowanie alkoholu perylowego jest obecnie w fazie badań nad rakiem sutka [85].

Istnieją doniesienia literaturowe o zastosowaniu lawendy w leczeniu cukrzycy. Wyniki badań metanolowego ekstraktu z kwiatów lawendy lekarskiej potwierdzają jego potencjalną rolę w leczeniu dyslipidemii cukrzycowej, która jest kluczowym czynnikiem przyczyniającym się do oporności na insulinę, a także czynnikiem ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych u chorych na cukrzycę typu 2 [86].

Wykazano, że olejek z lawendy lekarskiej charakteryzuje się działaniem repellentnym, m.in., wobec kleszczy i komarów [87, 88]. Inne badania pokazały, że olejek może charakteryzować się działaniem stymulującym wzrost włosów i ograniczającym ich wypadanie. Wyniki badania klinicznego przeprowadzonego za pomocą

metody podwójnie ślepej próby, dotyczące leczenia łysienia plackowatego mieszaną pięciu olejków eterycznych (w tym lawendowego), wykazały znaczną poprawę wzrostu włosów po 7 miesiącach stosowania. Stuprocentowy olejek i szampon lawendowy były również stosowane w terapii nastolatków. Wyniki badań wykazują, że olejki i ekstrakty lawendowe stosowane w stężeniu powyżej 15% mogą charakteryzować się działaniem estrogennym, dlatego przy stosowaniu preparatów lawendowych należy zachować ostrożność [50].

PODSUMOWANIE

Lawenda była i jest intensywnie badana pod kątem aktywności biologicznej, ze względu na szerokie wykorzystanie w ziołolecznictwie, aromaterapii, medycynie czy w przemyśle kosmetycznym. Potwierdzono badaniami jej właściwości: przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze i przeciwutleniające. Najlepiej udokumentowaną ze wszystkich aktywności jest aktywność przeciwbakteryjna. Stwierdzono, że jest niewiele badań porównujących aktywności różnych odmian lawendy lekarskiej. Obecne badania koncentrują się na naturalnej synergii co przyczyni się w przyszłości do szerszego wachlarza jej zastosowania.

Zwrócono także uwagę na wyniki badań przedstawiających inne właściwości farmakologiczne lawendy lekarskiej takie jak potencjalne działanie przeciwłkowe, uspokajające, nasenne, przeciwbólowe, przeciwnowotworowe, czy przeciwdrgawkowe. Z innych właściwości lawendy lekarskiej na uwagę zasługują działania repellentne i biopestycydowe.

Rodzaj *Lavandula* jest obecnie przedmiotem badań modyfikacji genetycznych, w wyniku których powstają nowe odmiany lawendy lekarskiej. W literaturze jest jednak niewiele danych na temat składu chemicznego różnych odmian tego gatunku lawendy. Niewiele jest też informacji o składzie chemicznym w różnych częściach tej rośliny. Roślina ta gromadzi różnego rodzaju substancje biologicznie aktywne, które wykazują potencjał terapeutyczny, jednakże brakuje istotnych informacji dotyczących dawkowania preparatów lawendowych. Do pełnej oceny działania leczniczego lawendy konieczne jest powtórzenie eksperymentów, gdyż pojedyncze badania kliniczne mogą nie być obiektywne. Dowody popierające korzystne działanie lawendy powinny zostać poparte o dodatkowe czynniki, które wykluczałyby niedociągnięcia metodologiczne, np. zbyt małą ilość powtórzeń czy krótki czas aplikacji. Obecnie prowadzone są dalsze badania dotyczące mechanizmów działania lawendy i jej metabolitów oraz bezpieczeństwa ich stosowania.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Lis-Balchin, *Lavander. The genus Lavandula*, Taylor & Francis, London 2002.
- [2] H.M.A. Cavanagh, J.M. Wilkinson, *Phytother. Res.*, 2002, **16**, 301.
- [3] M. Saadatian, M. Aghaei, M. Farahpour, Z. Balouchi, *Global J. Med. Plant Res.*, 2013, **2**, 214.
- [4] M.H. Boelens, *Perf. Flav.*, 1995, **20**, 23.
- [5] K. Hamad, S. Al-Shaheen, R. Kaskoos, J. Ahamed, M. Jameel, S.R. Mir, *Int. Res. J. Pharm.*, 2013, **4**, 117.
- [6] S.A. Yang, S.K. Jeon, E.J. Lee, C.H. Shum, I.S. Lee, *Nat Prod. Res.*, 2010, **24** (2), 140.
- [7] L. Hui, L. He, L. Huan, L. XiaoLan, Z. AiGuo, *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2010, **4**, 309.
- [8] M. Soković, J. Glamočlija, P.D. Marin, *Molecules*, 2010, **15**, 7532.
- [9] T.H. Tsai, T.H. Tsai, W.H. Wu, J.T.P. Tseng, P.J. Tsai, *Food Chem.*, 2010, **119**, **3**, 964.
- [10] A. Alexopoulos, A. C. Kimbaris, S. Plessas, *Anaerobe*, 2011, **17**, 399.
- [11] S. Cassella, J. P. Cassella, I. Smith, *Internat. J. Aroma.*, 2002, **12**, 15.
- [12] R. Alnamer, K. Alaoui, H. Boudida, *Adv. Pharmacol. Sci.*, 2012, **27**, 824.
- [13] S.S. Denner, *Holistic Nursing Practice*, 2009, **23**, 57.
- [14] A. Gorji, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2003, **24**, 331.
- [15] G. Nowak, *Herba Pol.*, 2009, **55**, 90.
- [16] N. Vakili, A. Gorji, *J. Clinic. Psych.*, 2006, **67**, 1862.
- [17] A.H. Gilani, N. Aziz, M.A. Khan, *J. Ethnopharmacol.*, 2000, **71**, 161.
- [18] T. Umezu, K. Nagano, H. Ito, *Pharmacol. Biochem. Behavior*, 2006, **85**, 713.
- [19] D. Shaw, J.M. Annett, B. Doherty, J.C. Leslie, *Phytomed.*, 2007, **14**, 613.
- [20] C. Ghelardini, N. Galeotti, G. Salvatore G. Mazzanti, *Planta Med.*, 1999, **65**, 700.
- [21] W.C. Lim, J.M. Seo, C.I. Lee, *Arch. Pharmacol. Res.*, 2005, **28**, 770.
- [22] W. Sayorwan, V. Siripornpanich, T. Piriyaapunyaporn, T. Hongratanaworakit, N. Kotchabhakdi, N. Ruangrunsi, *J. Med. Assoc. Thai.*, 2012, **95**, 598.
- [23] Y. Shiina, N. Funabashi, K. Lee, T. Toyoda, T. Sekine, S. Honjo, T. Kawata, *Int. J. Cardiol.*, 2008, **129**, 193.
- [24] R. Perry, R. Terry, L.K. Watson, E. Ernst, *Phytomed.*, 2012, **19**, 825.
- [25] K. Hirokawa, T. Nishimoto, T. Taniguchi, *Percept. Mot. Skills.*, 2012, **114**, 111.
- [26] I.S. Lee, G.J. Lee, Taehan. KanhoHakhoe Chi., 2006, **36**, 136.
- [27] V.D. Zheliazkov, C.L. Cantrell, T. Astatkie, E. Jeliazkova, *J. OleoSci.*, 2013, **62**, 159.
- [28] G. Woronuk, Z. Demissie, M. Rheault, S. Mahmoud, *Planta Med.*, 2011, **77**, 7.
- [29] M. Adaszyńska, M. Swarczewicz, A. Markowska-Szczupak, *Post. Fitoter.*, 2013, **2**, 90.
- [30] M. Adaszyńska, M. Swarczewicz, A. Dobrowolska, *Prog. Plant Protection*, 2011, **51**, 19.
- [31] A. Shafaghat, F. Salimi, V. Amani-Hooshaya, *J. Med. Plant Res.*, 2012, **23**, 455.
- [32] C. Proestos, N. Chorianopolos, G. Nychas, M. Komaitis, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **5**, 1190.
- [33] A.E. Al-Niaame, R.A. Aziz, *Iraqi J. Biotech.*, 2013, **2**, 82.
- [34] B. Kumar, S. Prasher, P. Tiwari, *Internat. Pharm. Sci.*, 2011, **1**, 25.
- [35] S.A. Yang, S.K. Jeon, E.J. Lee, Ch.H. Shim, I. Lee, *Nat. Prod. Res.*, 2010, **24**, 140.
- [36] C.J. Chu, K.J. Kemper, *Lavender (Lavandula spp.)*, Longwood Herbal Task Force, [dostęp: 2014-05-02]. Dostępny w Internecie: http://www.jonnisaromatherapy.com/pdf/Chu_Lavender_Pediatric_Education_and_Research_2001.pdf
- [37] M. Ozcan, *Food Chem.*, 2004, **84**, 437.
- [38] S. Colceru-Mihul, A. Armatu, E. Draghici, S. Nita, *Rom. Biotech. Lett.*, 2009, **14**, 4792.
- [39] M. Adnan, J. Hussain, M. Tahir, Z. Shinwari, *J. Med. Plants Res.*, 2010, **4**, 339.
- [40] PN-ISO 3515:2004.

- [41] L. Stanojević, M. Stanković, M. Cakić, V. Nikolić, L. Nikolić, D. Ilić, N. Radulović, *Hem. Ind.*, 2011, **65**, 459.
- [42] A. Wesołowska, D. Jadcak, M. Greszczuk, *Herba Polonica*, 2010, **56**, 24.
- [43] *European Pharmacopoeia 6th Edition*. Strasbourg: Council of Europe, 2008.
- [44] *Farmakopea Polska wyd. VIII tom II*: 2135.
- [45] M. Adaszyńska, M. Swarczewicz, M. Dziecioł, A. Dobrowolska, *Natural Prod. Res.*, 2013, **27**, 1497.
- [46] B. Blazeković, S. Vladimir-Knezević, A. Brantner, M.B. Stefan, *Molecules*, 2010, **15**, 5973.
- [47] V. Hajhashemi, A. Ghannadi, B. Sharif, *J. Ethnopharm.*, 2003, **89**, 67.
- [48] M. Adaszyńska, M. Swarczewicz, *Materiały konferencyjne: IX Konferencja Technologię bezodpadowe i zagospodarowanie odpadów w przemyśle i rolnictwie*, 2013, 216.
- [49] D. Sabara, A. Kunicka-Styczeńska A., *Scientific Bulletin of the Technical University of Lodz, Food Chemistry, Biotechnology*, 2009, **1058**, 41.
- [50] Z.D. Drealos, *Kosmeceutyki*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2011.
- [51] B. Allemann, L. Baumann, *Skin Therapy Lett.*, 2008, **13**, 5.
- [52] A. Kunicka-Styczeńska, M. Sikora, D. Kalembe, *J. Appl. Microbiol.*, 2009, **107**, 1903.
- [53] A. Jabłońska-Trypuć, R. Czerpak, *Surowce kosmetyczne i ich składniki*. MedPharm Polska, Wrocław, 2008
- [54] A. Kunicka-Styczeńska, M. Sikora, D. Kalembe, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2011, **33**, 53.
- [55] D. Komes, A. Belscak-Cvitaović, D. Horžić, G. Rusak, S. Likić, M. Berendika, *Phytochem. Anal.* 2011, **22**, 177.
- [56] V. Nadalin, Z. Lepojević, M. Ristić, J. Vladić, B. Nikolovski, D. Adamović, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 2014, **20**, 72.
- [57] M. Adaszyńska, M. Swarczewicz, *Med. Biol. Sci.*, 2013, **1**, 5.
- [58] M.O. Kyung, H.L. Choong, L. Hjungjae, Y.L. Chang, *Food Chem.*, 2008, **106**, 929.
- [59] J. Bouayed, K. Piri, H. Rammal, A. Dicko, R. Soulimani, *Food Chem.*, 2007, **104**, 364.
- [60] G. Miliuskas, P.R. Venskutonis, T.A. Van Beek, *Food Chem.*, 2004, **85**, 231.
- [61] M. Majewska, H. Czeczot, *Terapia i Leki*, 2009, **65**, 369.
- [62] Z. Kalveniene, S. Velziene, K. Ramanauskienė, A. Savickas, L. Ivanauskas, V. Brusokas, *Acta PoloiPharmac. – Drug Res.*, 2007, **64**, 328.
- [63] V.A. Kurkin, M. Lamrini, *Chem. Nat. Compounds*, 2007, **43**, 702.
- [64] A. Arceusz, M. Wesołowski, *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2011, **64**, 4, 10.
- [65] M. Mitek, Gasik A., *Przemysł Spoż.*, 2007, **9**, 36.
- [66] U. Gawlik-Dziki, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4**, 29.
- [67] M. Saleem, M. Nazir, M. Shaig, H. Hussain, *Nat. Prod. Rep.*, 2010, **27**, 238.
- [68] D. Egan, R. O’Kennedy, E. Moran, D. Cox, E. Prosser, R.D. Thornes, *Drug Met. Rev.*, 1990, **22**, 503.
- [69] M. Askari, A. Sahebkar, M. Iranshahi, *Iran. J. Basic Med. Sci.*, 2009, **12**, 63.
- [70] E. Paulsen, A. Otkjaer, K.E. Andersen, *Contact Dermatitis*, 2010, **62**, 338.
- [71] D. Komes, A. Belščak-Cvitanovi, D. Horžić, G. Rusak, S. Likić, M. Berendika, *Phytochem. Anal.* 2011, **22**, 180.
- [72] R. Sariri, S. Seifzadeh, R.H. Sajedi, *Pharmacologyonline*, 2009, **3**, 319.
- [73] B. Blazekovic, G. Stanic, S. Pepeljnjak, S. Vladimir-Knezevic, *Molecules*, 2011, **16**, 4241.
- [74] V. López, S. Akerrreta, E. Casanova, J.M. Garcia-Mina, R.Y. Caverro, M.I. Calvo M. I., *Plant Foods Hum. Nutri.*, 2007, **62**, 151.
- [75] M. Sienkiewicz M. Wasiela, *Post. Fitoter.*, 2012, **3**, 139.
- [76] S. De Rapper, G. Kamatou, A. Viljoen, S. Van Vuuren, *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, [dostęp: 2014-05-02]. Dostępny w Internecie: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3666441/>
- [77] K.A. Hammer, C.F. Carson, T.V. Riley, *J. Applied Microbiol.*, 2003, **95**, 853.

- [78] B. Ostrowska, Z. Rzemkowska, B. Kędzia, *Postępy Fitoterapii*, 2004, **3**, 115.
- [79] H. Aoshima, K. Hamamoto, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1999, **63**, 743.
- [80] L.D. Grunebaum, J. Murdock, M.P. Castanedo-Tardan, L.S. Bauman, *J. Cosmet. Dermatol.*, 2011, **10**, 89.
- [81] M. Hardy, M.D. Smith, D.D. Stretch, *Lancet*, 1995, **346**, 701.
- [82] A. Olapour, K. Behaen, R. Akhondzadeh, F. Soltani, R. Bekhardi, *Anesth. Pain*, 2013, **3**, 203.
- [83] P. Conrad, C. Adams, *Complement Ther. Clin. Pract.*, 2012, **18**, 164.
- [84] M. Zamanian-Azodi, M. Rezaie-Tavirani, S. Heydari-Kashal, S. Kalantari, S. Dailian, H. Zali, *GastroenterolHepatol. Bed Bench*, 2012, **5**, 35.
- [85] P.L. Cromwell, *J. Nutr.*, 1999, **129**, 775.
- [86] A. Issa, M. Mohammad, M. Hudaib, K. Tawah, T. Abu Rjai, S. Oran, Y. Bustanji, *J. Med. Plant. Res.* 2011, **5**, 3876.
- [87] M. Semmler, F. Abdel-Ghaffar, J. Schmidt, H. Mehlhorn, *Parasitol Res.*, 2014, **113**, 185.
- [88] M.N. Mkolo, S.R. Magano, *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 2007, **78**, 149.
- [89] D. Djenane, M. Aider, J. Yanguela, L. Idir, D. Gomez, P. Roncales, *Meat Sci.* 2012, **92**, 667.
- [90] S. Robu, A. Miron, O. Cioanka, U. Stanescu, M. Hancianu, *Farmacia*, 2012, **60**, 394.
- [91] R. Sariri, S. Seifzadeh, R.H. Sajedi, *Pharmacologyonline*, 2009, **3**, 319.
- [92] D. Wang, X. Guo, M. Zhou, J. Han, B. Han, X. Sun, *J. Chem.* 2014, [dostęp: 2014-10-13]. Dostępny w Internecie: <http://www.hindawi.com/journals/jchem/2014/368376/#B11>.
- [93] G.H. Ripple, M.N. Gould, R.Z. Anoomanian, D. Albert i in. *Clinical Cancer Research*, 2000, **6**, 390.

Praca wpłynęła do Redakcji 20 lipca 2014

MAX RUDOLF LEMBERG (1896–1975)
– AUSTRALIJSKI BIOCHEMIK O WROCŁAWSKICH
KORZENIACH
MAX RUDOLF LEMBERG (1896–1975)
– AN AUSTRALIAN BIOCHEMIST OF WROCŁAW
ORIGIN

Jacek Wojaczyński

Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. F. Joliot-Curie 14, 50 383 Wrocław
e-mail: jacek.wojaczynski@chem.uni.wroc.pl

Abstract
Wprowadzenie
1. Breslau
2. Meinheim, Heidelberg, Cambridge
3. Sydney
Uwagi końcowe
Podziękowania
Piśmiennictwo cytowane

Dr Jacek Wojaczyński (ur. 1969 we Wrocławiu) jest absolwentem XIV Liceum Ogólnokształcącego im. Polonii Belgijskiej we Wrocławiu (1988). W roku 1993 ukończył studia chemiczne na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, a w roku 1998 na Wydziale Chemii tej uczelni obronił doktorat, poświęcony modyfikacjom metalotetraaryloporfiryn. Pracuje jako adiunkt na Wydziale Chemii UWr w Zespole Chemii Porfiryn i Metaloporfiryn. Jego zainteresowania badawcze dotyczą układów oligoporfirynowych, hemoprotein, a w ostatnim okresie koncentrują się wokół zagadnień związanych z procesami degradacji cyklicznych połączeń oligopirrolowych (porfiryny, korole).

ABSTRACT

The article is devoted to Max Rudolf Lemberg (1896–1975), known primarily as an author of pioneering works on bile pigments and porphyrin degradation (in particular, coupled oxidation), and to his connections with Wrocław. This Australian biochemist of German origin was born in that city to an assimilated Jewish family. He was educated by a private teacher, and in 1905 he entered the famous liberal Johannes Gymnasium in Breslau (its building now houses Economics and Administration Schools). After leaving school in 1914, shortly before the war broke out, Lemberg began studies on natural sciences at the University of Breslau. He volunteered for an army, but was not accepted until 1917. Wounded in the Somme offensive in 1918, he resumed his studies to finish with a doctorate on the chemistry of uric acid derivatives (1921). He then became a private assistant to his Ph.D. supervisor, Professor Heinrich Biltz. However, a few years later, Biltz advised him to look for a job in the industry, and Lemberg moved to Meiningen to work for a pharmaceutical company. He often visited his native city where his parents and brother were living; in Breslau he also married Hanna Clausen in 1924. A grant from Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft and job offer from Karl Freudenberg of University of Heidelberg allowed Lemberg to come back to the scientific work, in which he decided to focus on biochemical studies. From these days dates his interest in bile pigments which led him to the habilitation in 1930. He then continued his work on linear tetrapyrroles during Rockefeller Foundation Fellowship in Cambridge. Shortly after his return to Heidelberg, Nazis came to power in Germany and proclaimed the Beamtengesetz act which stated that all people of Jewish origin as well as members and supporters of opposition parties should be fined from the civil service. This ended his academic career of Lemberg in Germany. Rudolf moved to Cambridge with Hanna, however, since not all refugees could stay in the Great Britain, in 1935 he accepted a proposal from the Royal North Shore Hospital in Sydney to work as a research biochemist. The Lembergs immigrated to Australia to begin the new chapter in their life; a few years later Walter, Rudolf's brother, joined them with his family. The first years were particularly hard since the progress in the scientific work was hampered by the lack of modern laboratory equipment and experienced coworkers. In 1946, first of Lemberg's books, *Hematin Compounds and Bile Pigments*, co-authored by John Legge, was issued. In the following years, Rudolf broadened his interests to cytochrome *c* oxidase and heme A, one of the enzyme prosthetic groups. His investigations in the field were summarized in the second monograph written with Jack Barrett („*The Cytochromes*”, 1973). His scientific interests were not limited to chemistry: he devoted several papers and lectures to the problem of life origins and to the connections between religion and science. Rudolf Lemberg was one of the founders of Australian Academy of Sciences and Australian Biochemical Society. He died in Sydney in 1975.

Keywords: Australian chemists, German chemists, scientists born in Wrocław (Breslau), investigators of heme degradation process, experts on bile pigments chemistry

Słowa kluczowe: chemicy australijscy, chemicy niemieccy, naukowcy urodzeni we Wrocławiu (Breslau), badacze procesu degradacji hemu, specjaliści chemii barwników żółciowych

WPROWADZENIE

Po latach wymazywania pamięci o niemieckiej przeszłości Wrocławia, coraz śmielej i częściej zaczynamy do niej sięgać i nawiązywać. Doceniamy architekturę Maksa Berga, Carla Ferdinanda Langhansa, Richarda Plüddemanna czy Richarda Konwiarza, podziwiamy malarstwo Michaela Willmanna – „śląskiego Rembrandta”, który osiadł w pobliskim Lubiążu. Wraz z Eberhardem Mockiem, bohaterem powieści Marka Krajewskiego, zagłębialiśmy się w mroczne zakątki przedwojennego i wojennego Breslau. Stopniowo poznajemy też dokonania uczonych związanych ze stolicą Dolnego Śląska. Na terenie dzisiejszego Wrocławia urodzili się laureaci Nagrody Nobla: Fritz Haber (ur. 1868, zm. 1934 w Bazylei, laureat w dziedzinie chemii z roku 1918), Max Born (ur. 1882, zm. 1970 w Getyndze, laureat w dziedzinie fizyki z 1954 roku), Friedrich Bergius (ur. 1884 w Goldschmieden – dziś to wrocławskie osiedle Złotniki, zm. 1949 w Buenos Aires, laureat z chemii z roku 1931), a także Reinhard Selten (ur. 1930), który w 1994 roku otrzymał Nagrodę Banku Szwecji im. Alfreda Nobla w dziedzinie ekonomii. Kilku kolejnych noblistów uczyło się we wrocławskich szkołach (Paul Ehrlich, Otto Stern, Gerhart Hauptmann), studiowało na Uniwersytecie Wrocławskim (Ehrlich, Stern, Hans Georg Dehmelt) lub na nim wykładało (Theodor Mommsen, Philipp Lenard, Eduard Buchner, Erwin Schrödinger). Nie każdy z nich zapisał się w historii nauki jedynie złotymi zgłoskami – Haberowi pamięta się osobiste zaangażowanie w produkcję i testowanie gazów bojowych na frontach I wojny światowej, Lenard, fanatyczny nacjonalista i antysemita, współtworzył „fizykę niemiecką”, wolną od wpływów myśli nierearyjskiej.

Często jednak właśnie do tych nazwisk ogranicza się znajomość osiągnięć przedwojennej wrocławskiej nauki. Ktoś może doda jeszcze lekarzy, pracujących w Klinice Psychiatrycznej Aloisa Alzheimerera i Carla Wernicke czy profesora Uniwersytetu Alberta Neissera. Warto może wymienić jeszcze kilka uznanych w świecie postaci, o których wspomina się rzadziej. Wrocławianami z urodzenia byli: wybitny socjolog Norbert Elias (ur. 1897, zm. 1990 w Amsterdamie), Felix Hausdorff (ur. 1868, zm. 1942 w Bonn), matematyk, uważany za jednego z twórców topologii, Arthur Korn (ur. 1870, zm. 1945 w Jersey City), fizyk i wynalazca, który opracował system przesyłania obrazów na odległość (pierwowzór telefaksu) oraz Karl Steinmetz (Charles Proteus Steinmetz, ur. 1865, zm. 1923 w Schenectady, USA), matematyk, współpracownik Edisona, autor ponad 200 patentów; jego prace przyczyniły się w znacznym stopniu do rozwoju silników elektrycznych. We Wrocławiu (w 1931 roku) urodził się także Michael Oser Rabin, informatyk, specjalista w dziedzinie kryptologii, laureat Nagrody Turinga, doktor *honoris causa* Uniwersytetu Wrocławskiego z roku 2007. Z dziedziny biochemii na wymienienie zasługują chociażby Vernon Ingram (ur. 1924, zm. 2006 w Bostonie), odkrywca molekularnych podstaw anemii sierpowatej, Heinz Fraenkel-Conrat (ur. 1910, zm. 1999 w Oakland), który ustalił sekwencję RNA wirusa mozaiki tytoniu oraz Karl Slotta (ur. 1895, zm. 1987 w Miami), pamiętny dzięki pracom nad wyizolowaniem i określeniem struktury progesteronu. Mało znany jest fakt, że właśnie we Wrocławiu przyszedł na świat



Fot. 1. Max Rudolf Lemberg
(1896–1975)

Photo 1. Max Rudolf Lemberg
(1896–1975)

fizyk Fritz London (ur. 1900, zm. 1954 w Durham), którego nazwisko kojarzone jest przez chemików z siłami dyspersyjnymi.

Znamienne jest to, jak niewielu spośród wymienionych dane było swobodnie rozwijać swoją karierę naukową w Niemczech. Większość z racji pochodzenia lub poglądów politycznych zostało zmuszonych do emigracji z Rzeszy w latach 30. XX wieku, czego wymowną ilustracją mogą być wymienione przy każdym z nazwisk miejsca, w których zmarli (Born powrócił do Niemiec w latach pięćdziesiątych, spędziwszy dwadzieścia lat na wygnaniu). Jak zobaczymy, los emigranta stał się również udziałem bohatera niniejszego tekstu, którego wichry historii zagnały aż do dalekiej Australii.

Nic więc dziwnego, że postać Rudolfa Lemberga (Fot. 1) jest doskonale znana na antypodach, zwłaszcza w środowisku biochemików, a nieco mniej w Europie. Nazwisko to nieobce jest jednak również wielu chemikom zajmującym się chemią porfiryn, a przede wszystkim procesami ich degradacji. Do dziś cytowane są klasyczne prace Lemberga z końca lat 30, dotyczące opracowanej przez niego metody sprzężonego utleniania hemu [1, 2]. Sam niejednokrotnie przytaczałem je w swoich publikacjach, nie zdając sobie sprawy, że ich autor, podobnie jak ja, urodził się we Wrocławiu, ukończył tu studia uniwersyteckie i obronił pracę doktorską z chemii. Gdy natrafiłem przypadkiem na te informacje, zaintrygowany zacząłem zgłębiać życiorys Lemberga, a poznawszy szereg interesujących faktów stwierdziłem, że warto, by również inni poznali tę nietuzinkową postać.

Obszerny opis swojej drogi życiowej zawarł Rudolf Lemberg w autobiograficznym artykule zatytułowanym „Chemist, biochemist and seeker in three countries” [3]. Na materiale tym oparte są też w znacznej mierze prace wspomnieniowe [4, 5]; w publikacji [4] znaleźć można ponadto pełną bibliografię prac Lemberga oraz zestawienie uzyskanych przezeń nagród i wyróżnień. Niniejszy artykuł, bazujący również w części na tych źródłach, koncentrować się będzie przede wszystkim na wrocławskim okresie życia uczonego.

1. BRESLAU

Max Rudolf Lemberg (w późniejszym okresie życia używał jedynie drugiego imienia) urodził się we Wrocławiu 19 października 1896 roku. Rok ten zapisał się w szczególnie sposób w miejskich kronikach z racji wrześnieowych Dni Cesarskich, podczas których Wilhelm II gościł tu cara Mikołaja II. Kajzer odsłonił wówczas pomnik przedstawiający Wilhelma I na koniu (dziś w jego miejscu stoi konny posąg Bolesława Chrobrego), a w sali Domu Koncertowego przy Gartenstrasse 39-41 (obecnie



Fot. 2. Kilkuletni Max Rudolf Lemberg
Photo 2. Max Rudolf Lemberg as a small boy

ul. Piłsudskiego, budynek nie przetrwał wojny) odbył się pierwszy w mieście pokaz kinematografu [6].

Rodzina Lembergów pochodziła ze Lwowa (upamiętnione jest to w ich nazwisku, będącym niemiecką nazwą tego miasta). Do niemieckiego Wrocławia przywędrował dziadek Rudolfa, który był z zawodu drukarzem. Jego syn, Arthur Lemberg (ur. 1867), został cenionym prawnikiem, w roku 1888 obronił na Uniwersytecie Wrocławskim doktorat z prawa handlowego („Vertragsmäßige Beschränkungen der Gewerbe- und Handelsfreiheit”). Z kolei matka Rudolfa, Margarete (ur. 1873) pochodziła z kupieckiej rodziny Wendrinerów osiadłej na Dolnym Śląsku w czasach Fryderyka Wielkiego. Lembergowie należeli do w pełni wyemancypowanych, wykształconych rodzin żydowskich ówczesnego Wrocławia. Młodszy brat Rudolfa, Walter, przyszedł na świat w 1898 roku.

To on miał później kontynuować rodzinne tradycje prawnicze, odziedziczył także po matce zamiłowanie do muzyki (grał na altówce). Z kolei Rudolf (Fot. 2) od wczesnych lat wykazywał zainteresowania przyrodnicze, rozwijane przez prywatnego nauczyciela. Okazją do poznawania dolnośląskiej flory i fauny były piesze wędrówki, które odbywał początkowo z rodzicami, a później w gronie kolegów. Po dwóch latach nauczania początkowego, w 1905 roku rozpoczął naukę w Gimnazjum Świętego Jana (Johannesgymnasium). Szkoła ta, znana także jako Johanneum, była swoistym fenomenem na tle ówczesnych Niemiec. Otwarta w roku 1872 przy Paradiesstrasse (w istniejącym do dziś budynku pod adresem Worcella 3 mieści się Zespół Szkół Ekonomiczno-Administracyjnych, (Fot. 3, 4)) była zgodnie z intencją władz miejskich otwarta dla uczniów wszystkich wyznań, traktowanych w sposób równoprawny [8]. Wkrótce stała się miejscem elitarnym, do którego posyłali swoje dzieci wrocławscy urzędnicy, lekarze czy prawnicy. Wśród znanych absolwentów Johanneum znaleźć można wymienionych już Ottona Sterna, Norberta Eliasa czy Karla Steinmetza. Duch liberalnego humanizmu, jaki panował w gimnazjum, nie mógł się podobać nazistom, którzy po dojściu do władzy doprowadzili do jego zamknięcia w roku 1933. Niewątpliwie atmosferą Johanneum prześląknął także Rudolf Lemberg; wiadomo też, że ze szkoły wyniósł znajomość greki, łaciny i podstaw matematyki.



Fot. 3. Budynek mieszczący Zespół Szkół Ekonomiczno-Administracyjnych im. Marii Dąbrowskiej we Wrocławiu, do 1933 roku siedziba Gimnazjum św Jana
 Photo 3. A building housing Maria Dąbrowska Economics and Administration Schools, before 1933 Johannes Gymnasium



Fot. 4. Baner na budynku szkoły nawiązujący do przedwojennej tradycji
 Photo 4. A banner on the school building, referring to the pre-war tradition

W czasach szkolnych zetknął się młody Rudolf z ruchem Wandervogel, którego celem było propagowanie kultu ojczystej przyrody, głoszącym hasła wolnościowe i patriotyczne, podobnym, choć mniej zideologizowanym i o mniejszych rygorach organizacyjnych niż rodzący się skauting. W późniejszych latach Lemberg zaangażował się – już jako instruktor – w działalność niemieckiego ruchu młodzieżowego, co zresztą w pewnym okresie życia sprawiało mu więcej satysfakcji niż praca naukowa. Swoją pasję dzielił z późniejszą żoną – jak on wrocławianką.

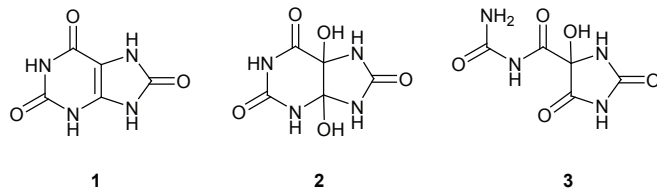
Po ukończeniu gimnazjum w roku 1914 Rudolf Lemberg rozpoczął studia na Uniwersytecie Wrocławskim – zgodnie ze swoimi zainteresowaniami wybrał przyrodoznawstwo, obejmujące chemię, fizykę, mineralogię i geologię. Jak to wówczas było praktykowane, wzbogacał swoją edukację podczas letnich wyjazdów na uniwersytety w Monachium (1915) i Heidelbergu (1916). W Archiwum Uniwersytetu Wrocławskiego zachowały się indeksy z lat 1914 i 1915; z zapisów archiwalnych wynika także, że mieszkał wówczas na Schwiednitzer Stadtgraben 10, czyli obecnej ulicy Podwale, w budynku sąsiadującym dziś z domem towarowym o tej samej nazwie (Fot. 5).

Rozpoczęcie studiów przez Rudolfa Lemberga zbiegło się w czasie z wybuchem I wojny światowej. Podobnie jak wielu młodych ludzi, zgłosił się on jako ochotnik do wojska, jednak ze względu na stan zdrowia został dwukrotnie odrzucony przez komisje medyczne. Dzięki temu mógł kontynuować studia aż do lata 1917 roku, kiedy wreszcie wstąpił do pruskiej armii. Odznaczył się nawet w czasie niemieckiej ofensywy nad Sommą wiosną 1918 roku, ranny podczas naprawy linii telefonicznej, za co otrzymał Krzyż Żelazny II klasy. Przeżycia wojenne i przemyślenia nad tym, jak brutalny wojskowy dryl zmienia człowieka, uczyniły Lemberga zdeklarowanym pacyfistą. W tym czasie przeszedł także na luteranizm.



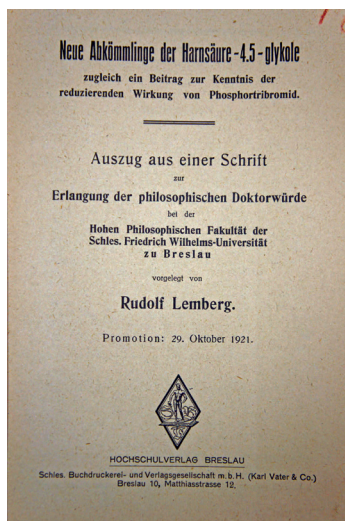
Fot. 5. Budynek przy ul. Podwale 36, w którym sto lat temu mieszkał Rudolf Lemberg. Wieżyczka wieńcząca niegdyś elewację nie przetrwała wojny
 Photo 5. A house at 36 Podwale St. In which Rudolf Lemberg lived one hundred years ago. A turret crowning the elevation did not survive the war

W roku 1919 Lemberg powrócił na Uniwersytet Wrocławski, by podjąć przerwane studia, uwieńczone wkrótce doktoratem z chemii. Jego promotorem był Heinrich Biltz (1865-1943), znany dziś głównie z opisaney w roku 1908 syntezy fenytoiny, która później znalazła zastosowanie jako lek przeciwdrgawkowy.

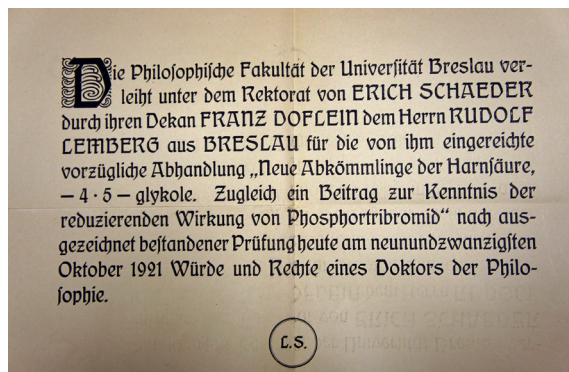


Rysunek 1. Kwas moczowy (1, pokazano jeden z tautomerów). Poje i współpracownicy wykazali, że pierwotny produkt jego utleniania, któremu Biltz przypisał strukturę glikolu 2, w rzeczywistości powinien być opisany wzorem 3 [9]

Figure 1. Uric acid (1, one of tautomers shown). Poje and coworkers proved that its primary oxidation product, which was assigned the glykol structure 2 by Biltz, should in fact be described by formula 3 [9]



Fot. 6. Wyciąg z doktoratu R. Lemberga
Photo 6. An extract from R. Lemberg's
Ph. D. thesis



Fot. 7. Poświadczenie uzyskania tytułu doktora
przeznaczone do archiwum
Photo 7. Certification of a doctoral degree
intended for the archive

W czasie pracy na Uniwersytecie Wrocławskim w latach 1911–1933 zajmował się on głównie chemią kwasu moczowego (Rys. 1) i tej właśnie tematyki dotyczył doktorat Rudolfa Lemberga. Pracę zatytułowaną „*Neue Abkömmlinge der Harnsäure-4,5-glykole. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der reduzierenden Wirkung von Phosphortribromid*” (Nowe pochodne 4,5-glikolu kwasu moczowego. Przyczynek do wiedzy o redukcyjnych właściwościach trójbromku fosforu) ukończył w roku 1921 (Fot. 6 i 7), zdając egzaminy doktorskie z wyróżnieniem (*summa cum laude*), po czym przyjął ofertę zatrudnienia na Uniwersytecie Wrocławskim jako prywatny asystent Heinricha Biltza.

Podjęcie pracy poprzedziła trzymiesięczna wędrówka wzdłuż Odry i niemieckiego wybrzeża ze starszym o rok Karlem Slottą. Warto poświęcić tej postaci choć parę zdań – zainteresowani pełniejszym rysem biograficznym mogą sięgnąć do literatury [10, 11]. Uderza podobieństwo dróg życiowych dwóch przyjaciół: obaj urodzeni we Wrocławiu, ukończyli tu gimnazja, a ich dalszą edukację przerwała wojna. Karl Slotta, dwukrotnie poważnie ranny, dosłużył się stopnia porucznika i dwóch

Żelaznych Krzyży. W 1919 roku stanął się przed obliczem znanego już nam Heinricha Biltza, który mimo braków w wykształceniu kandydata przyjął go na studia chemiczne na Uniwersytecie Wrocławskim. Już w 4 lata później Karl Slotta zakończył je doktoratem i rozpoczął pracę jako prywatny asystent Biltza, by później osiągnąć kolejne szczeble akademickiej kariery, aż do profesury na wrocławskiej Alma Mater w roku 1935. Jego badania z tego okresu dotyczyły szeroko rozumianej chemii farmaceutycznej, a najbardziej znanym osiągnięciem kierowanego przez niego zespołu było wyizolowanie i określenie struktury progesteronu (1934). Gdy dalsza praca w nazistowskich Niemczech okazała się niemożliwa, wyemigrował wraz z rodziną do Brazylii, a po 21 latach spędzonych w São Paulo zaakceptował propozycję z Uniwersytetu w Miami, na którym pracował do lat 80.; zmarł w roku 1987. Spośród licznych dokonań Karla Sloty na szczególną uwagę zasługują badania jadu grzechotnika straszliwego (*Crotalus durissus terrificus*), w części prowadzone wspólnie ze szwagrem, Heinzem Fraenkel-Conratem, i wyizolowanie z niego białkowej neurotoksyny – krotoksyny.

Dwa lata trwała praca Rudolfa Lemberga na Uniwersytecie Wrocławskim. Z tego okresu pochodzą jego pierwsze publikacje naukowe [12, 13]. Z czasem Biltz, widząc spadek zainteresowania swojego asystenta pracą badawczą (być może nie pociągała go już tematyka, jaką się zajmował), uświadomił mu ograniczenia rozwoju kariery naukowej, wynikające z niearyjskiego pochodzenia i poradził mu, by poszukał zatrudnienia w przemyśle. Nie bez wpływu na decyzję Lemberga o rezygnacji z pracy na Uniwersytecie była także chęć poprawy sytuacji finansowej, pensje młodych pracowników naukowych nie należały bowiem wówczas (czy tylko wtedy?) do najwyższych i często musieli oni korzystać z pomocy rodziców.

2. MEINHEIM, HEIDELBERG, CAMBRIDGE

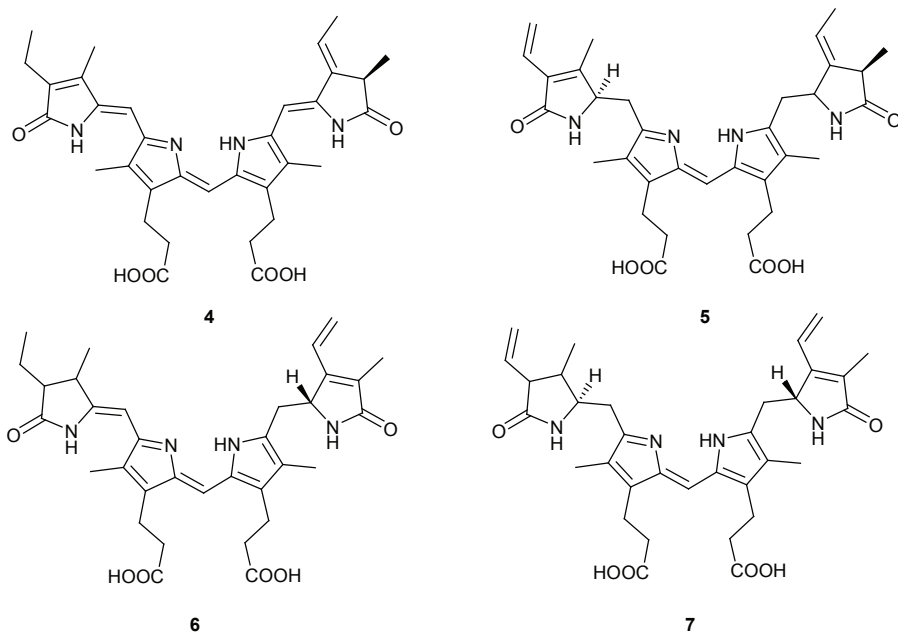
Rok 1923 kończy naukowe i zawodowe związki Rudolfa Lemberga z Wrocławiem, niewątpliwie jednak bywał niejednokrotnie w swoim rodzinnym mieście, w którym nadal mieszkali jego rodzice i brat. Także we Wrocławiu 23 grudnia 1924 roku poślubił Hannę Adelheid Claussen (ur. 1899) (Fot. 8). Mieszkał już wtedy w Meinheim, gdzie podjął pracę w firmie farmaceutycznej C.F. Boehringer & Söhne (od 1998 roku część koncernu Roche). Jednak pogłębiający się kryzys gospodarczy sprawił, że wkrótce (w roku 1925) został zredukowany jako jedna z osób z najkrótszym stażem. Niespecjalnie tego żałował – nie czuł powołania do tej pracy, a uzyskana odprawa oraz grant badawczy uzyskany z Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft (założonej w 1921 pierwszej niemieckiej instytucji zajmującej się organizacją badań naukowych i gromadzeniem funduszy na ich prowadzenie) umożliwiły mu bezbolesne przenosiny na Uniwersytet w Heidelbergu. Tam rozpoczął właśnie działalność Karl Freudenberg (1886–1983), który został powołany na dyrektora Instytutu Chemii i szybko ściągnął grupę młodych, uzdolnionych chemików, stwarzając im optymalne warunki do pracy naukowej i rozwoju – w większości wkrótce



Fot. 8. Hanna i Rudolf Lembergowie
Photo 8. Hanna and Rudolf Lemberg

uzyskali prawo do wykładania (habilitację) bądź profesurę. Byli wśród nich późniejszy laureat Nagrody Nobla Karl Ziegler (1898–1973), a także Werner Kuhn (1899–1963), Hans Kautsky (1891–1966), Otto Schmidt (1894–1972) czy Walter Hieber (1895–1976) [14]. W tym gronie znalazł się także Rudolf Lemberg, który za sprawą Freudenberga zajął się badaniami z zakresu biochemii – dziedziny prężnie rozwijającej się w tym czasie w Niemczech (czego świadectwem są Nagrody Nobla z lat 1927–31 dla Heinricha Wielanda, Adolfa Windausa, Hansa Fischera i Ottona Warburga).

Lemberg wyizolował z czerwonych alg fikobiliny, które zidentyfikował jako barwniki żółciowe – liniowe tetrapiole, po raz pierwszy wykryte w materiale roślinnym (Rys. 2).



Rysunek 2. Fikobiliny, składniki fikobiliprotein występujących w algach [17, 18]. Fikocyjanobilina 4 i fikoerytrobilina 5 zostały wyizolowane w stanie wolnym, podczas gdy fikowioliobilina 6 i fikourobilina 7 – nie

Figure 2. Phycobilins, key components of phycobiliproteins found in algae [17, 18]. Phycocyanobilin 4 and phycoerythrobilin 5 have been isolated from the proteins, in contrast to phycovioliobilin 6 and phycourobilin 7

Efektom jego badań była habilitacja (1930), po której – dzięki stypendium Fundacji Rockefellera – wyjechał do Cambridge do laboratorium Fredericka Gowlanda Hopkinsa (1861–1947), laureata Nagrody Nobla z dziedziny fizjologii i medycyny z roku 1929 za badania nad witaminami, odkrywcy glutationu i tryptofanu. Noblistę nieszczerze zainteresowała tematyka, którą zajmował się Lemberg, ten jednak, na szczęście, znacznie lepszy kontakt nawiązał z Josephem Barcroftem (1872–1947), Robinem Hillem (1899–1991) czy Davidem Keilinem (1887–1963), który, nawiasem mówiąc, był z pochodzenia Polakiem. Okazało się wkrótce, że barwnik izolowany przez Lemberga ze skorupki jaj mew jest identyczny z tym, który zaobserwował Barcroft podczas analizy składu łożyska suk. Była to pochodna biliwerdyny, którą badacze nazwali uterowerdyną [15, 16].

Po powrocie do Niemiec dalsze badania nad przekształceniami liniowych tetrapiroli ugruntowały pozycję Lemberga jako eksperta od barwników żółciowych. Po uzyskaniu stałego zatrudnienia na heidelberskim uniwersytecie otwierała się szansa na stabilizację, jednak szybko nadciągnęły czarne chmury: dwa miesiące po objęciu przez Hitlera urzędu kanclerza, w kwietniu 1933 roku weszła w życie ustawa o odnowie służby cywilnej (*Gesetz zur Wiederherstellung des Berufsbeamtentums*, w skrócie *Beamtengesetz*), nakazująca zwolnienie urzędników państwowych (sędziów, nauczycieli, również akademickich), których pochodzenie rasowe lub poglądy polityczne nie gwarantowały lojalności wobec nowych władz. Był to dopiero wstęp do niesławnych ustaw norymberskich z 1935 roku. Niewłaściwe pochodzenie i członkostwo w partii socjaldemokratycznej kosztowały Lemberga utratę akademickiej posady. Na szczęście dzięki pomocy Freudenberga oraz brytyjskich przyjaciół udało się zaaranżować powrót do Cambridge w lipcu 1933 roku. Jednak wkrótce okazało się, że Wielka Brytania nie może przyjąć wszystkich uchodźców i gdy pojawiła się propozycja objęcia stanowiska dyrektora laboratorium biochemicznego w Royal North Shore Hospital w Sydney, Lembergowie podjęli niełatwą decyzję o kolejnych przenosinach, tym razem na odległy kontynent australijski. Rudolf zaryzykował jeszcze ostatnią wizytę we Wrocławiu, przeczuwając (jak się okazało, miał rację), że może już nigdy nie zobaczyć rodziców. Po tym pożegnaniu zaokrętowali się wraz z Hanną na wypływający z Neapolu statek SS Ormonde, który 7 września 1935 roku przybił do portu w Sydney [19]. Tak rozpoczął się nowy rozdział w życiu Lembergów. Dużą pomoc w oswojaniu nowego miejsca okazała im wspólnota kwakrów (Religijnego Towarzystwa Przyjaciół), z którą nawiązali kontakt już w czasie pobytu w Cambridge. Wkrótce otrzymali australijskie obywatelstwo (w 1937 roku), a niebawem zaangażowali się w pomoc innym uchodźcom.

Tymczasem atmosfera w Breslau stawała się coraz bardziej napięta. Brat Rudolfa Walter, który przejął kancelarię zmarłego ojca, trafił nawet do obozu koncentracyjnego, a gdy udało się doprowadzić do jego zwolnienia, w roku 1939 Rudolf ściągnął go do Australii wraz z całą rodziną – żoną Ericą i trójką dzieci, Helgą, Eckartem i Gerdem-Joachimem [19]. Interesującą relację na temat tych wydarzeń (oraz późniejszych lat spędzonych w Australii i Stanach Zjednoczonych) można odnaleźć w obszernym wywiadzie z bratankiem Rudolfa, Eckartem Lembergim [20].

Z dokumentów, jakie znajdują się w australijskich archiwach, wynika, że Rudolf Lemberg podjął także działania w celu sprowadzenia do Australii matki, z nieznanymi względów jednak nie doszło to do skutku. Być może postanowiła dzielić los innych członków rodziny pozostałych we Wrocławiu: kilka osób o nazwisku Wendoriner (nazwisko panieńskie Margarete Lemberg) można odnaleźć na liście osób deportowanych 31 sierpnia 1942 roku z Breslau do obozu-getta w czeskim Terezynie (Theresienstadt) [21]. Żadna z nich nie przeżyła wojny, Margarete Lemberg zmarła niecałe 3 miesiące od deportacji.

3. SYDNEY



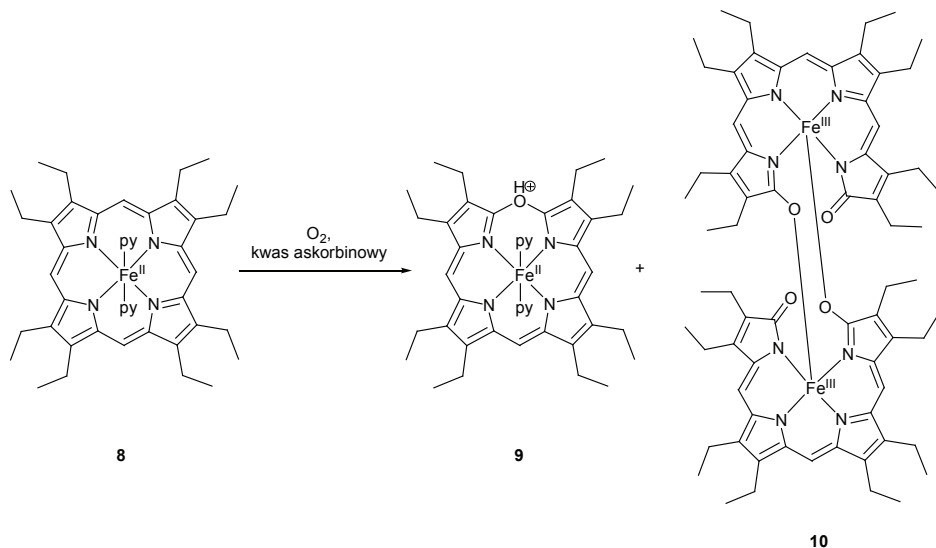
Fot. 9. Rudolf Lemberg był miłośnikiem
górskich wypraw

Photo 9. Rudolf Lemberg was a keen mountain hiker

Rudolf i Hanna Lembergowie szybko zdali sobie sprawę, że powinni pozostawić za sobą lata spędzone w Europie i związać swoją przyszłość z nową ojczyzną. Z czasem, na początku lat pięćdziesiątych, wybudowali dom w stylu Bauhaus na zakupionym i własnoręcznie wykarczowanym akrze ziemi w Wahroonga (w języku Aborygenów: nasz dom) na przedmieściach Sydney. Zapaleni miłośnicy przyrody i eksploratorzy, uwielbiali wędrówki po australijskim buszu i górach – również podczas późniejszych podróży naukowych po świecie starali się znaleźć czas na górskie wycieczki (Fot. 9). Rudolf kontynuował badania prowadzone wcześniej w Heidelbergu i Cambridge, choć nie było to łatwe ze względu na skromne wyposażenie szpitalnego laboratorium,

w którym przyszło mu pracować, i brak doświadczonych współpracowników. W tak niesprzyjających okolicznościach powstały cytowane do dziś publikacje Lemberga dotyczące degradacji żelazoporfiryn, na drugiej z nich można dostrzec już nową, australijską afiliację [1, 2]. Opisany w nich proces sprzężonego utleniania, modelujący początkowe etapy przebiegającego w naturze rozpadu układu hemowego katalizowanego przez oksygenazę hemową, polega na działaniu na porfirynowy kompleks żelaza utleniaczem (z reguły jest nim tlen lub woda utleniona) w obecności czynnika redukującego (kwas askorbinowy, hydrazyna). Obszerne badania na ten temat, prowadzone na związkach modelowych (najczęściej oktaetyloporfiryinie żelaza **8**) przez Balcha, Latos-Grażyńskiego i współpracowników, doprowadziły do identyfikacji

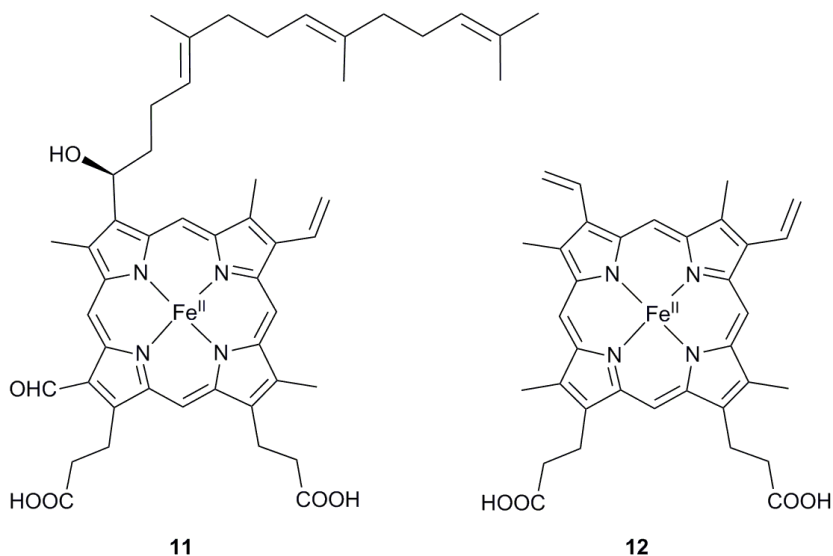
żelazowych kompleksów werdohemu **9** i biliwerdyny **10** jako głównych produktów tego procesu (Rys. 3) [22, 23].



Schemat 1. Schemat sprzężonego utleniania bis-pirydynowego kompleksu żelaza(II) z oktaetyloporfiryną, pokazujący główne produkty degradacji [22, 23]

Scheme 1. A scheme of coupled oxidation of bis-pyridine iron(II) octaethylporphyrin, showing major degradation products [22, 23]

Krótko po wojnie ukazała się pierwsza, napisana wspólnie z Johnem W. Legge (1917–96) monografia Lemberga „*Hematin Compounds and Bile Pigments*” (Interscience Publishers, New York & London, 1949). Jego dalsze badania, możliwe dzięki ugruntowaniu jego pozycji jako czołowego eksperta chemii porfiryń i uzyskaniu finansowania projektów, dotyczyły głównie oksydazy cytochromu *c*, końcowego białka łańcucha oddechowego oraz hemu A, będącego jedną z jej grup prostetycznych (Rys. 4). Inspiracją były też leczone w Royal North Shore Hospital przypadki zaburzeń metabolizmu hemoglobiny, takich jak porfirie, methemoglobinemia czy sulfhemoglobinemia. Do znanych współpracowników Lemberga należeli John Edwin Rogers Falk (1917–1970) oraz Peter Steele Clezy (1930–2012), kontynuator badań nad porfirydami na antypodach. Podsumowaniem wieloletniej pracy niemiecko-australijskiego biochemika była druga z książek, napisana wspólnie z Jackiem Barrettem „*The Cytochromes*” (Academic Press, Londyn 1973).



Rysunek 3. Struktura hemu A (11) oraz występującego w większości hemoprotein, np. w hemoglobinie, hemu B (protohem IX, 12) [24]

Figure 3. A structure of heme A (11) and heme B (protoheme IX, 12) the component of most heme proteins [24]



Fot. 10. Hanna i Rudolf Lembergowie
Photo 10. Hanna and Rudolf Lemberg

Od roku był już wówczas Lemberg emerytem, choć nadal niezwykle aktywnym. Już wcześniej jego zainteresowania nie ograniczały się do wąsko pojmowanej biochemii. Zajmowało go również pochodzenie życia na Ziemi, a także związki nauki z filozofią i religią, które uważał za uzupełniające się drogi do poznawania świata. Dał temu wyraz w wykładzie, wygłoszonym dla Religijnego Towarzystwa Przyjaciół w 1966 roku („*Seeking in an age of imbalance*” [25]) i szeregu artykułów, brał udział w licznych dyskusjach na temat tego, w jaki sposób nauka powinna służyć ludzkości. Rozpoczął też pisanie książki „*Complementarity of Religion and Science*”, której jednak nie zdążył już ukończyć. Max Rudolf Lemberg zmarł

10 kwietnia 1975 roku w swoim domu w Wahroonga, przeżywszy blisko 80 lat. Jego żona Hanna odeszła w roku 1998 w wieku 98 lat. Państwo Lembergowie (Fot. 10)

przeżyli razem pół wieku; nie mieli dzieci. Dom Lembergów pozostaje miejscem spotkań wspólnoty kwakerskiej.

Rudolf Lemberg położył szczególne zasługi dla rozwoju australijskiej nauki, jako jeden z pionierów badań z dziedziny biochemii. Był współzałożycielem Australijskiej Akademii Nauk (1954) i Australijskiego Towarzystwa Biochemicznego (1955), któremu jako pierwszy przewodniczył (Fot. 11). Za swoje badania i działalność był wielokrotnie nagradzany; warto wspomnieć, że w 1952 roku wybrano go członkiem brytyjskiego Royal Society, a 4 lata później Uniwersytet w Heidelbergu przyznał mu tytuł *profesor emeritus* jako swoistą rekompensatę za zwolnienie go w 1933 roku. Od roku 1968 Australijskie Towarzystwo Biochemii i Biologii Molekularnej przyznaje Medal Lemberga za wybitne osiągnięcia w tej dziedzinie.



Fot. 11. Rudolf Lemberg (w środku) przed Shine Dome (dawniej Becker House), zbudowaną w 1959 roku siedzibą Australijskiego Towarzystwa Biochemicznego w Canberrze

Photo 11. Rudolf Lemberg (in the middle) in front of the Shine Dome (previously known as Becker House), the office of the Australian Academy of Science built in 1959

UWAGI KOŃCOWE

Czasy, w jakich przyszło mu żyć i działać nazwał sam Rudolf Lemberg „epoką nierównowagi”: dwie wojny światowe wpłynęły na losy milionów ludzi na całym świecie. Dziś mobilność naukowców jest czymś powszechnym, wynikającym z poszukiwania nowych wyzwań czy awansów naukowych i szczęśliwie czynnik społeczno-polityczny odgrywa coraz mniejszą rolę. Można spekulować, czy pozostając w Europie, nie będąc zmuszonym do organizowania od podstaw pracy w szpitalnym laboratorium w Sydney, Lemberg osiągnąłby więcej – może Wrocław szczyciłby się jeszcze jednym laureatem Nagrody Nobla? Niewątpliwie i tak wniósł istotny wkład w rozwój badań nad pigmentami życia, jak nazywa się czasem porfiryry i ich pochodne, odgrywające kluczową rolę w wielu procesach metabolicznych.

PODZIĘKOWANIA

Składam serdeczne podziękowania dyrekcji i pracownikom Archiwum Uniwersytetu Wrocławskiego za okazaną pomoc w odszukaniu materiałów archiwalnych oraz umożliwienie ich reprodukcji (Fot. 6 i 7). Szczególne wyrazy wdzięczności kieruję pod adresem mieszkających w Kolorado wnuków Waltera Lemberga (brata Rudolfa): Catherine Lemberg, która wykazała życzliwe zainteresowanie prowadzonymi przeze mnie poszukiwaniami i wyszperała zdjęcia w rodzinnym archiwum, oraz jej brata Grega Lemberga, który fotografie zeskanował i przesłał (Fot. 1, 2, 8–11). Autorem zdjęć 3–7 jest autor artykułu.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. Lemberg, *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1322.
- [2] R. Lemberg, B. Cortis-Jones, M. Norrie, *Biochem. J.*, 1938, **32**, 149.
- [3] M.R. Lemberg, *Annu. Rev. Biochem.*, 1965, **34**, 1.
- [4] C. Rimington, C.H. Gray, *Biogr. Mem. Fellows R. Soc.*, 1976, **22**, 256.
- [5] J. Barrett, R. Robertson, *Rec. Aust. Acad. Sci.*, 1979, **4**, 133.
- [6] <http://dolny-slask.org.pl/>, dostęp 18.09.2014.
- [7] *Encyklopedia Wrocławia*, wyd. 3, Wydawnictwo Dolnośląskie 2006.
- [8] T. van Rahden, *Jews and Other Germans: Civil Society, Religious Diversity, and Urban Politics in Breslau, 1860–1925*, University of Wisconsin Press, 2008, s. 158.
- [9] M. Poje, E.F. Paulus, B. Ročić, *J. Org. Chem.*, 1980, **45**, 65.
- [10] B.J. Hawgood, *Toxicon*, 2001, **39**, 1277.
- [11] K. H. Slotta, *Trends Biochem. Sci.*, 1983, **8**, 417.
- [12] H. Biltz, R. Lemberg, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1923, **432**, 137.
- [13] H. Biltz, R. Lemberg, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1923, **432**, 177.
- [14] K. Weinges, P. Plieninger, *Eur. J. Org. Chem.*, 1999, 707.
- [15] R. Lemberg, J. Barcroft, *Proc. R. Soc. B*, 1932, **110**, 362.
- [16] R. Lemberg, *Biochem. J.*, 1934, **28**, 978.
- [17] M. Storf, A. Parbel, M. Meyer, B. Strohmman, H. Scheer, M.-G. Deng, M. Zheng, K.-H. Zhao, *Biochemistry*, 2001, **40**, 12444.
- [18] S. Böhm, S. Endres, H. Scheer, K.-H. Zhao, *J. Biol. Chem.*, 2007, **282**, 25357.
- [19] www.naa.gov.au, dostęp 18.09.2014
- [20] <http://oralhistory.boulderlibrary.org/interview/oh1747/>, dostęp 18.09.2014
- [21] <http://www2.holocaust.cz>, dostęp 18.09.2014
- [22] A.L. Balch, L. Latos-Grażyński, B.C. Noll, M.M. Olmstead, L. Szterenber, N. Safari, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 1422.
- [23] A.L. Balch, L. Latos-Grażyński, B.C. Noll, M.M. Olmstead, N. Safari, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 9056.
- [24] W.S. Caughey, G.A. Smythe, D.H. O’Keeffe, J.E. Maskosky, M.I. Smith, *J. Biol. Chem.*, 1975, **250**, 7602.
- [25] R. Lemberg, *Seeking in an age of imbalance*, James Beckhouse Lecture, 1966, <http://www.quakers.org.au/page/29/?>, dostęp 18.09.2014.

60. LAT CHEMII NA UNIWERSYTECIE WROCŁAWSKIM

Rok 2014 – rok, w którym obchodzona jest 60. rocznica powstania chemii na Uniwersytecie Wrocławskim.



W powojennej Polsce znalazło zatrudnienie wielu profesorów uczelni lwowskich. Dobra materialne zostały tam we Lwowie, natomiast dobra duchowe ocalałych pracowników naukowych przeniosły się do Wrocławia. Najprawdopodobniej z inicjatywy pierwszego prezydenta Wrocławia Bolesława Drobnera w ostatniej dekadzie marca 1945 roku podjęto decyzję o uruchomieniu we Wrocławiu ośrodka akademickiego. Wśród profesorów i doktorów przybyłych ze Lwowa byli między nimi Edwin Płażek, Edward Sucharda, Henryk Kuczyński, Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska i Włodzimierz Trzebiatowski.

Rozwój chemii w zniszczonym wojną Wrocławiu zapoczątkowało kilku entuzjastów, pracowników naukowych o niepowtarzalnej ofiarności, którzy w 1945/46 wystartowali w jednej uczelni, jaką był Uniwersytet i Politechnika, a byli to: prof. Edward Sucharda, prof. Edwin Płażek, prof. Włodzimierz Trzebiatowski i prof. Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska.

Zimą 5 grudnia 1945 roku z dobytkiem repatrianckim przybyła ze Lwowa do Wrocławia Pani Profesor Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska. Oglądając smutne, puste ulice, wypalone domy nieoświetlonego miasta, zatroskana, zastanawiała się, czy powstały pierwszy zintegrowany ośrodek akademicki podoba, czy zorganizowane wspólne życie umożliwi olbrzymią pracę jaka była do wykonania, czy powstałe na ruinach środowisko naukowe potrafi działać. Nie bojąc się żadnych trudności i przeciwności, które mogłyby społeczność akademicką zniszczyć, pełna entuzjazmu, radości życia zaczęła działać, bo była we własnym kraju, w wolnej Polsce.

Właśnie tu, niemalże na gruzach powstały pierwsze naukowe placówki chemiczne: Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii. Kształcono chemików na kierunkach podstawowym – chemia uniwersytecka i technologicznym – chemia techniczna na Politechnice Wrocławskiej. Chemia Wrocławska wiodła prym w kraju.

Pięć katedr chemii podstawowej: chemii nieorganicznej, chemii organicznej, chemii fizycznej, chemii ogólnej I i chemii ogólnej II spełniało obowiązki kształcenia fachowców dla całego kraju.

W 1948 roku Katedrę Chemii Ogólnej I na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu i Politechniki Wrocławskiej objęła Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska. Uruchomiła badania z chemii i fizykochemii związków pierwiastków ziem rzadkich oraz badania kinetyki i mechanizmu reakcji chemicznych. Z wielką energią i poświęceniem obowiązków ten zaczęła realizować z grupą kilku asystentów: Stanisławem Wajdą, Marią Wrońską, Lechem Pajdowskim, Janem Biernatem, Jadwigą Nawojką, Jadwigą Danowską, Heleną Przywarską. Jako pierwszy mianowany profesor, kierowała już od początku Katedrą Chemii Nieorganicznej, na której spoczywał obowiązek kształcenia chemików we wszystkich dyscyplinach chemicznych. Była równocześnie profesorem na Politechnice Wrocławskiej, kierownikiem Katedry Chemii Nieorganicznej II, do roku 1967 Katedry Chemii Pierwiastków Ziemi Rzadkich.

W 1954 w niezwykle trudnych warunkach, z gwałtownie wzrastającą liczbą pracowników naukowych rozwinęła się chemia uniwersytecka.

Prof. Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska powiedziała wtedy: „*twarde warunki wychowują twardych ludzi – budzą upartą chęć i wolę zwycięstwa – a mogło nim być stworzenie mimo wszystko – wbrew możliwościom – wielkiej nauki*”. I to zostało dokonane.

W 1955 roku profesor Henryk Kuczyński objął Katedrę Chemii Organicznej Uniwersytetu Wrocławskiego, rok później w 1956 obecny prof. Lucjan Sobczyk Katedrę Chemii Fizycznej. Do Katedry Chemii Organicznej przybyła z Poznania, jako nowy pracownik naukowy doc. dr hab. Lidia Prajer-Janczewska, która później została profesorem. Ze Szkoły profesor B. Jeżowskiej-Trzebiatowskiej wyszli kolejni pracownicy naukowcy, uzyskując doktoraty i habilitacje. Profesorowie: Maria Wrońska, Lech Pajdowski, Stanisław Wajda, Adam Bartecki, Walter Wojciechowski, docenci – doktorzy habilitowani: Jan Biernat, Helena Przywarska-Boniecka, Józef Ziółkowski, Władysław Kąkołowicz, Stanisław Kopacz, Krystyna Bukietyńska i inni. Tytuł profesora uzyskali Adolf Kisza, Henryk Ratajczak i Józef J. Ziółkowski, stopień doktora habilitowanego Zbigniew Małarski, Florian Pruchnik.

Profesor Ignacy Z. Siemion przeszedł z Akademii Medycznej. W ten sposób Instytut Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego uzyskał pełny skład profesorów, docentów, doktorów habilitowanych. Instytut nie tylko tworzyli profesorowie, doktorzy, ale także młoda kadra naukowa, w ilości 50-doktorów-adiunktów, 70-magistrów-asystentów.

W roku 1969 z trzech Katedr powstał Instytut Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, działający w ramach Wydziału Matematyki, Fizyki i Chemii, którego dyrektorem została prof. Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska, zastępcami Henryk Ratajczak, Józef Ziółkowski, Stanisław Wajda, Władysław Kąkołowicz.

W 1970 roku Instytut przeprowadził się do nowego, własnego, dziesięciopiętrowego budynku przy ul. Joliot-Curie 14 we Wrocławiu, gdzie dwa lata później, bo w roku 1972 oddany został do pracy budynek laboratoriów studenckich i audytorium z dwiema salami wykładowymi.

W latach 90. rozpoczęto rozbudowę laboratoriów studenckich, a w 2000 roku oddano następną część budynku laboratoryjnego i nowe audytorium z salami wykładowymi.

Dyrektorami Instytutu Chemii po prof. dr hab. B.J. Trzebiatowskiej (1969–1979) byli:

- prof. dr hab. Henryk Ratajczak (1979–1982)
- prof. dr hab. Józef J. Ziółkowski (1982–1987)
- prof. dr hab. Henryk Ratajczak (1987–1991)
- prof. dr hab. Florian F. Pruchnik (1991–1993)
- prof. dr hab. Józef J. Ziółkowski (1993–1995).



Ale wracając do historii naukowej należy przypomnieć, że już wtedy w Katedrach stworzone zostały działy badań, które stały się podstawą działalności nowo powstałego Instytutu: chemia molekularna i strukturalna, chemia koordynacyjna, fizykochemia metali ziem rzadkich, elektrochemia, kinetyka i kataliza, chemia jądrowa.

Prof. Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska napisała: „Obecna problematyka Instytutu związana jest ze współczesną chemią, fizyką i biologią molekularną.”

Chemia molekularna i strukturalna – dziedzina z pogranicza chemii i fizyki, która głęboko wniknęła we współczesną biologię. Chemia strukturalna posługuje się metodami eksperymentalnymi i teoretycznymi pozwalającymi wyjaśnić strukturę elektronową atomu, jonu, molekuly, charakteru wiązania zarówno na podstawie badań doświadczalnych jak i teoretycznych.

Największym działem, a mianowicie strukturą i teorią molekularnych i skondensowanych układów związków koordynacyjnych i fizykochemią metali przejściowych *d* i *f* elektronowych zajęła się prof. Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska. Dziedzina ta kojarzyła się początkowo z nowoczesną chemią nieorganiczną, opartą o kinetykę chemiczną i metody elektrochemiczne. Stopniowo w Instytucie wprowadzano nowoczesne metody fizykochemiczne takie jak: spektroskopia elektronowa, oscylacyjna i teoretyczna, magnetochemia, wymiana radioizotopowa, rentgenowska analiza strukturalna, radiospektroskopia oraz rozwijały się teoretyczne metody chemii kwantowej.

Badania doświadczalne i teoretyczne, umiejętność pracy w zespole, przechodzenie do badań poznawczych, zastosowania badań w praktyce – to wszystko ukształtowało oblicze Szkoły Naukowej Strukturalnej Chemii Koordynacyjnej, która zdobyła sobie uznanie i wysoką pozycję w nauce światowej.

Badania nad strukturą, syntezą i mechanizmem tworzenia kompleksów wielordzeniowych były najobszerniejsze z dotychczas znanych w literaturze naukowej. Wyniki badań publikowali pani Profesor, Stanisław Wajda, Walter Wojciechowski, Lech Pajdowski i Mikołaj Rudolf.

W Instytucie rozwijano nowe dziedziny chemii i fizykochemii metali przejściowych, w tym wielu metali ziem rzadkich – renu, technetu, manganu, wanadu, molibdeny, wolframu, kobaltu, rutenu, uranu, lantanowców i innych. Odkrycia własności renu, technetu, uranu należą do podstaw nauki o tych pierwiastkach.

Profesor Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska jako pierwsza zwróciła uwagę na rolę tlenu i jego wiązania między atomami powodującego wygaszanie spinów elektronowych paramagnetycznych rdzeni. Opracowała pierwszą w literaturze teorię wiązania tlenowego, która ma podstawowe znaczenie dla zrozumienia procesów polimeryzacji nieorganicznej i niektórych procesów enzymatycznych.

Pracownicy Instytutu: Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska, Henryk Kozłowski, Tadeusz Cukierda, prowadzili badania nad oddziaływaniem wewnątrzcząsteczkowym metal-metal o charakterze pośrednim i bezpośrednim antyferromagnetycznym, i o wiele rzadziej, ferromagnetycznym. Pani Profesor wraz z zespołem współpracowników za prace nad antyferromagnetyzmem wewnątrzcząsteczkowym i teorią wiązania tlenowego otrzymała Nagrodę Roku Nauki Polskiej.

Mikołaj Rudolf, Jerzy Mroziński, Romuald Grobelny stwierdzili na licznych przykładach, że przez odpowiedni dobór składników kompleksu, czy też klasteru i rodzaju mostków można sterować własnościami magnetycznymi, co stwarza możliwość otrzymywania nowych substancji magnetycznych.

Obszerne badania nad związkami z różnego typu ugrupowaniami oksykationowymi z tlenem mostkowym i końcowym, które objęły programowaną syntezę

chemiczną, spektroskopię elektronową i oscylacyjną, rentgenografię strukturalną i metody teoretyczne takie jak np.: teoria pola ligandów i orbitali molekularnych, prowadzili: Bogusława Jeżowska-Trzebiatowska, M. Bałuka, T. Głowiak, J. Hanuza i L. Natkaniec.

Wielki wpływ na rozwój chemii związków koordynacyjnych w Instytucie miały badania krystalograficzne prof. Tadeusza Głowiaka, ucznia, a następnie wieloletniego współpracownika pani Profesor. Wymiernym kryterium rangi tych badań był zakup w 1973 r. pierwszego w Polsce dyfraktometru monokrystalicznego.

Prof. Tadeusz Głowiak wprowadził krystalografię w Instytucie Chemii wszędzie tam, gdzie badania strukturalne mogły odpowiedzieć na ważne pytania naukowe. W ślady prof. T. Głowiaka poszli jego uczniowie i współpracownicy. W jednym wypadku badania te wyprzedziły swoją epokę. W 1980 r. prof. Tadeusz Lis opublikował w *Acta Crystallographica* warunki syntezy, strukturę oraz pierwsze wyniki badań magnetycznych, otrzymanego przez siebie dwunastordzeniowego kompleksu manganu o mieszanych stopniach utlenienia, czym zapoczątkował nowy obszar badawczy – chemię i fizykę magnetyków molekularnych. Do dzisiaj artykuł ten jest najczęściej cytowaną publikacją chemiczną (707 cytowań).

Ważne rezultaty w badaniach kompleksów wielordzeniowych metodą wymiany radioizotopowej uzyskał prof. Stanisław Wajda ze współpracownikami. Badania te przyczyniły się do poznania specyfiki kompleksów wielordzeniowych.

Problematyką termodynamiki związków metali przejściowych zajmował się prof. Lech Pajdowski. Oznaczając stałe trwałości rozpoznawał strukturę kompleksów spolimeryzowanych i wodorotlenków polimerycznych wanadu w roztworze.

Zagadnienia struktury elektronowej i molekularnej związków nitrozylowych z metalami przejściowymi znalazły wyjaśnienie w licznych pracach doświadczalnych i teoretycznych pani Profesor, Józefa Ziółkowskiego, Antoniego Kellera, Adama Jezierskiego. Badania te doprowadziły do stwierdzenia, że grupa nitrozyłowa tworzy z metalem nową jednostkę molekularną, której rozkład gęstości elektronowej zależy od pola ligandów jonów nieorganicznych lub molekuł organicznych.

Szczególnym osiągnięciem zespołu kierowanego przez B.J. Trzebiatowską było zastosowanie i rozwinięcie metod spektroskopii oscylacyjnej w badaniach związków kompleksowych. Za pracę nad strukturą związków koordynacyjnych B.J. Trzebiatowska otrzymała w 1964 roku Państwową Nagrodę Naukową II stopnia.

W latach pięćdziesiątych powstało pierwsze laboratorium magnetochemii związków koordynacyjnych, gdzie wprowadzono metodę pomiaru podatności magnetycznej.

Zbudowano kilka prototypowych aparatów do pomiarów podatności magnetycznej z półprzewodnikowymi stabilizatorami prądu. Układy te stały się wzorem dla innych ośrodków polskich i zagranicznych. Przez wiele długich lat kierownikiem Zespołu był prof. Jerzy Mroziński. Jego prace naukowe publikowane były w renomowanych czasopismach światowych.

Nową specjalizacją jaką zapoczątkowali w Instytucie Chemii B.J. Trzebiatowska, Teofil Mikulski, Stanisław Kopacz była dziedzina chemii i fizykochemii

metali przejściowych, która skupiała się na badaniach nad hydrometalurgicznymi metodami wydobywania miedzi, a w szczególności metali jej towarzyszących z rud i odpadów przemysłu miedziowego zagłębia lubińsko-głogowskiego. Opracowano metody wydzielenia renu i molibdenu oraz kobaltu i niklu, a także innych metali pochodzących z pyłów szybowych, elektrolitów i szlamów.

Stanisław Kopacz z współpracownikami zajęli się fizykochemią ekstrakcji. Zbadali mechanizm ekstrakcji metali *d*-elektronowych towarzyszących rudom miedzi stosując ekstrahenty tlenowe. Otrzymali i opisali model przestrzenny ekstrakcji układów trójfazowych i podali termodynamiczne kryterium ich powstawania. Od strony praktycznej, badania ekstrakcyjne dotyczyły wydzielenia miedzi i pierwiastków towarzyszących z rud i półproduktów przemysłu miedziowego. Opracowania były licznie cytowane w zagranicznych publikacjach.

W 1958 roku B.J. Trzebiatowska wraz z Januszem Drożdżyńskim i innymi współpracownikami skoncentrowała się na problemach struktury elektronowej jonów uranu oraz struktury elektronowej i molekularnej związków kompleksowych uranu. Metodą spektroskopii elektronowej udowodniono strukturę elektronową $5f^2$ U(IV) w związkach chemicznych. Wyjaśniono własności magnetyczne związków kompleksowych U(IV). Otrzymano pierwsze trwałe związki U(III) – opracowano metody syntezy, zbadano ich strukturę oraz własności magnetyczne i spektroskopowe.

Władysław Kąkołowicz, B.J. Trzebiatowska z innymi pracownikami wyjaśnili własności magnetyczne i spektroskopowe chelatowych kompleksów uranu z β -dwuketonami i ich pochodnymi. Określili wpływ podstawników na własności pierścieni chelatowych, oraz zbadali izomerię strukturalną tych ważnych dla energii jądrowej związków.

W badaniach struktury związków lantanowców ze względu na specyfikę pierwiastków, podstawową metodą badań była spektroskopia elektronowa. Taką analizą w swoich badaniach zajmowała się Krystyna Bukietyńska, która analizowała energię przejść: wewnątrz konfiguracyjnych w schemacie sprzężenia pośredniego, efektu nefeloauksetycznego przejść wewnątrzkonfiguracyjnych, rydbergowskich i innych. Analiza ta doprowadziła do poznania struktury wielu związków lantanowców w roztworach. Opracowała ogólną metodę analizy intensywności przejść *f-f* umożliwiającą określenie symetrii bezpośredniego otoczenia jonu lantanowca w roztworach.

Na szczególną uwagę zasługują badania prowadzone przez panią Profesor, K. Bukietyńską, J. Legendziewicz i B. Keller nad solwatacją jonów lantanowców w roztworach niewodnych (amidowych i alkoholowych). W badaniach tych zastosowano metodę Judda-Ofelta, która doprowadziła do pełnego określenia symetrii otoczenia jonu lantanowca dla wielu układów. Były to pierwsze badania na świecie. Inne badania umożliwiły uzyskanie neodymowych materiałów laserowych. Na bazie tych materiałów w Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych zbudowano pierwszy w Polsce laser cieczowy.

Chemia bionieorganiczna była działem, w którym podstawowym problemem strukturalnej chemii koordynacyjnej było wyjaśnienie roli metalu w procesach życiowych.

W latach sześćdziesiątych po raz pierwszy Zespół usłyszał od Profesor B.J. Trzebiatowskiej o chemii biologicznej metali. Rozwój tej dyscypliny rozpoczął się w Stanach Zjednoczonych, pierwsza książka na ten temat ukazała się w roku 1971. Tutaj we Wrocławiu, w Instytucie Chemii jako pierwsi naukowcy B.J. Trzebiatowska, H. Kozłowski zgłębiali tę dziedzinę, co z sukcesami obecnie Zespół Prof. H. Kozłowskiego kontynuuje po dzień dzisiejszy.

W latach siedemdziesiątych B.J. Trzebiatowska, H. Kozłowski prowadzili badania fragmentów kwasów nukleinowych różnymi metodami. Określali rolę zasad purynowych w oddziaływaniu kwasów nukleinowych z jonami metali.

Z B. Jeżowską-Trzebiatowską współpracował także Lechosław Latos-Grażyński. W latach 1974–1978 jeszcze w ramach studium doktoranckiego prowadził badania dotyczące chemii koordynacyjnej kwasów poliaminooctowych. Istotnym fragmentem tych badań nad procesami mikrodysocjacji kompleksonów, była spektroskopia jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR), podstawowa metoda fizykochemiczna, która stanowiła wspólny mianownik badań, a w konsekwencji kształtowała całość długofalowych zainteresowań. Prowadził także badania dwurdzeniowych kompleksów żelaza(III) z mostkiem tlenowym z zasadami Schiffa, jak również badania kompleksów cynku i kadmu z bipyrydyną. Zainteresowania naukowe Lechosława Latosa-Grażyńskiego koncentrowały się także na chemii metaloporfiryn, chemii bionieorganicznej i spektroskopii jądrowego rezonansu magnetycznego układów paramagnetycznych.

Jego wkład w chemię układów tetrapirolowych znalazł uznanie w świecie zarówno wśród chemików organicznych jak i nieorganików. W znaczącym stopniu jego działalność naukowa była i jest stymulowana przez procesy biomimetyczne (modelowe) związane z chemią żelazoporfiryn: z procesami transportu i aktywacji ditlenu, transferu elektronów czy tlenu atomowego. Bardzo istotnym wkładem prof. Latosa-Grażyńskiego było zbadanie metodami spektroskopii NMR wysokoutlenionych żelazoporfiryn w tym ferryloporfiryn, stanowiących modele spektroskopowe stanów aktywnych hemoproteidów. Konsekwentnym krokiem były badania nad procesami tworzenia tzw. zielonych pigmentów i drogami degradacji hemu. Badania Latosa-Grażyńskiego i współpracowników doprowadziły do odkrycia wyjątkowego izomeru porfiryny, noszącego obecnie nazwy „odwróconej” (*N*-confused) porfiryny lub karbaporfiryny. Prace Latosa-Grażyńskiego dotyczące „odwróconej” porfiryny stały się impulsem do wygenerowania oryginalnej klasy związków makrocyklicznych, określanych obecnie mianem karbaporfirynoidów

Profesor Lechosław Latos-Grażyński dokonał wybitnych osiągnięć analogów strukturalnych porfiryn zwłaszcza tioporfiryn i ich kompleksów.

W roku 1998 wkład prof. Latosa-Grażyńskiego w rozwój nauki polskiej został uhonorowany prestiżową nagrodą Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej w dziedzinie nauk ścisłych za badania nad porfirynami i metaloporfirynami o szczególnej struk-

turze molekularnej i elektronowej. Natomiast w roku 2014 za wybitne osiągnięcia naukowe w chemii został on wyróżniony medalem im. Jędrzeja Śniadeckiego nadawanym przez Polskie Towarzystwo Chemiczne. Podobny cel miały badania licznych kompleksów nitrozylowych żelaza z zasadami organicznymi wiążącymi siarkę lub azot, a stanowiącymi modele układów antykancerogennych oraz kompleksów miedzi i wanadu z zasadami Schiffa, prowadzone przez B.J. Trzebiatowską, A. Jezierskiego i J. Jezierską. W tych badaniach metoda EPR odegrała dominującą i znakomitą rolę w określaniu charakteru wiązania.

Działem badań, w którym odnotowano sukcesy było modelowanie enzymów i pigmentów cyklu oddechowego. Badania te prowadziła pani Profesor i Andrzej Vogt. Odkryli i zbadali nowe syntetyczne przenośniki tlenu molekularnego, stanowiące najprostsze modele naturalnych systemów uczestniczących w jego transporcie w organizmie.

Badania te, budziły wtedy ogromne zainteresowania na całym świecie. Podobne badania prowadziła H. Przywarska nad ftalocyjaninowymi kompleksami metali przejściowych. Osiągnięciem było otrzymanie kompleksów sulfoftalocyjanin żelaza i kobaltu z globiną i apokatalazą.

H. Ratajczak, Z Malarski, J.P. Hawranek, A. Koll pod kierunkiem Lucjana Sobczyka prowadzili badania oddziaływań międzymolekularnych, a w szczególności dielektrycznych własności układów z wiązaniem wodorowym. L. Sobczyk wprowadził do literatury pojęcie polarności wiązania wodorowego i ze swoimi współpracownikami wykazywał prawidłowości wiążące tę wielkość z parametrami molekularnymi oddziaływujących składników oraz własności otoczenia. Badania te stały się bardzo znane na całym świecie. Wrocław stał się najważniejszym ośrodkiem badań oddziaływań międzymolekularnych w Polsce.

A. Koll, Z Malarski, J.P. Hawranek, H. Kołodziej zajęli się zagadnieniami struktury związków organicznych. Do tych badań stosowali równolegle różne metody teoretyczne jak i eksperymentalne. Intensywnie rozwijającymi się badaniami, pod kierunkiem L. Sobczyka, przy współpracy H. Kołodzieja były badania własności dielektryków przy częstościach mikrofalowych. W Instytucie powstało pierwsze w Polsce laboratorium mikrofalowe, w którym opracowano metody pomiaru absorpcji i dyspersji zarówno cieczy jak i kryształów przy częstościach do 40 GHz. Oprócz tych badań, na wyróżnienie zasługują badania teoretyczne nad dynamiką sieci oraz pomiary optycznych cienkich warstw w podczerwieni, prowadzone przez J.P. Hawranka.

W dziedzinie oddziaływań molekularnych szerokie badania rozwinął H. Ratajczak. Badania obejmowały chemię kwantową kompleksów molekularnych, spektroskopię oscylacyjną ferroelektryków, teoretyczną spektroskopię oscylacyjną, spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego, kompleksów molekularnych oraz dynamikę molekularną cieczy.

W spektroskopii ferroelektryków po raz pierwszy opracowano metody badań ferroelektryków w polaryzowanym świetle podczerwonym w funkcji tempera-

tury. H. Ratajczak otrzymał nowe ważne charakterystyki układów molekularnych z wiązaniem wodorowym oraz układów z przeniesieniem protonu. Zorganizowano nowoczesne, unikalne w Polsce laboratorium badań dielektrycznych w szerokim przedziale częstości od hercowych do mikrofalowych. Badano widma absorpcyjne, uzyskując po raz pierwszy pełną analizę drgań w ferroelektrycznych kryształach.

Dział elektrochemii i termodynamiki roztworów związków metali w stopionych solach rozwinięty w sposób unikalny przez Adolfa Kiszę obejmował właściwości fizykochemiczne stopionych soli, właściwości termodynamicznych halogenków metali w roztworach stopionych soli organicznych, mechanizm i kinetykę procesów elektrodowych w stopionych solach organicznych. Badania te przyczyniły się do rozwoju elektrochemicznych metod badawczych i rozwoju metod elektrowyodróżnienia metali. Były to pomiary SEM ogniwi, przewodnictwa, lepkości napięcia powierzchniowego, gęstości, prężności par, chronopotencjometryczne, chronoamperometryczne, SPI, impedancji Faraday'a. Badania te miały ogromne znaczenie w skali światowej, wyniki prac cytowane były w artykułach przeglądowych i monografiach. A. Kisza i K. Gatner opracowali nową metodę pomiaru SEM ogniwi w przypadku gdy chlorowec reaguje ze stopioną solą organiczną tzw. metoda SPI, a Urszula Twardoch opracowała teorię nowej techniki chronopotencjometrycznej i jej weryfikacji doświadczalnej tzw. chronopotencjometrii z odwróceniem kierunku polaryzacji ze stanu stacjonarnego. Profesor Kisza opracował również teorię potencjometrycznego wydzielania wodoru na metalach w stopionych solach organicznych i teoretyczne podstawy wysokotemperaturowej amalgamatowej elektrowyodróżnienia metalu. Pracując nad mechanizmem i kinetyką reakcji elektrodowych w elektrolizie aluminium prof. A. Kisza wprowadził do elektrochemii indukcyjność, która pozwoliła na zbadanie bardzo szybkich reakcji elektrodowych. Prace były cytowane w monograficznej serii *Advances in Molten Salt Chemistry*. Niektóre osiągnięcia zostały wdrożone, do produkcji wszedł chronopotencjometr cyfrowy CHP-3C.

Prace prowadzone pod kierunkiem H. Kuczyńskiego obejmowały stereochemię i konformację naturalnych produktów terpenowych i produktów ich przegrupowań. Badania jakie prowadziła L. Prajer-Janczewska i jej współpracownica A. Postawka dotyczyły ustalenia wpływu reszt kwasów karboksylowych i sulfonowych w ich estrach arylowych na elektrofilową substytucję w pierścieniach aromatycznych. Prowadzono badania acyloestrów i alliloestrów naftolowych.

Badania tej grupy pracowników miały często aspekt uzyskania związków służących jako środki ochrony roślin.

Badania z chemii bioorganicznej, a szczególnie badania nad syntezą i stereochemią peptydów i białek rozwinął Ignacy Z. Siemion wraz ze swoimi pracownikami. Badania dotyczyły syntezy modelowych oligopeptydów oraz problemów konformacji peptydów stanowiących modele biologicznie czynnych substancji peptydowych oraz białek (hormony, enzymy).

Profesor Siemion w latach 1955–1958 pracował w Katedrze Chemii Organicznej UW. pod kierownictwem prof. Henryka Kuczyńskiego, gdzie zajmował się chemią

terpenów. Pierwsze jego prace w dziedzinie chemii peptydów wiązały się z ważnym na początku lat 60-tych problemem racemizacji mającym miejsce podczas syntezy wiązań amidowych. Dalsze zainteresowania badawcze zwracały się w stronę badania konformacji peptydów. W roku 1963 przeprowadził pierwszą w Polsce syntezę hormonu peptydowego. Była to synteza bradykininy, nonapeptydowego regulatora ciśnienia krwi. Pod koniec lat 70-tych Zespół Profesora zajmował się syntezą analogów enkefalin, peptydu tkanki mózgowej o działaniu przeciwbólowym.

W późniejszych latach badania Zespołu I.Z. Siemiona były skierowane bardziej w stronę biologii peptydów. Między innymi wraz z prof. Z. Hermanem odkrył pierwszy molekularny łącznik między układem odpornościowym, a centralnym układem nerwowym. Ponad to wraz z prof. Z. Wieczorkiem zajmował się nową grupą immuno-supresorów opartych na cykloinopeptydzie lnu. Ważne też były prace I.Z. Siemiona nad periodycznością kodu genetycznego. W tych badaniach zapisał się szczególnie dr hab. Piotr Stefanowicz. Rozwiązując powyższe zagadnienia Zespół stosował fizyczne metody badawcze, przede wszystkim rezonans protonowy i rezonans węglowy, spektroskopię w podczerwieni oraz metody spektrofotometryczne, metody chiralooptyczne, widma ORD i CD, spektroskopię Ramana. Osiągnięcia naukowe I. Z. Siemiona i pracowników znalazły wielkie uznanie w literaturze krajowej i zagranicznej.

Poważnym działem w Instytucie Chemii dotyczącym badań struktury roztworów oraz ich własności elektrochemicznych zajmował się Jan Biernat i Zespół w osobie Michał Wilgocki, Jadwiga Urbańska, Maria Żrałko. Stosowali metodę polarograficzną dla uzyskania informacji o strukturze i termodynamice związków kompleksowych w roztworach wodnych. Stałe równowag kompleksowania oznaczali z wyzyskaniem odwracalnych jak również nieodwracalnych reakcji elektrodowych. Do znanych osiągnięć J. Biernata i zespołu w polarografii można zaliczyć teoretyczne opracowanie zagadnienia oznaczania stałych kompleksowania ze zmian potencjałów półfali dla nieodwracalnych procesów elektrodowych. To pozwoliło na rozszerzenie metody polarograficznej na pierwiastki ziem rzadkich.

Interesujące badania struktury i mechanizmu reakcji elektrodowych roztworów związków kompleksowych Pt, Ni, Co prowadziły B.J. Trzebiatowska i M. Ostern, uzyskując wyniki, w których stwierdzono i wyłumaczono teoretyczne zależności aktywności katalitycznej jonów metali w redukcji jonów wodorowych od struktury kompleksu.

Lech Pajdowski z grupą swoich współpracowników prowadził obszerne badania metodą potencjometryczną nad mechanizmem tworzenia, stałymi trwałości i strukturą w roztworach kompleksów wanadu, żelaza i chromu z pochodnymi kwasów karboksylowych. Wyniki tej grupy, dotyczące wanadu III były najpełniejszym w skali światowej opracowaniem równowag i chemii kompleksów tego metalu w roztworze. Badania nad równowagami kompleksów miedzi z tiomocznikiem w roztworze miały aspekt praktyczny. Pozwoliły na doskonalenie procesu elektrorafinacji miedzi i uzyskanie tej miedzi o wyższej jakości.

B. Jeżowska-Trzebiatowska zainicjowała badania struktury roztworów związków nieorganicznych w rozpuszczalnikach organicznych. Zbadała procesy asocjacji i dysocjacji związków uranilowych w rozpuszczalnikach o niskich i wysokich stałych dielektrycznych. Rozwinęła metodę akustyki molekularnej.

Wraz z S. Ernestem prowadziła badania dotyczące problemów solwatacji soli metali w roztworach wodnych i wodno-organicznych.

Badania zainicjowane przez B. Jeżowską-Trzebiatowską i J.J. Ziółkowskiego dotyczyły struktury i reaktywności związków koordynacyjnych i metaloorganicznych. Badania te prowadzone były w dwóch aspektach: katalitycznego utleniania (J.J. Ziółkowski) i uwodornienia (F. Pruchnik) związków organicznych. Głównym osiągnięciem w zakresie katalitycznego utleniania było wyizolowanie i wszechstronne zbadanie struktury reaktywnej postaci katalizatora kobaltowego klasteru o charakterystycznym trójkątnym rdzeniu, którego struktura elektronowa decydowała o własnościach katalitycznych.

Prof. J.J. Ziółkowski opracował schemat katalitycznego działania tego związku i znalazł eksperymentalne potwierdzenie założonego mechanizmu utleniania. Florian Pruchnik w swoich badaniach zajmował się katalizatorami procesu uwodornienia, a w szczególności otrzymywaniem i badaniem struktury elektronowej i molekularnej dwu nowych związków w niskich stanach walencyjnych rodzaju II z fosfinami, wykazujących dużą aktywność w reakcjach uwodornienia olefin. Te zbadane związki były materiałami wyjściowymi dla syntezy innych związków kompleksowych rodzaju.

Dziedzina katalizy homogenicznej obejmowała także badania nad wiązaniem i aktywnością małych cząsteczek gazów przez związki kompleksowe. Badania te prowadzili: B. Jeżowska-Trzebiatowska i Piotr Sobota, a obejmowały syntezę, strukturę i reaktywność kompleksów N_2 , CO_2 i CO . Otrzymali nowe kompleksy metali przejściowych z azotem molekularnym uwalniającym amoniak i hydrazę. Wielkim osiągnięciem było otrzymanie kompleksu tytanu z dwutlenkiem węgla, który można było przeprowadzić w kwas mrówkowy oraz opracowanie katalitycznej metody syntezy mrówczanów z dwutlenkiem węgla i wodoru.

Na lata 50. przypada rozkwit działu, który zajmował się mechanizmem i kinetyką reakcji chemicznych, szczególnie procesami oksydacyjno-redukującymi.

B.J. Trzebiatowska, M. Wrońska, J. Nawojska, J. Kaleciński zajmowali się problematyką związaną z mechanizmem bezpośredniego i pośredniego przeniesienia elektronu w reakcjach między jonami tego samego znaku. Wymieniona grupa naukowców wykryła redukujące własności wodorotlenków alkalicznych oraz zbadała kinetykę i mechanizm ich działania na silne utleniacze i podała teorię tego procesu. Te prace stały się znane w literaturze światowej i zapoczątkowały badania w Anglii, Czechosłowacji, NRD.

Maria Wrońska wraz ze współpracownikami zajęła się teorią wpływu efektu jonowego na kinetykę przebiegu reakcji jonowych.

Po raz pierwszy zastosowano technikę pomiaru kinetyki reakcji szybkich do badań szybkości przebiegu reakcji w roztworach, zbudowano prototypową aparaturę pomiarową.

Pod koniec lat pięćdziesiątych zostały intensywnie rozwinięte badania z chemii jądrowej. Zastosowanie radioizotopów, tzn. wskaźników i efektów radioizotopowych przez panią Profesor Jeżowską-Trzebiatowską, S. Wajdę, J.J. Ziółkowskiego w pionierskich badaniach chemicznych, przyniosły owocne rezultaty w określeniu struktury związków chemicznych i procesów fizykochemicznych i mechanizmów reakcji.

Natomiast pod koniec lat 60-tych rozwinęła się chemia radiacyjna. W Instytucie podjęto obszerne badania nad radiolizą roztworów alkalicznych pod wpływem promieniowania izotopu ^{60}Co . Po raz pierwszy w literaturze światowej został opracowany mechanizm radiolizy rodnikowej i molekularnej w stężonych alkaliach. Pani Profesor i J. Kaleciński doprowadzili po raz pierwszy do poznania wielostopniowego mechanizmu reakcji radiacyjnej oksyanionów metali przejściowych. Badania te uznane zostały za podstawowe w chemii radiacyjnej roztworów wodnych i umieszczone w monografii M. Haïssinskiego.

J. Dzięgielewski, J. Kalecinski, B.J. Trzebiatowska rozwinęli badania nad mechanizmem procesów radiacyjnych kompleksów metali przejściowych oraz rozpoznali wpływ struktury kompleksów na szybkość reakcji z pierwotnymi produktami radiolizy wody. Podjęli także obszerne badania nad ustaleniem warunków radiacyjnej sterylizacji antybiotyków w fazie stałej – szeregu penicylin, syntarpeny, viomycyny, erytromycyny i tetracyklin.

W latach powojennych i dalej Instytut Chemii rozwijał ożywioną współpracę międzynarodową. Bliskie i liczne kontakty utrzymywał z ośrodkami naukowymi Europy Zachodniej, Środkowej i Wschodniej, jak również ze Stanami Zjednoczonymi, Kanadą. Profesorowie i docenci Instytutu Chemii zapraszani byli z wykładami do ośrodków światowych, młodzi naukowcy wyjeżdżali na dłuższe staże zagraniczne do produjących Uniwersytetów i Instytutów Europy, USA, Kanady i Japonii.

W dziedzinie struktury związków koordynacyjnych i kompleksów metaloorganicznych rozwijana była współpraca z: Instytutem Chemii Ogólnej i Nieorganicznej AN ZSRR, Instytutem Chemii Fizycznej Ukraińskiej Akademii Nauk w Kijowie, Instytutem Chemii Fizycznej AN ZSRR, Politechniką w Bratysławie, Instytutem Chemii Organicznej Bułgarskiej AN, Uniwersytetem w Lipsku i Jenie. Natomiast w dziedzinie kinetyki i katalizy homogenicznej, aktywności małych molekuł gazów z Instytutem Fizyki Chemicznej AN ZSRR, Instytutem Związków Elementoorganicznych AN ZSRR.

W dziedzinie spektroskopii współpracowano z Instytutem Spektroskopii AN ZSRR, Katedrą Spektroskopii Uniwersytetu w Leningradzie, Instytutem Fizyki AN w Bułgarii, Instytutem Fizyki Politechniki w Budapeszcie.

W dziedzinie oddziaływań międzymolekularnych z Instytutem Chemii i Fizyki Uniwersytetu w Lublianie, Instytutem Chemii Fizycznej AN NRD w Berlinie.

Dobrze układała się także współpraca z krajami zachodnimi w dziedzinie struktury związków koordynacyjnych, spektroskopii, radiospektroskopii i oddziaływań międzymolekularnych, chemii radiacyjnej. Współpracowano z Laboratorium Curie i Instytutem Fizyki Uniwersytetu w Paryżu, Uniwersytetem Stanowym na

Florydzie (USA), Uniwersytetem w Urbana (USA), Instytutem Oersteda Uniwersytetu w Kopenhadze, Wydziałem Chemii Uniwersytetu w Salford, Imperial College Uniwersytetu Londyńskiego i innych.

Profesorowie i docenci Instytutu Chemii zapraszani byli z wykładami do ośrodków światowych, młodzi naukowcy wyjeżdżali na dłuższe staże zagraniczne do przodujących Uniwersytetów i Instytutów Europy, Stanów Zjednoczonych, Kanady i Japonii. W Instytucie Chemii przebywali stażyści ze Związku Radzieckiego, Bułgarii, Rumunii, NRD, Czechosłowacji, Węgier, Jugosławii, Indii, Egiptu, Australii, Wietnamu.

Instytut Chemii był wielokrotnie organizatorem Konferencji i Kongresów. W roku 1962 we Wrocławiu zostało zorganizowane międzynarodowe sympozjum „Teoria i struktura związków kompleksowych”. Sympozjum pod przewodnictwem prof. B. Jeżowskiej-Trzebiatowskiej gościło wielu znanych chemików m.in. F. Basolo, D.C. Bradley, J.P. Mathieu i inni.

W Karpaczu, od 1964 roku organizowane były tzw. letnie szkoły chemii koordynacyjnej. W 1967 roku zorganizowano pierwsze w Polsce seminarium poświęcone zagadnieniom wiązania wodorowego i oddziaływań międzycząsteczkowych. Artykuły przeglądowe, opracowane na podstawie referatów wygłoszonych na seminarium zostały opublikowane w książce „Wiązanie wodorowe” pod red. Lucjana Sobczyka (1969).

Rok 1970 był dla świata naukowego, rokiem ważnym. Powierzono bowiem Polsce zorganizowanie XIII Międzynarodowej Konferencji Chemii Koordynacyjnej. Odbyła się ona w Krakowie i Zakopanem. Prezydentem i przewodnicząca komitetu organizacyjnego była prof. B. Jeżowska-Trzebiatowska. Wykłady wygłosili: J.C. Bailar, K. Nakamoto, K.B. Jacymirski, L. Kolditz i wielu innych naukowców.

W roku 1972 w Instytucie odbyła się Międzynarodowa Konferencja Spektroskopii Molekularnej. Sekretarzem konferencji był Henryk Ratajczak.

W 1973 UNESCO, IUPAC i PAN powierzyli prof. B.J. Trzebiatowskiej zorganizowanie we Wrocławiu I Międzynarodowego Kongresu Doskonalenia Nauczania Chemii.

W 1977 roku we Wrocławiu odbył się XIII European Congress on Molecular Spectroscopy. Przewodniczącym kongresu był H. Ratajczak, współpracowali z komitetem Z. Mielke, J. Drożdżyński, J. Legendziewicz.

Niejednokrotnie naukowcy z Instytutu, następnie Wydziału Chemii organizowali szereg cyklicznych konferencji: Seminarium „Dielektryczne i optyczne aspekty oddziaływań międzycząsteczkowych”, Szkoła Fizykochemii Organicznej, Wiosenna Szkoła Problemów Dydaktyki Chemii, Excited State of Transition Elements (ESTE), Winter Workshop on Spectroscopy and Structure of Rare Earth Systems (RESS), Winter School on Coordination Chemistry, Sympozium on Inorganic Biochemistry and Molecular Biophysics, Letnia Szkoła Chemii i Aktywności Biologicznej Pestycydów. W roku 2006 zorganizowano, 6th International Conference on *f*-elements, w 2008, European Biological Inorganic Chemistry Conference, w 2009,

International Symposium on Two-Dimensional Correlation Spectroscopy, w 2014, 17th International Conference on Luminescence and Optical Spectroscopy of Condensed Matter.

Instytut Chemii doskonale współpracował z gospodarką narodową i przemysłem.

Już od samego początku wszelkie działania pracowników Instytutu podążały za generalną zasadą, że badania podstawowe, na wysokim poziomie, mogą być źródłem idei o istotnym znaczeniu praktycznym. W ciągu lat 1971–75 wszystkie zespoły badawcze Instytutu podjęły badania wchodzące w zakres 8 problemów węzłowych i jednego problemu resortowego. Badania te miały nie tylko znaczenie poznawcze, ale także znaczenie praktyczne. Szczególne znaczenie miały badania nad wydzieleniem i rozdzielaniem miedzi oraz metali towarzyszących z produktów przemysłu miedziowego metodami hydrometalurgicznymi.

W ramach problemu węzłowego „Kompleksowe wykorzystanie rud miedzi z Nowego Zagłębia”, badania dotyczyły elektrorafinacji miedzi w Hucie Miedzi w Legnicy. Zespół prof. L. Pajdowskiego przeprowadził badania nad udoskonaleniem elektrorafinacji miedzi i rolę jaką miały odegrać w tych badaniach inhibitory. Efektem tej pracy jest patent nr 156236.

Zespół B.J. Trzebiatowska, T. Mikulski, S. Kopacz opracowali szereg metod hydrometalurgicznego rozdzielania i wydzielenia niektórych metali ziem rzadkich (Re, Mo, V, Ge, Ni, Co). Skutkiem praktycznym tych badań jest patent nr 169003, w którym opracowano tani i efektywny układ ekstrakcyjny dla miedzi i metali rzadkich na bazie kwasów tłuszczowych.

Prace prowadzone przez Profesora J. Dzięgielewskiego w ramach problemu „Metody, środki wytwarzania promieniowania jądrowego w gospodarce narodowej” zaowocowały także patentem nr 75883, gdzie opracowano sposoby przedłużania trwałości antybiotyków szczególnie ze względu na zawartość bakterii.

W problemie „Opracowanie technologii wytwarzania wyrobów z metali i stopów o sprawdzonych własnościach fizycznych” zespół A. Kiszy opracował i wdrożył metodę otrzymywania super czystych metali, indu i galu przez elektrorafinację w stopionych solach organicznych. Inni współpracownicy tego zespołu opracowali i wykonali prototyp cyfrowego chronopotencjometru CHP-3C.

W ramach problemu „Kataliza i adsorpcja” zespoły J.J. Ziółkowskiego i F.P. Pruchnika opracowały kilka układów katalitycznych nadających się do zastosowania w przemysłowych procesach utleniania i uwodornienia węglowodorów, badania te zostały opatentowane. Wskutek tych badań powstały nowe katalizatory, które miały zastosowanie praktyczne.

W pracach objętych problemem „Nowe materiały dla elektroniki” zespół B.J. Trzebiatowska i K. Bukietyńska zajmował się poszukiwaniem nowych ciekłych materiałów laserujących, w szczególności badaniem ich właściwości, w tym struktury elektronowej.

Niezależnie od powyższych badań Instytut Chemii prowadził szeroką współpracę z szeregiem placówek przemysłowych i naukowych. Był ściśle powiązany z Zagłębiem Miedziowym, Zakładami Azotowymi w Kędzierzynie, Instytutem Ciężkiej Syntezy Organicznej „Blachownia”, z Zakładami Chemicznymi w Żórawinie, Instytutem Chemii Przemysłowej w Warszawie i innymi.

Profesor B.J. Trzebiatowska pisała „...*spojrzenie wstecz wymagało zawsze zastanowienia, czy praca była celowa, czy przyniosła owoce. Bogaty był dorobek naukowy Instytutu Chemii – dorobek ludzi, którzy poświęcili życie nauce. Z satysfakcją należało patrzeć na przebytą drogę i mieć pewność, że dorobek ten nie został stracony*”.

Dorobek ten nie tylko, że nie został stracony, wręcz przeciwnie został pomnożony przez mądrych, ogromnie pracowitych naukowców, którzy przyczynili się do powstania w 1995 roku Wydziału Chemii. Organizatorem oraz pierwszym jego dziekanem został prof. dr hab. Józef J. Ziółkowski (1995–1999), kolejnymi prof. dr hab. Jerzy P. Hawranek (1999–2005), prof. dr hab. Leszek Z. Ciunik (2005–2012), prof. dr hab. Anna M. Trzeciak (2012–).

Ogromny wkład pracy, jaki wnieśli pracownicy naukowcy pracujący w zespołach badawczych w Instytucie Chemii, następnie na Wydziale Chemii w latach 1951–2014 wyraził się w liczbie 8641 oryginalnych prac naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach światowych, z listy filadelfijskiej za lata 1989–2014, w liczbie 5356, gdzie łączny impact factor wynosił 10900, a patentów dopracowaliśmy się 120. Ten bardzo okazały dorobek naukowy przyczynił się do jeszcze wspanialszego wizerunku Wydziału Chemii, a dowodem na to jest uzyskanie statusu Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego.

Prestżowa przynależność do KNOW jeszcze bardziej angażować będzie naukowców do przeprowadzania kompleksowych badań naukowych w zakresie biotechnologii, chemii, immunologii i innych oraz spowoduje wykorzystanie wyników tych badań do tworzenia nowych technologii i transferu „od pomysłu do przemysłu.”

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W. Florian, *Uniwersytet Wrocławski po dwudziestu pięciu latach*. [w:] *Uniwersytet Wrocławski w latach 1945-1970. Księga jubileuszowa*, W. Florian (Red.), Wrocław 1970, s. 1.
- [2] J. Mergentaler, *Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii* [w:] *Uniwersytet Wrocławski w latach 1945-1970. Księga jubileuszowa*, W. Florian (Red.), Wrocław 1970, s. 151.

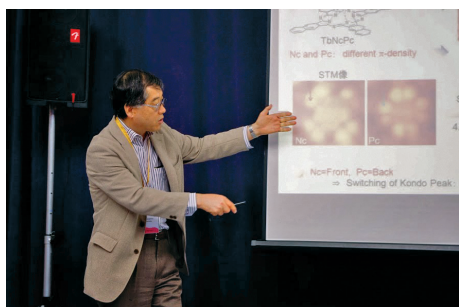
*Kazimiera Lukjan
na podstawie materiałów archiwalnych
prof. Bogusławy Jeżowskiej-Trzebiatowskiej
z zachowaniem stylu i klimatu tamtego okresu*

INFORMACJE

SPRAWOZDANIE Z MIĘDZYNARODOWEGO KONGRESU MŁODYCH CHEMIKÓW YOUNGCHEM 2014



W dniach 08–12 października 2014 w Szczecinie odbyła się dwunasta edycja Międzynarodowego Kongresu Młodych Chemików YoungChem 2014, organizowanego w całości przez członków Chemicznego Koła Naukowego „Flogiston”, a zarazem studentów Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej. W tym roku gościliśmy na konferencji około 70 uczestników, którzy w formie prezentacji ustnej bądź plakatu mieli szansę zaprezentować wyniki swoich badań.



Na konferencji gościliśmy także szereg znakomitych profesorów z różnych stron świata. W tym roku odwiedzili nas profesor Sijbren Otto z University of Groningen w Holandii, profesor Masahiro Yamashita z Tohoku University w Japonii, profesor Stephen Liddle z Nottingham University w Anglii, profesor Jorge Gascon z Delft University of Technology w Holandii, profesor Lee Cronin z University of Glasgow w Szkocji i profesor Joachim Thiem z University of Hamburg w Niemczech. Jako że rok 2014 został ogłoszony Międzynarodowym Rokiem Krystalografii, zaprosiliśmy także panią profesor Marię Gdaniec, z Uniwersytetu





Adama Mickiewicza w Poznaniu, która jest Przewodniczącą Komitetu Krystalografii Polskiej Akademii Nauk.

Co więcej, specjalny wykład wygłosił także kilkakrotnie nominowany do Nagrody Nobla profesor Mieczysław Mąkosza, który jako sympatyk naszego koła od lat gości na Kongresie YoungChem.



Pierwszego dnia konferencji, po uroczystym rozpoczęciu i pierwszych wykładach każdy uczestnik miał szansę poszerzyć grono swoich znajomych na grillu integracyjnym, gdzie można było wymienić doświadczenie naukowe i zaznajomić się z tematyką oraz metodyką pracy nowych kolegów z niemal całego świata.



Dwa kolejne dni w całości poświęcone były na sesje prezentacji ustnych oraz sesje posterowe, w trakcie których przedstawiane były wyniki badań z różnych dziedzin chemii – poczynając od chemii organicznej i metaloorganicznej, poprzez chemię analityczną, aż po krystalografię i materiałoznawstwo.



Ostatniego dnia uczestnicy mieli okazję zwiedzić Szczecin na organizowanej przez nas wycieczce. Była to okazja do zaznajomienia się bliżej z pięknem tego historycznego miasta i z polską kulturą samą w sobie – okazja wyjątkowa zwłaszcza dla gości z najdalszych stron świata, takich jak Republika Afryki Południowej, Indonezja czy Brazylia.

Nasz kongres jest jednocześnie konkursem na najlepszy poster i najlepszą prezentację, o którego wynikach decyzję podejmuje opiekun naszego koła – profesor Michał Fedoryński, wraz

z zaproszonymi prelegentami i gośćmi z Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej. Nagrody wręczane są ostatniego dnia, na uroczystym bankiecie, będącym jednocześnie podsumowaniem konferencji. W tym roku najlepszym posterem mógł



pochwalić się członek komitetu organizacyjnego – Michał Więclaw, pracujący w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk, zaś najlepszą prezentację wygłosił Niemiec Jens Dobler z Berlin Institute of Technology. Każdy z uczestników mógł również oddać głos na osobę, która zaprezentowała wg niego

najciekawsze badania. W tym roku nagrodę publiczności otrzymała Małgorzata Głuszek z Politechniki Warszawskiej.

Tegoroczną edycję konferencji uznaję za w pełni udaną. Było nam bardzo miło słyszeć wiele słów uznania za tak dobrze zorganizowane wydarzenie – zarówno od zaproszonych prelegentów, jak i od uczestników. Potwierdzają to liczne wpisy w naszej książce pamiątkowej, gdzie przeczytać można podziękowania za tak wysoki poziom naukowy i niepowtarzalną atmosferę konferencji. Na szczególne uznanie zasługuje komitet organizacyjny w składzie: Agata Kołodziejczyk, Karolina Zieniewska, Joanna Rogińska, Mateusz Gocyła, Olga Gutowska, Karolina Jaszczyk, Barbara Jurkowska, Yaraslava Kavetskaya, Filip Maciąg, Marcin Orawiec, Michał Więclaw i Andrzej Wiśniewski.

Chciałabym niniejszym podziękować Magazynowi *Wiadomości Chemiczne* za pomoc przy promocji przedsięwzięcia. Mamy nadzieję, że nasza współpraca będzie kontynuowana z korzyścią dla obu stron.

Z poważaniem.

Agata Kołodziejczyk
Prezes Chemicznego Koła Naukowego „Flogiston”

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”**CENY PRENUMERATY NA ROK 2014**

Redakcja miesięcznika PTChem „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2014 r. będzie wynosiła **210 zł + 5% VAT** 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 2014 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
Bank BGŻ
54 2030 0045 1110 0000 0261 6290



PODZIĘKOWANIA

Komitet Redakcyjny „Wiadomości Chemicznych” pragnie złożyć słowa podziękowania za okazaną pomoc i wsparcie finansowe w roku 2014:

- Wydziałowi Chemicznemu Politechniki Wrocławskiej,
- Wydziałowi Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,
- Wydziałowi Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Jednocześnie kieruję apel do dziekanów wydziałów chemicznych wyższych uczelni oraz kierowników innych jednostek chemicznych o wsparcie finansowe naszego czasopisma.

prof. dr hab. Zdzisław Latajka
Redaktor Naczelny

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.

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 indywidualów 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. Stręć, M. Suszyńska, cena 25 zł.

Praca zbiorowa, *Ogniwa paliwowe – nowe kierunki rozwoju*, red. H. Drulis, J. Hanuza, D. Hreniak, M. Miller, G. Paściak, W. Stręć, 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 substacji 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 I INFORMACJE DLA AUTORÓW PUBLIKUJĄCYCH W CZASOPIŚMIE „WIADOMOŚCI CHEMICZNE”

1. Informacje ogólne

„Wiadomości Chemiczne” są recenzowanym czasopismem naukowym Polskiego Towarzystwa Chemicznego, które publikuje przede wszystkim artykuły przeglądowe. Ponadto publikowane są tutaj inne **wartościowe** materiały o charakterze edukacyjno-informacyjnym takie jak: artykuły oparte na pracach doktorskich lub habilitacyjnych, które zostały wyróżnione przez Rady Wydziałów, przed którymi toczyły się odpowiednie procesy; materiały informacyjne na temat uczonych oraz jednostek naukowych/firm chemicznych lub pokrewnych chemii; materiały o aktualnych osiągnięciach w szeroko pojętych naukach chemicznych.

Dodatkową ofertę Wydawnictwa stanowią dwie odrębne serie, „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz seria „Habilitacje”. W serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” publikowane są dłuższe artykuły przeglądowe lub monografie poświęcone ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii, w ramach serii wydawniczej pod nazwą „Habilitacje” mogą być publikowane prace habilitacyjne z obszaru chemii. Zważywszy, że zgodnie z ustawą, dopuszczalne jest przedstawianie rozpraw habilitacyjnych albo w formie monografii, albo w formie pliku powiązanych publikacji, poprzedzonych omówieniem w języku polskim (tzw. autoreferatem), Redakcja przewiduje drukowanie obydwu tych wariantów. Autorzy, którzy chcieliby takie prace napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją, a następnie przesłać wstępnie przygotowaną publikację (redagowaną na wzór artykułów w czasopiśmie „Wiadomości Chemicznych”) lub informację na temat przygotowywanej pracy – tytuł przygotowywanej publikacji, przybliżoną liczbę stron, tabel, rysunków. W chwili obecnej Redakcja nie posiada środków na finansowanie prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz serii „Habilitacje”. W zależności od sytuacji finansowej Wydawnictwa, Redakcja zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

„Wiadomości Chemiczne” znajdują się na liście czasopism punktowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Zawartość czasopisma dostępna jest zarówno w formie drukowanej jak i elektronicznej. Elektroniczny dostęp do pełnych tekstów prac jest możliwy poprzez stronę Dolnośląskiej Biblioteki Cyfrowej, <http://www.dbc.wroc.pl/>.

Anglojęzyczne streszczenia wszystkich opublikowanych prac są dostępne na stronie internetowej „Wiadomości Chemicznych”, <http://old.pages.wchuwr.pl/wiadchem.html>.

Czasopismo od wielu lat jest indeksowane/abstraktowane w dwóch bazach danych (Chemical Abstracts oraz AGRO), a od roku 2012 zostały umieszczone w bazie Polskiej Bibliografii Naukowej, <https://pbn.nauka.gov.pl/journals/24384>.

2. Informacje dla autorów na temat wymagań i zasad publikowania prac

- Prace nie były wcześniej publikowane, ani nie są złożone w redakcji innego czasopisma.
- Autorzy prac stosują się do wymagań praw autorskich tzn. w przypadku zamieszczania rysunków, tabel itp., pochodzących z opracowań opublikowanych w innych czasopismach lub publikacjach zwartych, posiadają pisemną zgodę na ich przedruk.
- Opublikowana raz praca bez zgody Redakcji, nie może być wydawana gdzie indziej.
- Autorzy przysyłający prace po raz pierwszy powinni podać swój numer telefonu oraz adresy poczty tradycyjnej i elektronicznej. Jest to niezbędny warunek sprawnego przebiegu opracowania redakcyjnego tekstu.
- Autorzy zobowiązani są do wykonania korekty tekstu. W pracach przyjętych do druku Redakcja ma prawo dokonywania niezbędnej korekty.
- Jeżeli autorzy nie zastrzegą inaczej w momencie zgłoszenia pracy, wydawca nabywa ogólnych praw autorskich do wydrukowanych prac (w tym prawo wydawania na nośnikach elektronicznych oraz w Internecie). Tytułem powyższego wykorzystania utworów autorom nie są wypłacane honoraria.
- Wszystkie nadsyłane prace są poddawane wstępnej ocenie, która określa czy odpowiadają randze i profilowi „Wiadomości Chemicznych” oraz czy zostały przygotowane zgodnie z formalnymi wymogami MNiSW oraz Redakcji.
- Po uzyskaniu pozytywnej wstępnej oceny wszystkie prace są recenzowane przez co najmniej 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/201110216_MNISW_broszura_210x210.pdf.
- O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny.
- Prace, które Komitet Redakcyjny na podstawie uzyskanych recenzji stwierdził, że nie należy przyjąć do druku w czasopiśmie, po uwzględnieniu sugestii recenzentów mogą być powtórnie przesłane do czaso-

pisma. W takim przypadku praca traktowana jest jako nowy tekst i ponownie przechodzi pełną procedurę recenzowania.

- Ponadto Komitet Redakcyjny informuje, że tzw. „ghostwiting” (ktoś wniósł znaczący wkład w powstanie publikacji, a nie został przedstawiony jako współautor lub też nie został wymieniony w podziękowaniu zamieszczonym w publikacji) lub „guest authorship” (udział autora jest znikomy lub też w ogóle nie miał miejsca, a mimo to jest współautorem publikacji) są przejawem nierzetelności naukowej. Wszelkie przejawy nierzetelności naukowej, łamanie i naruszanie zasad etyki obowiązującej w nauce będą ujawniane, włącznie z powiadomieniem jednostek zatrudniających autorów.
- Autorzy mają prawo do zaproponowania co najmniej trzech niezależnych recenzentów, jednak ostateczny wybór anonimowych recenzentów dokonuje Redakcja.

3. Koszty

Autorzy czasami mogą ponosić częściowe koszty wydania swoich artykułów. Tak jest w przypadku tzw. **stron nadliczbowych** tj. powyżej 25 stron. Za każdą rozpoczętą nadliczbową stroną jest naliczana opłata w wysokości około 50 zł. Najczęściej kwota ta pokrywana jest z funduszy pozyskiwanych przez Autorów lub przez Wydziały które wspomagają wydawanie „Wiadomości Chemicznych”. Niezależnie od rodzaju pracy opłata pobierana jest również za **kolorowe rysunki i wykresy** (zgodnie z faktycznym kosztem druku).

Redakcja zastrzega sobie możliwość zmiany wysokości opłat, w zależności od wielkości dofinansowania z MNiSW oraz wypracowanych środków własnych. Faktura wystawiana jest po ukazaniu się pracy.

W przypadku prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz „Habilitatione”, Redakcja nie posiada środków na finansowanie i zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

4. Informacje szczegółowe dotyczące przygotowania maszynopisu do druku

4.1. Wymagania merytoryczne

Tekst należy napisać zwięźle, prostym stylem, według zasad pisowni polskiej, z zachowaniem poprawnego i obowiązującego nazewnictwa fachowego. Nie należy zamieszczać nadmiaru szczegółów odsyłając Czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego, które to powinno uwzględniać najnowsze informacje, dotyczące napisanej pracy. Literaturę należy cytować ze źródeł oryginalnych.

4.2. Wymagania techniczne składu tekstu

- W przypadku prac współfinansowanych przez autorów, liczba stron oraz forma kolorystyczna manuskryptu nie jest ograniczona (wymagane jest wcześniejsze uzgodnienie z Redakcją).
- Maszynopisy prac autorów którzy nie chcą ponosić dodatkowych kosztów, nie powinny przekraczać 25 stron całej pracy (po wydruku w czasopiśmie) oraz drukowane będą w wersji czarno białej.
- Główny tekst nadsyłanych prac powinien być napisany w edytorze Word, czcionką Times New Roman, 12p z zachowaniem interlinii 1,5 oraz z 5 cm marginesem z prawej strony. Przy podziale tekstu należy stosować numerację cyfrową wielorzędową. Numerujemy tylko tytuły rozdziałów, **nie numerujemy działów**: Abstract, Wykaz stosowanych skrótów, Wprowadzenie, Uwagi końcowe, Podziękowanie, Piśmiennictwo cytowane. Jednolity sposób numeracji konsekwentnie stosuje się wewnątrz tekstu (w całym tekście tj. zarówno przy numerowaniu rozdziałów, przy przytaczaniu piśmiennictwa cytowanego oraz odwoływaniu się do tabel rysunków itp., **nie należy stosować odsyłaczy hipertekstowych**).
- Tekst powinien być napisany poprawnym językiem, wszystkie skróty muszą być wyjaśnione, oznaczenia i jednostki miar należy podawać według układu SI, pozycje cytowanej literatury należy oznaczać numerami umieszczonymi w nawiasach kwadratowych, w kolejności cytowania wg wzorów [1, 5, 7] (dla prac 1, 5 i 7) lub [1-5, 7] (dla prac od 1 do 5 oraz pracy 7).
- Jeśli w artykułach znajdują się przedruki rysunków, czy innych elementów prac cudzych, w opisach (polskich i angielskich) należy zamieścić stosowną informację.
- Zaleca się umieszczać w tekście pracy rysunki, tabele oraz podpisy (jeśli są przygotowane w edytorze Word), jednak w przypadku plików o bardzo dużych rozmiarach należy zaznaczyć miejsca na ich umieszczenie (zob. Pliki jakie należy przekazać do Redakcji).
- **Pierwsza strona pracy powinna zawierać kolejno:**
 - tytuł pracy w języku polskim (Times New Roman, 14 p, pogrubiony, WERSALIKI), i angielskim (Times New Roman, 14 p, WERSALIKI),
 - pełne imię i nazwisko autora (autorów) pracy (Times New Roman, 15p, pogrubione),
 - pełne nazwy ośrodków przypisane do autorów pracy (wraz z adresem ośrodka i adresem e-mail autora korespondującego (Times New Roman, 10,5, kursywa),
 - spis treści pracy z zastosowaniem następującego podziału:

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Tytuł rozdziału

1.1. Tytuł podrozdziału itp.

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

• **Kolejne strony pracy powinny zawierać:**

- **notki o autorach** pracy wraz z tytułami naukowymi (można dołączyć osobno pliki z fotografiami autorów (zob. **Pliki jakie należy przekazać do Redakcji**),
- **obszerne streszczenie pracy w języku angielskim** (od 1800 do 2700 znaków ze spacjami) z uwzględnieniem cytowanego piśmiennictwa oraz odsyłaczami do tabel, rysunków zamieszczonych w tekście (Rys. 1, Tab. 1-2, Schemat 1) oraz **słowa kluczowe** – nie więcej niż 6, uzyskane najlepiej z bazy hasel przedmiotowych podawane w języku angielskim i polskim,
- **wykaz stosowanych skrótów** – w przypadku niewielkiej liczby skrótów lub akronimów nie jest konieczne zamieszczanie tej pozycji, wówczas, skróty wyjaśniamy w tekście przy pierwszym użyciu. Angielskie skróty należy podać i wyjaśnić wg poniżej podanego wzoru lub w oparciu o inne prace zamieszczone w „Wiadomościach Chemicznych”. Przykład: dla skrótu SSRI – selektywne inhibitory zwrotnego wychwyty serotoniny (ang. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*),
- **dalszy tekst pracy zgodny z podawanym wcześniej spisem treści.**

• **Tabele, rysunki, fotografie**

Jeżeli tabele i rysunki zostały wykonane w edytorze Word, zaleca się, aby były zamieszczone w tekście artykułu, w innym przypadku wymagane jest dołączenie oryginalnych plików.

Tabele i rysunki powinny być przejrzyste, zawierać informacje niezbędne do zrozumienia treści, bez konieczności poszukiwania objaśnień w tekście pracy, należy je numerować cyframi arabskimi oraz podać tytuł (polski/angielski, nad tabelą, pod rysunkiem, Times New Roman, 10 p).

Wszystkie fotografie – należy przesłać w postaci plików zapisanych w formacie tif, jpg lub podobnym, każdą zapisać w oddzielnym pliku o rozdzielczości co najmniej 300 dpi.

• **Piśmiennictwo cytowane**

Piśmiennictwo należy zestawić numerycznie według kolejności cytowania w tekście, należy cytować wyłącznie pozycje istotne dla treści pracy w sposób precyzyjny.

W przypadku **artykułów z czasopism tradycyjnych**, opis powinien zawierać kolejno następujące elementy: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, **numer wolumenu zaznaczony pogrubioną czcionką**, numer pierwszej strony cytowanej pracy, np.

[1] J. Kowalski, Wiad.Chem., 2007, **61**, 473.

[2] W. Kowalski, A. Nowak, Przem. Spoż. 2010, **51**, 3.

W przypadku **książek** najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł książki, nazwę wydawcy, miejsce wydania, rok wydania, np.

[1] J. Malinowski, Tytuł książki, PWN, Warszawa, 2004.

[2] W. Kowalski, Tytuł książki, Volumed, Wrocław, 1999

W przypadku zasobów Internetowych najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł (artykułu) dokumentu online, [dostęp], wydawca, [data dostępu]. Warunki dostępu, np.

[7] J. Kowalski, Tytuł artykułu. [online], wydawca, [dostęp: 2010-05-20]. Dostępny w Internecie: <http://www.....>

4.3. Materiały jakie należy przygotować w celu przesłania pracy do Redakcji

Przed podjęciem decyzji o zakwalifikowaniu pracy do druku w celu oceny merytorycznej należy przesłać **jeden** plik kompletnej pracy zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji.

Po uzyskaniu pozytywnej recenzji i po ustosunkowaniu się do uwag Recenzenta oraz Redakcji należy przesłać ostateczną wersję pracy w następującej postaci:

- 1 plik tekstu zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji;
- 1 plik zawierający krótkie notki biograficzne o autorach nadesłanej pracy (każda notka do 150 wyrazów powinna zawierać: tytuł naukowy, miejsce pracy oraz inne ważne informacje o autorze);

- pliki zawierające zdjęcia portretowe autorów, w nazwie powinny wskazywać autora, którego zdjęcie dotyczy (dobrowolne, przesłanie plików jest jednoznaczne ze zgodą na jego opublikowanie);
- 1 plik zawierający: stronę tytułową, streszczenie (abstrakt), słowa kluczowe, podpisy pod rysunki, tabele, schematy (wszystko w obu wersjach językowych); jeśli zachodzi potrzeba to również oddzielne pliki z rysunkami, schematami, tabelami (zob. Tabele, rysunki, fotografie).

Prace nie odpowiadające wyżej wymienionym wymaganiom nie będą przyjmowane do druku. Redakcja zastrzega sobie prawo dokonywania poprawek stylistycznych i skrótów. Autorzy są zobowiązani do wykonania korekty artykułu i jego zwrotu do Redakcji w ciągu kilku dni od otrzymania.

Na etapie przygotowania szczytki, w przypadku przesyłania prac z kolorowymi stronami prosimy o zaznaczenie, stron które w formie druku mają być czarno-białe. Brak tej czynności może **skutkować wystawieniem faktury za wydruk kolorowych stron**. W przypadku zmian kolorowych rysunków na czarno białe prosimy również o zasygnalizowanie, że w postaci elektronicznej, życzą sobie Państwo wersję w kolorze.

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

Prace prosimy przysyłać pocztą elektroniczną na adres: *beata.swiatek-tran@chem.uni.wroc.pl* lub *wchem@chem.uni.wroc.pl*, zaś dokumenty wymagające podpisów autorów (np. list intencyjny, oświadczenia autorów, kopie zgody na przedruk potwierdzone za zgodność z oryginałem) pocztą tradycyjną na adres Redakcji.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

SPIS TREŚCI

Wyróżnione prace doktorskie i habilitacyjne

Agnieszka HRYNIEWICKA: Synteza i zastosowanie nowych katalizatorów metatezy olefin	961
Wanda Paulina NAWROCKA, Anna NOWICKA: Syntezy i aktywność biologiczna wybranych zasad Mannicha	981
Renata KOŁODZIEJSKA, Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA, Marcin WRÓBLEWSKI, Beata AUGUSTYŃSKA: Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Reakcje redukcji. Część II	1009
Agnieszka DROŻDŻ, Rafał BIELAS, Anna CHROBOK: Dwie dekady chemo-enzymatycznej reakcji Baeyera-Villigera	1031
Ewa SZCZEPAŃSKA, Filip BORATYŃSKI: Dehydrogenazy alkoholowe pochodzenia mikrobiologicznego – właściwości i ich zastosowanie	1049
Michalina ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA, Maria SWARCEWICZ: Skład chemiczny i aktywność biologiczna lawendy lekarskiej	1073
Jacek WOJACZYŃSKI: Max Rudolf Lemberg (1896–1975) – australijski biochemik o wrocławskich korzeniach	1095
Kazimiera LUKJAN: 60. lat chemii na Uniwersytecie Wrocławskim	1113
Informacje	1129

W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAZĄ SIĘ:

Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Renata KOŁODZIEJSKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA, Marcin WRÓBLEWSKI, Beata AUGUSTYŃSKA: Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Reakcje utleniania. Część I
Adrian Krzysztof ANTOSIK, Zbigniew CZECH: Klasyfikacja klejów samoprzylepnych ze względu na proces otrzymywania
Renata KOŁODZIEJSKA, Renata STUDZIŃSKA, Ewa KOPKOWSKA, Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Beata AUGUSTYŃSKA: Rozdzielenie mieszanin racemicznych za pomocą krystalizacji. Część I. Optymalizacja warunków rozdziału
Justyna LAMPERT, Jarosław POŁAŃSKI: Nowe technologie on-line w dydaktyce e-chemii
Marcin T. KAWCZYŃSKI, Joanna KRECZKO, Zbigniew MAĆKIEWICZ: Peptydy penetrujące – rodzaje i mechanizmy przenikania