

WIADOMOŚCI *chemiczne*



2010

(64)

3-4

(753-754)

ENZYMOLOGIA POJEDYNCZYCH CZĄSTECZEK RNA: WYKORZYSTANIE TECHNIKI FRET W BADANIACH ZWIJANIA SIĘ I DYNAMIKI KONFORMACYJNEJ RYBOZYMÓW

SINGLE-MOLECULE RNA ENZYMOLOGY: USING FRET TO EXPLORE FOLDING AND CONFORMATIONAL DYNAMICS OF RIBOZYMES

Marta Hajdziona, Andrzej Molski

*Pracownia Dynamiki Procesów Fizykochemicznych, Wydział Chemii,
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
e-mail: Marta.Hajdziona@amu.edu.pl, amolski@amu.edu.pl*

Abstract

Wstęp

1. Budowa, występowanie i rola rybozymów
2. FRET pojedynczych par cząsteczek (spFRET)
3. Fałdowanie rybozymów
 - 3.1. Rybozym *Tetrahymena thermophila*
 - 3.2. Rybozym typu *hairpin*
 - 3.3. Inne układy
4. Aktywność katalityczna rybozymów i jej sprzężenie z dynamiką konformacyjną
 - 4.1. Rybozym *Tetrahymena thermophila*
 - 4.2. Rybozym typu *hairpin*
 - 4.3. Inne układy
5. Analiza danych w badaniach pojedynczych cząsteczek RNA
 - 5.1. Rozkłady czasów on i off
 - 5.2. Modelowanie i symulacje eksperymentów spFRET

Podsumowanie i perspektywy

Piśmiennictwo cytowane



Mgr Marta Hajdziona ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Od 2006 roku jest doktorantką w Pracowni Dynamiki Procesów Fizykochemicznych. Prowadzi między innymi badania dotyczące wyznaczania parametrów kinetycznych z pomiarów FRET pojedynczych cząsteczek. Celem jej pracy jest znalezienie optymalnych metod analizy danych w pomiarach FRET pojedynczych cząsteczek.



Prof. dr hab. Andrzej Molski jest absolwentem Wydziału Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Od roku 2002 kieruje Pracownią Dynamiki Procesów Fizykochemicznych. Obecnie prowadzi badania dotyczące teorii spektroskopii fluorescencyjnej pojedynczych cząsteczek. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego.

ABSTRACT

Ribozymes are biologically important macromolecules that play a crucial role in cell metabolism and functions. Knowledge of folding and catalytic properties of ribozymes can be useful in biotechnology and medicine. In this work, we present a review of single-molecule RNA enzymology with particular emphasis on folding and catalysis observed with single-molecule FRET. Single-molecule spectroscopy provides insight into behaviors of individual molecules without averaging inherent in bulk measurements.

In the first section we introduce ribozymes as RNA enzymes [1, 2]. In the second section, we present the structure of RNA molecules and examples of reaction mechanisms (Fig. 1) and function of different types of ribozymes (Fig. 2–5). Next, we review single-molecule FRET spectroscopy (Fig. 6, 7, Eqs. 1, 2). In the fourth section, we present examples of folding dynamics of ribozymes. In the fifth part, we focus on ribozyme catalysis (Fig. 8, 9). We discuss the coupling of conformational dynamics with catalytic reactions. In the last part we present methods of data analysis that can be used to obtain the kinetic rates from single molecule FRET experiments (Fig. 10).

Keywords: ribozymes, single-molecule fluorescence spectroscopy, FRET

Słowa kluczowe: rybozomy, spektroskopia fluorescencyjna pojedynczych cząstek, FRET

WSTĘP

Cząsteczki RNA mające właściwości katalityczne nazywane są rybozymami. Do lat 80. ubiegłego wieku uważano, że jedynymi substancjami katalizującymi reakcje w żywych organizmach są białka (enzymy). Przełom nastąpił, gdy Thomas Cech, prowadząc badania splicingu RNA mające na celu znalezienie enzymu katalizującego wycinanie intronów RNA u *Tetrahymena thermophila*, stwierdził, że w badanych cząsteczkach splicing zachodzi nawet w nieobecności białek, co oznacza, że sama cząsteczka RNA ma właściwości katalityczne [1]. Równolegle Sidney Altman doszedł do podobnego wniosku badając dojrzewanie tRNA (ang. *transfer RNA*) w rybosomach [2]. W 1989 r. Cech i Altman otrzymali Nagrodę Nobla z chemii za odkrycie właściwości katalitycznych RNA.

Istnieje szereg powodów, dla których podejmowane są badania aktywności enzymatycznej rybozymów. Po pierwsze, rybozomy uczestniczą w ważnych reakcjach, których poznanie jest niezbędne do zrozumienia metabolizmu komórkowego. Po drugie, rybozomy mają zazwyczaj prostszą budowę od enzymów białkowych, ponieważ składają się jedynie z czterech rodzajów monomerów, a także ze względu na komplementarność między adeniną i uracylem oraz guaniną i cytozyną. Ponieważ rybozomy są mniej złożone niż enzymy białkowe, mechanizm ich działania powinien być prostszy do rozwikłania. Po trzecie, selektywność działania rybozymów może być wykorzystana w terapii celowanej w RNA, choć wymaga to jeszcze pokonania wielu problemów związanych m.in. ze stabilnością chemiczną oligonukleotydów w środowisku komórkowym, transportem do odpowiedniego miejsca w komórce, fałdowaniem do aktywnej konformacji. Po czwarte, najnowsze osiągnięcia spektroskopii pojedynczych cząsteczek pozwalają na obserwowanie fałdowania i aktywności pojedynczych cząsteczek rybozymów, co dostarcza informacji, które są niedostępne z powodu uśredniania towarzyszącego badaniom zespołów cząsteczek w roztworze.

Ukazał się szereg prac przeglądowych dotyczących rybozymów [3–8]. Niniejsza praca poświęcona jest enzymologii pojedynczych cząsteczek RNA, a w szczególności badaniom ich fałdowania i sprzężeniu dynamiki konformacyjnej z aktywnością katalityczną rybozymów. Jedną z technik służących do badania dynamiki pojedynczych cząsteczek rybozymów jest rezonansowe przeniesienie energii FRET (ang. *Förster Resonance Energy Transfer*) pomiędzy parą fluoroforów – donorem i akceptorem – dołączonych do biopolimeru. Fluorescencja pary donor–akceptor zależy od odległości pomiędzy nimi. Obserwując zmiany intensywności fluorescencji donora i akceptora można uzyskać informacje o zmianach konformacyjnych w cząsteczce. W przypadku rybozymów aktywność katalityczna jest ściśle związana ze zmianami konformacyjnymi w ich strukturze trzeciorzędowej.

1. BUDOWA, WYSTĘPOWANIE I ROLA RYBOZYMÓW

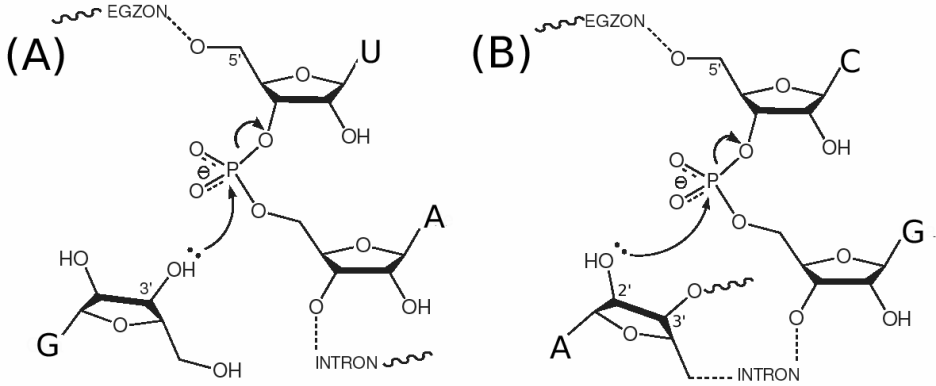
Cząsteczki RNA mają strukturę pierwszorzędową jednoniciowych łańcuchów. Cztery zasady nukleinowe mogą wytwarzać między sobą wiązania wodorowe (adenina z uracylem i cytozyna z guaniną). Powstają w ten sposób motywy strukturalne (pętle, wybrzuszenia, spinki), będące elementami struktury drugorzędowej cząsteczki RNA. Elementy te mogą oddziaływać ze sobą, tworząc przestrzennie sfałdowaną strukturę trzeciorzędową.

Ze względu na fakt, że każdy rybonukleotyd niesie ze sobą jeden ładunek ujemny, fałdowaniu RNA, tj. procesowi tworzenia się struktury trzeciorzędowej, przeszkadza elektrostatyczne odpychanie między elementami składowymi łańcucha. Z tego powodu do wytworzenia się prawidłowej (natywnej) struktury RNA konieczna jest obecność jonów dodatnich. W komórce mogą to być m.in. kationy magnezowe lub sodowe.

Po opublikowaniu odkryć Cecha i Altmana pojawiło się wiele doniesień o aktywności katalitycznej RNA, a także o samo-tnących i samo-składających się cząsteczkach [9, 10]. Ze względu na budowę i rodzaj przeprowadzanej reakcji wśród rybozymów wyróżnia się introny grupy I, introny grupy II, RNA RNazy P, rybozymy typu *hammerhead*, *hairpin*, HDV (ang. *Hepatitis Delta Virus*), VS (ang. *Varkud Satellite*), oraz makrokompleksy rybonukleoproteinowe, i spliceosomy [3]. Choć zdarza się, że w żywych organizmach działanie rybozymów wspomagane jest przez białka, samą aktywność katalityczną wykazuje cząsteczka RNA. Rybozymy przeprowadzać mogą reakcje transestryfikacji (między innymi rybozym typu *hairpin*), transferu nukleotydu (introny grupy I i II), hydrolizy (RNA RNazy P), a także syntezy wiązania peptydowego (rybosom).

Inny podział rybozymów opiera się na wielkości cząsteczek. Wyróżnia się rybozymy małe, o niezbyt skomplikowanej budowie oraz duże, złożone z licznych części helikalnych i pętli. Złożona struktura trójwymiarowa rybozymów pozwala im na przeprowadzenie reakcji katalitycznej w ściśle określonym miejscu. Rybozymy potrafią nie tylko przeorganizować swoje miejsce aktywne, ale także katalizować reakcje poprzez zbliżenie do siebie dwóch substratów [11].

Większość znanych obecnie rybozymów katalizuje reakcje, w wyniku których następuje nieodwracalna zmiana rybozymu, a w konsekwencji utrata właściwości katalitycznych. O takich rybozymach będziemy mówili, że katalizują tylko jeden obrót reakcji. Istnieją jednak rybozymy, które, podobnie jak enzymy białkowe, pozostają niezmienione w wyniku reakcji. Jest to rybozym występujący w rybosomie [12], a także RNA RNazy P [13]. Rybozymy te mogą przeprowadzać wiele obrotów reakcji i są katalizatorami w klasycznym rozumieniu tego terminu. W badaniach *in vitro* wykorzystuje się często modyfikacje rybozymów zdolnych do katalizowania tylko jednego obrotu reakcji do form mogących katalizować wiele obrotów reakcji.



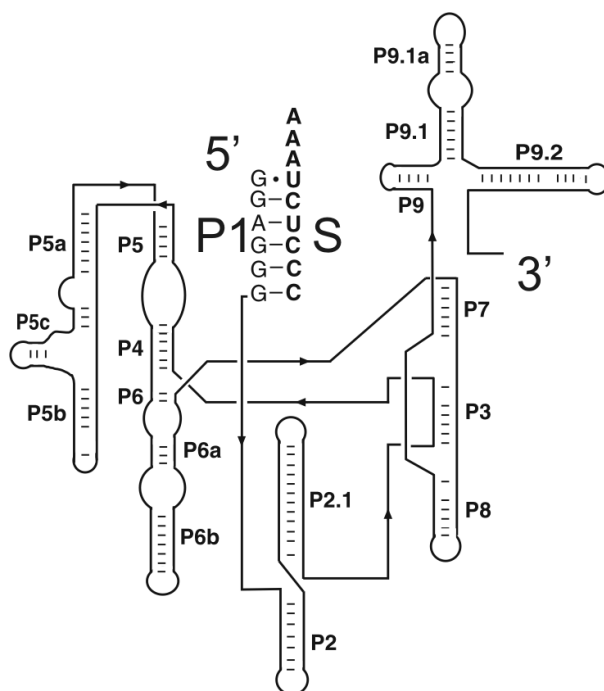
Rysunek 1. Dwa przykłady mechanizmów aktywności katalitycznej rybozymów. A) Intron grupy I: nukleofilowy atak tlenu 3' gwanozyny, która nie należy do rozcinanego łańcucha RNA. B) Intron grupy II: nukleofilowy atak tlenu 2' nukleotydu, będącego częścią intronu wycinanego łańcucha. W obu przypadkach produktem jest egzon z grupą hydroksylową na końcu 3'. Dwa oddzielone wcześniej intronem egzony łączą się, a dodatkowym produktem jest intron, na którego końcu 5' znajduje się reszta gwanozyny

Figure 1. Two examples of catalytic activity of ribozymes. A) Group I intron: nucleophilic attack of a 3' oxygen from guanosine that is not part of the cleaved RNA chain. B) Group II intron: nucleophilic attack of a 2' oxygen from nucleotide that belongs to the intron part of the cleaved RNA chain. In both cases the reaction product is an exon with a hydroxyl group at the 3' end. Two exons, separated by an intron, combine, and an additional product is an intron with a guanosine at the 5' end

W niniejszej pracy skupiono się na najlepiej dotąd zbadanych rybozymach: rybozymie *Tetrahymena thermophila* (intron grupy I) oraz rybozymie typu *hairpin* przeprowadzającym reakcję transestryfikacji 2'O, zaliczanych odpowiednio do grupy dużych i małych rybozymów. W obu przypadkach są to cząsteczki, które *in vivo* katalizują tylko jeden obrót reakcji. Dla porównania omówiono także inne układy, m.in. RNA RNazy P, który katalizuje reakcję hydrolizy oraz Diels-Alderazę (DAzę), katalizującą reakcję cykloaddycji substratów nie będących nukleotydami [11, 14–15].

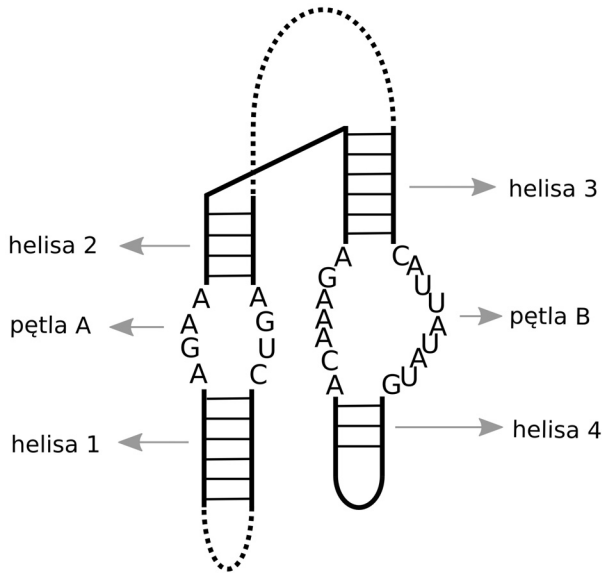
Rybozym *Tetrahymena thermophila* katalizuje wycinanie intronów (niekodujących fragmentów) własnego łańcucha RNA. Rybozym *Tetrahymena thermophila* należy do grupy dużych rybozymów, składa się z wielu części helikalnych oraz licznych pętli wewnętrznych (Rys. 2).

Rybozomy typu *hairpin* biorą udział między innymi w replikacji wirusa mozaiki tytoniowej [16]. W trakcie namnażania tworzy się łańcuch komplementarny do satelitarnego RNA, rybozym typu *hairpin* rozcina komplementarny łańcuch a następnie liguje go i w ten sposób powstaje matryca, na podstawie której syntetyzowane są potomne cząsteczki RNA.



Rysunek 2. Budowa rybozomu *Tetrahymena thermophila*
 Figure 2. Structure of *Tetrahymena thermophila* ribozyme

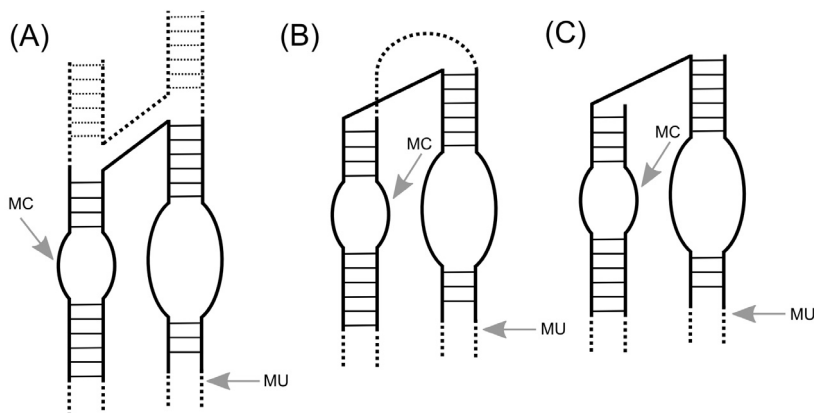
Rybozomy typu *hairpin* mogą znacznie różnić się między sobą budową. Na Rysunku 3 przedstawiono ogólny schemat budowy dla tej grupy cząsteczek RNA. Część aktywna katalitycznie pozostaje niezmienna i składa się z dwóch helikalnych ramion, na których znajdują się pętle wewnętrzne, złożone zawsze z takich samych nukleozydów. W skład pozostałej, niekatalitycznej części mogą wchodzić różne struktury drugorzędowe. Na przykład naturalna forma rybozomu typu *hairpin* wirusa mozaiki tytoniowej składa się z czterech helikalnych ramion: dwóch aktywnych katalitycznie, z pętlami wewnętrznymi i dwóch dodatkowych, dzięki którym działanie rybozomu jest szybsze. Zagadnienie to zostanie dokładniej omówione w rozdziałach 3.2 i 4.2.



Rysunek 3. Budowa rybozymów typu *hairpin*. Linią kropkowaną oznaczono części budowy cząsteczki, różniące się znacznie dla różnych rybozymów i mogące tworzyć różnorodne struktury drugorzędowe. Linią ciągłą oznaczono główną część aktywną katalitycznie, składającą się z dwóch helikalnych ramion, których skład nukleotydowy może być różny. Na tych ramionach znajdują się pętle wewnętrzne, które zbudowane są zawsze z takiej samej sekwencji nukleotydowej i to w ich obrębie przeprowadzana jest właściwa reakcja katalityczna. Obszar, który jest niezmienny dla różnych rybozymów należących do tej samej grupy nazywa się regionem konserwatywnym

Figure 3. Structure of the *hairpin* ribozyme. Dotted line: parts of the molecule which can have different secondary structure for different ribozymes. Solid line – the main catalytic part containing two helical arms which can be constructed from different nucleotide pairs. The helical arms contain internal loops, always built from the same nucleoside sequence, regardless of the kind of ribozyme. The actual catalytic act takes place at the internal loops. A region that is invariant for different ribozymes is called a “conservative region”

W eksperymentach *in vitro* badano zarówno naturalną formę rybozymu (Rys. 4A), jak i jego różne modyfikacje. W formie naturalnej, po zajściu reakcji katalitycznej jedna z części substratu pozostaje przyłączona do rybozymu [16–18]. Uniemożliwia to przyłączenie kolejnego substratu. Podobnie zachowuje się uproszczona forma rybozymu, pozbawiona dwóch ramion nie zawierających pętli wewnętrznych (Rys. 4B) [19, 20]. Dalsza modyfikacja, dzięki której obie części rozciętego substratu odłączają się, pozwala na odtworzenie rybozymu po reakcji rozcinania i umożliwia przyłączanie kolejnego substratu [21–24]. Taką formę nazywać będziemy formą minimalną (Rys. 4C).



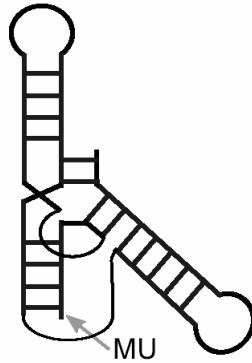
Rysunek 4. Modyfikacje rybozomu *hairpin* wykorzystywane w badaniach pojedynczych cząsteczek. Linia ciągłą zaznaczono regiony aktywnie katalityczne, linią kropkowaną oznaczono obszary, które mają wpływ na szybkość reakcji. Strzałkami oznaczono miejsce unieruchamiania (MU) cząsteczki oraz miejsce cięcia (MC) łańcucha. A) Forma naturalna, B) forma uproszczona – pozbawiona ramion nie zawierających pętli wewnętrznych, C) forma minimalna, która może katalizować wielu obrotów reakcji

Figure 4. Modifications of the *hairpin* ribozyme. Solid line: catalytically active regions, dotted line: non-catalytic regions that determine the reaction rate. Arrows: immobilization place (MU) and cleavage place (MC). A) Natural form of the ribozyme, B) Simplified form – without the helical arms which do not contain internal loops, C) Minimal form that can catalyze multicyclic reactions

RNaza P odgrywa kluczową rolę w dojrzewaniu końca 5' tRNA zarówno u bakterii [2], archeowców jak i u organizmów eukariotycznych [25]. RNaza P *in vivo* występuje w postaci holoenzymu (w akcie katalitycznym współuczestniczy białkowy kofaktor). U bakterii kofaktor składa się z jednej cząsteczki białka, u archeowców z czterech i u organizmów eukariotycznych z dziewięciu lub dziesięciu cząsteczek białka [13]. *In vitro* RNaza P wykazuje, w odpowiednich warunkach pH i stężenia jonów dodatnich, właściwości katalityczne nawet w nieobecności części białkowych. Rybozomy pochodzące z organizmów eukariotycznych działają nawet do kilku rzędów wielkości wolniej od bakteryjnych [25]. Może być to spowodowane faktem występowania różnic w budowie miejsca przyłączenia substratu.

Innym ciekawym przykładem rybozomu jest rybozym katalizujący cykloaddycję Diels-Aldera [11].

Rybozym ten katalizuje reakcję międzycząsteczkową między substratami nie będącymi cząsteczkami RNA. Kataliza przeprowadzana jest poprzez zbliżanie do siebie substratów. Działanie tego małego rybozomu jest inhibitowane przez powstający produkt [15]. DAza (ang. *Diels-Alder reaction*) katalizuje stereospecyficzne formowanie się wiązania węgiel–węgiel między antracenenem (dien) i imidem kwasu maleinowego (dienofil).



Rysunek 5. Struktura formy sfałdowanej Diels-Alderazy. Zaznaczono miejsce unieruchomienia (MU), które stosuje się w badaniach na poziomie pojedynczych cząsteczek

Figure 5. Folded Diels-Alderase structure. MU – immobilization place used in single-molecule measurements

2. FRET POJEDYNCZYCH PAR CZĄSTECZEK (spFRET)

Zjawisko FRET polega na bezpromienistym przeniesieniu energii pomiędzy dwoma fluoroforami, ze wzbudzonego donora na akceptor. Wydajność przeniesienia energii zależy od stopnia nakładania się widm emisji donora i absorpcji akceptora i zmniejsza się gwałtownie ze wzrostem odległości między fluoroforami. Wydajność przeniesienia energii można zapisać wzorem [26]:

$$E = \frac{1}{1 + (R/R_0)^6} \quad (1)$$

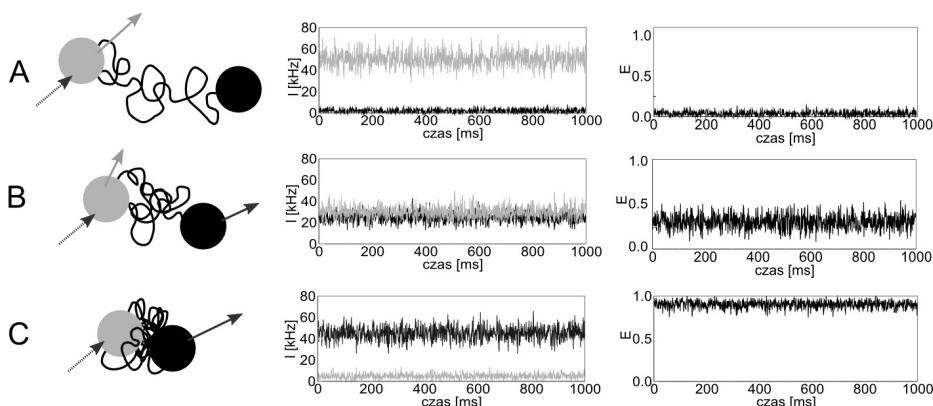
gdzie E – wydajność FRET, R – odległość między donorem i akceptorem, a R_0 – odległość, dla której wydajność FRET wynosi 0,5. Zasięg przeniesienia energii FRET to ok. 100 Å. Ze względu na wysoką czułość na zmianę położenia między fluoroforami zjawisko FRET może być wykorzystywane do mierzenia zmian odległości wewnątrz makrocząsteczek biologicznych [27, 28].

Wraz z postępem technicznym stało się możliwe obserwowanie zjawiska FRET dla pojedynczych par cząsteczek (ang. *single-pair FRET*, spFRET). Do wykonywania pomiarów wykorzystuje się między innymi mikroskop konfokalny. Inną techniką jest TIR (ang. *Total Internal Reflection*), gdzie wykorzystywany jest fakt, że światło przy przejściu z ośrodka o wyższym do ośrodka o niższym współczynniku załamania pod kątem większym od kąta granicznego ulega całkowitemu odbiciu wewnętrznemu. Przystępny opis technik pomiaru FRET dla pojedynczych par cząsteczek można znaleźć w pracy [29].

W idealnych warunkach światło laserowe wzbudza jedynie cząsteczkę donora, a fluorescencja akceptora pochodzi jedynie od bezpromienistego przeniesienia energii z donora na akceptor. Wydajność przeniesienia energii definiuje się wtedy jako:

$$E = \frac{I_A}{I_A + I_D} \quad (2)$$

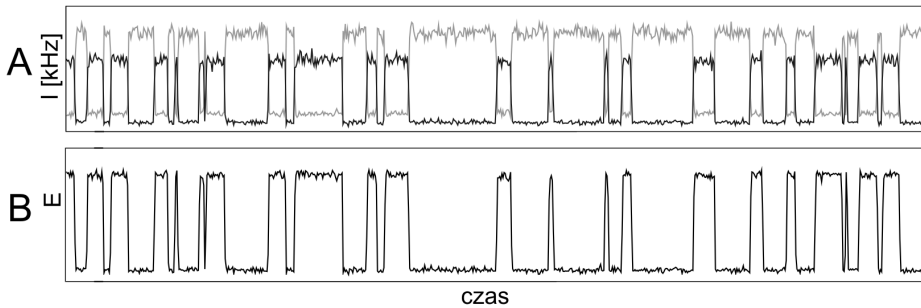
gdzie: E – wydajność przeniesienia energii, I_A – intensywność fluorescencji akceptora, I_D – intensywność fluorescencji donora. Zasadę działania techniki spFRET przedstawiono na Rysunku 6.



Rysunek 6. Zasada techniki spFRET. Po lewej: cząsteczka donora (szara) i akceptora (czarna) przyłączone do biopolimeru. Na środku: trajektorie fluorescencji donora (linia szara) i akceptora (linia czarna). Po prawej: trajektorie FRET. A) Duża odległość między fluoroforami powoduje niską wydajność przeniesienia energii i obserwuje się tylko fluorescencję donora. B) Odległość między fluoroforami jest porównywalna z R_0 (wzór 1), tak że oba barwniki (donor i akceptor) emitują fotony fluorescencji. C) Mała odległość między fluoroforami powoduje wysoką wydajność przeniesienia energii i obserwuje się głównie fluorescencję akceptora

Figure 6. Principle of the spFRET technique. Left: biopolymer with a donor (gray) and acceptor (black), middle: donor (gray line) and acceptor (black line) fluorescence trajectories. Right: FRET trajectories. A) The distance between the dyes is large, energy transfer is low so only the donor fluorescence is observed. B) The distance between dyes is equal to R_0 (eqn 1), donor and acceptor emit photons of fluorescence. C) Short inter-dye distance and high FRET: the acceptor fluorescence is observed

Jeśli donor i akceptor przyłączone są do odpowiednio dobranych miejsc rybozomu, zaobserwować można charakterystyczną trajektorię wydajności spFRET, która zmienia się skokowo między wartością wysoką (np. $E_{on} = 0,8$) i niską (np. $E_{off} = 0,2$), (Rys. 7).



Rysunek 7. A) Przykładowe trajektorie fluorescencji pojedynczej cząsteczki donora (I_D – linia szara) i akceptora (I_A – linia czarna) oraz B) obliczona na ich podstawie trajektoria spFRET ($E = I_A / (I_A + I_D)$)

Figure 7. A) Example of single-molecule fluorescence trajectories of donor (I_D gray line) and acceptor (I_A black line). B) the calculated spFRET trajectory ($E = I_A / (I_A + I_D)$)

Ze względu na istnienie ruchów Browna, cząsteczki zawieszono w roztworze mogą opuścić objętość wzbudzenia. Aby tego uniknąć, cząsteczki unieruchamia się na powierzchni szkła [29]. Jeden ze sposobów polega na pokryciu powierzchni kwarcowej glikolem polietylenowym (ang. PEG), a następnie nałożeniu białka będącego pochodną awidyny, np. neutrawidynę lub streprawidynę. Białka te wykazują duże powinowactwo do biotyny, do której przyłącza się z kolei badaną cząsteczkę kwasu nukleinowego (DNA, lub RNA) [29]. Na przykład, bardzo silne oddziaływania niekwalencyjne prowadzą do stałej dysocjacji 4×10^{-14} M dla kompleksu biotyna i streptawidyna.

Unieruchomienie może wpływać na właściwości cząsteczek. Istnieje niebezpieczeństwo, że pozbawiona pewnej liczby stopni swobody cząsteczka zachowuje się inaczej niż w warunkach naturalnych. Można to (do pewnego stopnia) zweryfikować porównując wyniki otrzymane dla pojedynczych, unieruchomionych cząsteczek z wynikami otrzymanymi dla zespołu cząsteczek w roztworze.

Innym problemem jest fotowysychanie. Jeśli cząsteczka jest unieruchomiona, fluorofory znajdują się pod ciągłym działaniem promieniowania wzbudzającego, co może znacznie przyspieszyć ich fotowysychanie. Konieczne jest zatem zoptymalizowanie intensywności wzbudzenia, wybór odpowiednich barwników, a także zastosowanie efektywnych metod analizy danych.

3. FAŁDOWANIE RYBOZYMÓW

Cząsteczki RNA wykazują właściwości katalityczne jedynie po uzyskaniu odpowiedniej struktury trzeciorzędowej. Zrozumienie zależności drogi fałdowania od czynników zewnętrznych, takich jak stężenie jonów i temperatura, jest niezbędne dla możliwości kontrolowania procesu uzyskiwania zdolności katalitycznych przez cząsteczkę biopolimeru. Dotyczy to zarówno enzymów białkowych jak i enzymów RNA. Warunkiem poprawnego sfałdowania RNA jest obecność dodatnich jonów

metali (np. sodowych, magnezowych). Od ich stężenia zależy położenie punktu początkowego fałdowania na powierzchni energii swobodnej, co z kolei determinuje drogę jaką musi przebyć cząsteczka aby uzyskać formę natywną.

Sfałdowane cząsteczki rybozymów wykazują lokalną dynamikę konformacyjną. Na przykład w cząsteczce rybozymu typu *hairpin* położenie helikalnych ramion fluktuuje pomiędzy dwoma konformacjami. Konformację, w której ramiona zawierające pętle wewnętrzne znajdują się blisko siebie nazywamy formą zwiniętą (ang. *docked*), zaś konformację, w której ramiona zawierające pętle wewnętrzne oddalone są od siebie na pewną odległość nazywamy formą rozwiniętą (ang. *undocked*).

3.1. RYBOZYM *TETRAHYMENA THERMOPHILA*

Fałdowanie rybozymu *Tetrahymena thermophila* było badane zarówno w eksperymentach dla zespołów cząsteczek [30, 31] jak i dla pojedynczych cząsteczek [32–34]. Stwierdzono, że może się on znajdować w 3 stanach: rozfałdowanym, niepoprawnie sfałdowanym i poprawnie sfałdowanym (natywnym). Forma rozfałdowana wykazuje wydajność przeniesienia na poziomie $E = 0,1$, sfałdowana niepoprawnie $E = 0,3$, a poprawnie sfałdowana $E = 0,9$. W procesie fałdowania niezbędna jest obecność jonów magnezowych, natomiast wybór drogi fałdowania zależy od stężenia jonów sodowych. Dla wysokiego stężenia ($> 250 \text{ mmol/dm}^3$) fałdowanie przebiega bardzo szybko do stanu natywnego, przy średnim stężeniu ($150\text{--}250 \text{ mmol/dm}^3$) obserwuje się stan przejściowy, z którego cząsteczka może przejść do stanu natywnego, lub niepoprawnie sfałdowanego. Natomiast dla małego stężenia jonów sodowych ($< 150 \text{ mmol/dm}^3$) obserwuje się na drodze fałdowania, oprócz stanu przejściowego, pułapkę energetyczną. Stwierdzono także, że wcześniejsze wytworzenie struktury drugorzędowej nie jest konieczne do poprawnego sfałdowania.

Rybozym *Tetrahymena thermophila* wykazuje lokalne fluktuacje struktury. W badaniach na zespole cząsteczek wyznaczono stałą równowagową zwijania ($K_{\text{dock}} = 7 \pm 3$), stwierdzono, że tworzenie struktury trzeciorzędowej przebiegać może różnymi drogami a także zaobserwowano długo żyjące stany rozfałdowane. Badania pojedynczych cząsteczek pozwoliły na wyznaczenie stałych szybkości zwijania i rozwijania [33] oraz kształtu powierzchni energii swobodnej fałdowania [32]. Na poziomie pojedynczych cząsteczek wyznaczono stałą rozwijania ($k_{\text{undock}} = 1,62 \pm 0,08 \text{ s}^{-1}$) i zwijania ($k_{\text{dock}} = 0,224 \pm 0,015 \text{ s}^{-1}$), a także obliczono stałą równowagową zwijania ($K_{\text{dock}} = k_{\text{dock}}/k_{\text{undock}} = 7,2 \pm 0,8$) [33].

3.2. RYBOZYM TYPU *HAIRPIN*

W naturalnych warunkach rybozym ten występuje w postaci struktury Holliday'a, w której na dwóch sąsiadujących ze sobą ramionach znajdują się pętle wewnętrzne. Wykazano jednakże, że aktywność katalityczną mogą mieć formy zmodyfikowane pozbawione ramion nie zawierających pętli (Rys. 4). Rybozomy znakowano fluorescencyjnie na dwóch ramionach zawierających pętle wewnętrzne. W eksperymencie obserwowano trzy różne wydajności FRET. Wartości wysoka ($E = 0,81$) i niska ($E = 0,15$) odpowiadały rybozomowi odpowiednio w formie zwiniętej i rozwiniętej z przyłączonym substratem, natomiast pośrednia ($E = 0,38$) odnosiła się do wolnego rybozymu. Stwierdzono, że rybozym, do którego przyłączony jest nie rozcięty substrat wykazuje inną dynamikę konformacyjną, niż rybozym z przyłączonym, rozciętym substratem.

Badając formę minimalną (Rys. 4C), wyznaczono stałą zwijania rybozymu z nierozciętym substratem, której wartość była taka sama jak dla zespołu cząsteczek ($0,008 \text{ s}^{-1}$). Stwierdzono, że różne cząsteczki wykazują różne stałe rozwijania. Najwolniejsza stała rozwijania ($0,005 \text{ s}^{-1}$) zgadzała się z wynikami otrzymanymi dla zespołu cząsteczek. Zaobserwowano także efekt pamięci – pomimo, że różne cząsteczki rybozymu wykazują różne stałe szybkości rozwijania, to jedna, konkretna cząsteczka charakteryzuje się tym, że jej stała szybkości rozwijania nie zmienia się w trakcie eksperymentu.

Dla porównania, rybozym z rozciętym substratem wykazuje stałą szybkości zwijania równą $0,02 \text{ s}^{-1}$, zaobserwowano różnorodność kinetyczną stałej rozwijania. Tak więc stała zwijania rybozymu z przyłączonym, rozciętym substratem jest 2,5 razy większa niż stała zwijania rybozymu, do którego przyłączony jest nie rozcięty substrat.

Porównując wyniki eksperymentalne otrzymane dla formy minimalnej i naturalnej rybozymu stwierdzono, że forma minimalna wymaga dwa do trzy razy większego stężenia jonów magnezowych, a jej stała zwijania jest o trzy rzędy wielkości mniejsza niż stała zwijania dla formy naturalnej.

3.3. INNE UKŁADY

Domena katalityczna RNazy P RNA z *Bacillus Subtilis* jest dobrym modelem do badań kinetyki fałdowania, ponieważ obszar energii swobodnej nie zawiera pułapek energetycznych [35, 36]. Dodatkowo jest to rybozym na tyle duży, by stosować dla niego zasady fałdowania dużych cząsteczek RNA. Badania na poziomie pojedynczych cząsteczek potwierdziły wcześniejsze spostrzeżenia o fałdowaniu z udziałem stanów przejściowych. Pozwoliły także stwierdzić, że nie jest to jeden, a trzy stany przejściowe. Warunki początkowe (stężenie jonów dodatnich, pH roztworu) determinują punkt startowy fałdowania na powierzchni energii swobodnej, a co za

tym idzie mają bezpośredni wpływ na drogę fałdowania (czy przebiega ona z udziałem pułapek energetycznych, czy też bez nich).

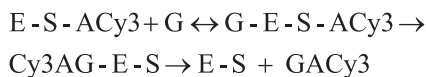
Wykorzystując technikę FRET pojedynczych cząsteczek stwierdzono, że fałdowanie DAzy do formy aktywnej przebiega poprzez stan przejściowy. Cząsteczki DAzy znakowano fluorescencyjnie, wykorzystując Cy3 jako donora i Cy5 jako akceptor. Stan rozfałdowany stanowi kłębek statystyczny, w którym nie wytworzyły się jeszcze wiązania wodorowe między komplementarnymi parami zasad. Po dodaniu jonów jednododatnich (Na^+) wytwarza się struktura drugorzędowa, na którą składają się części helikalne i pętle wewnętrzne. W ten sposób cząsteczka przechodzi do stanu pośredniego. Wytworzenie struktury trzeciorzędowej (a więc przejście do stanu sfałdowania) następuje po dodaniu do układu jonów dwudodatnich. Wtedy to części struktury drugorzędowej zaczynają oddziaływać ze sobą.

4. AKTYWNOŚĆ KATALITYCZNA RYBOZYMÓW I JEJ SPRZĘŻENIE Z DYNAMIKĄ KONFORMACYJNĄ

Badania pojedynczych cząsteczek pokazują, że różne cząsteczki rybozymów wykazują różną aktywność katalityczną. Rozkłady aktywności katalitycznej rybozymów są zgodne z wartościami średnimi uzyskanymi w badaniach zespołów cząsteczek [21, 33]. Jak wszystkie makrocząsteczki biologiczne, rybozimy wykazują dynamikę konformacyjną. W przypadku rybozymów stwierdzono sprzężenie aktywności katalitycznej z dynamiką konformacyjną. Na przykład dla rybozimu typu *hairpin* polega to na zmianie częstości przejść pomiędzy stanem zwiniętym i rozwiniętym rybozimu, gdy przyłączony substrat ulega rozcięciu.

4.1. RYBOZYM *TETRAHYMENA THERMOPHILA*

Aktywność katalityczną *Tetrahymena thermophila* badano dla pojedynczych, unieruchomionych cząsteczek [33]. Schemat reakcji przedstawiono na Rysunku 8. Ponieważ po rozcięciu produkt oznakowany barwnikiem fluorescencyjnym oddziela się od rybozimu, możliwe było określenie momentu rozcięcia jako nagłego zmniejszenia fluorescencji pojedynczej cząsteczki.



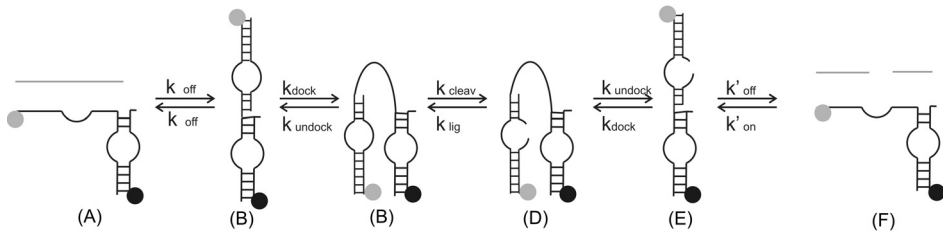
Rysunek 8. Mechanizm katalizy enzymu *Tetrahymena thermophila* dla oligonukleotydowego substratu (S-A = CCCUCUA), do którego dołączony jest barwnik fluorescencyjny Cy3. Guanozyna (G) przyłącza się do rybozimu E, który katalizuje rozcięcie substratu, a produkt (GACy3) oddziela się od rybozimu

Figure 8. Enzymatic catalysis mechanism of *Tetrahymena thermophila* ribozyme for oligonucleotide substrate (S-A = CCCUCUA) with a fluorescent dye (Cy3) attached. Guanosine (G) attaches to ribozyme E and catalyzes substrate cleavage, product (GACy3) dissociates from the ribozyme

Etapem limitującym szybkość jest etap rozcięcia. Zależność szybkości rozcięcia v od stężenia guanozyny $[G]$ była zgodna z równaniem Michaelisa-Menten [37], $v = k [G] / (K_{1/2} + [G])$, ze stałą szybkości rozcięcia $k = 0,21 \pm 0,01 \text{ s}^{-1}$ i stałą Michaelisa-Menten $K_{1/2} = 0,26 \pm 0,04 \text{ mmol/dm}^3$. Wyniki te zgadzały się z tymi otrzymanymi dla zespołu cząsteczek i wynoszącymi $k_{\text{max}} = 0,21 \pm 0,01 \text{ s}^{-1}$, a $K_{1/2} = 0,30 \pm 0,05 \text{ mmol/dm}^3$. Reakcja rozcinania zachodziła tylko wtedy, gdy rybozym znajdował się w konformacji poprawnie zwiniętej, której wydajność spFRET wynosiła $E = 0,9$.

4.2. RYBOZYM TYPU *HAIRPIN*

Mechanizm aktywności katalitycznej formy minimalnej rybozemu typu *hairpin* przedstawiono na Rysunku 9. Ponieważ poszczególne etapy reakcji mają porównywalne szybkości, zależności kinetyczne są złożone i wymagają analizy numerycznej [21].



Rysunek 9. Mechanizm katalizy formy minimalnej rybozemu *hairpin*. Do cząsteczki przyłączono dwa barwniki fluorescencyjne: Cy3 jako donor (szary) i Cy5 jako akceptor (czarny). (A) – wolny rybozym i przyłączający się do niego substrat, (B) rozwinięty rybozym z przyłączonym substratem, (C) zwinięty rybozym z przyłączonym substratem, (D) rybozym z rozciętym substratem, (E) rozwinięty rybozym z rozciętym substratem, (F) wolny rybozym i uwolnione produkty

Figure 9. Mechanism of catalysis for the minimal form of the *hairpin* ribozyme. Two fluorescent dyes are attached to the ribozyme: Cy3 as a donor (gray) and Cy5 as an acceptor (black). (A) free ribozyme and the substrate, (B) undocked ribozyme-substrate complex, (C) docked ribozyme-substrate complex, (D) docked ribozyme with cleaved substrate, (E) undocked ribozyme with cleaved substrate, (F) free ribozyme and products

Wydajność FRET w stanie zwiniętym wynosi ok. 0,8, natomiast dla formy rozwiniętej ok. 0,15. Rybozym (zarówno w formie minimalnej jak i naturalnej), do którego przyłączony jest rozcięty substrat wykazuje szybkie przejścia między stanami zwiniętym i rozwiniętym. Dzięki temu można na podstawnie trajektorii FRET określić moment rozcięcia. Widoczne jest to jako przejście z długotrwałego stanu wysokiego FRET ($E = 0,8$) do szybkich fluktuacji między wartościami $E = 0,2$ i $0,8$. Akt katalityczny obserwuje się pośrednio, znając dynamikę konformacyjną form rybozemu z przyłączonym rozciętym i nierozciętym substratem.

Dla formy minimalnej (Rys. 4C) wyznaczono stałą równowagi rozcinania $K \approx 0,5$, oraz przedział, $0,1$ do $0,4 \text{ s}^{-1}$, w którym mieści się stała rozcinania, a także odpowiedni przedział, $0,2$ do $0,8 \text{ s}^{-1}$, dla stałej ligacji [21]. Dla formy naturalnej

stałe rozcinania i ligacji wahają się według różnych autorów [16, 18] między 0,6 a 1 min^{-1} dla stałej rozcinania i 18–21 min^{-1} dla stałej ligacji.

4.3. INNE UKŁADY

Porównywano kinetykę działania RNA RNazy P dla organizmów prokariotycznych (bakterie, archeowce), jak i eukariotycznych [25, 38], w warunkach kiedy możliwy jest jeden obrót reakcji. Stwierdzono, że bez udziału białek, stałe rozcinania przeprowadzanego przez rybozomy eukariotyczne (ludzki i *G. lamblia*) wynoszą odpowiednio $2,6 \times 10^{-5}$ i $3,5 \times 10^{-6} \text{ min}^{-1}$, przy czym prokariotyczny RNA RNazy P przeprowadza proces rozcinania ze stałą szybkości 8,4 min^{-1} . Powodem tak dużych rozbieżności może być fakt nieobecności w rybozomach eukariotycznych fragmentów odpowiedzialnych za przyłączanie substratu w organizmach prokariotycznych. Zmodyfikowano więc rybozom bakteryjny, usuwając te fragmenty i stwierdzono, że stała rozcinania zmniejszyła się do wartości $2,5 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$. Pozostaje więc nadal różnica dwóch rzędów wielkości. Stwierdzono, że najprawdopodobniej w wyniku ewolucji RNA RNazy P coraz bardziej „uzależniał” się od pomocy kofaktorów białkowych, niemniej jednak nie utracił właściwości katalitycznych.

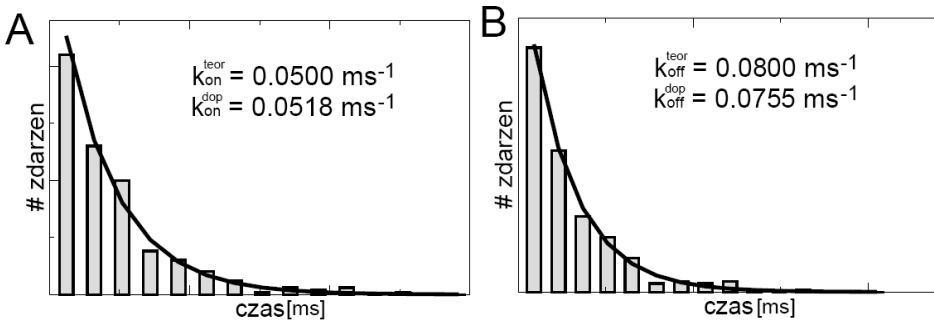
5. ANALIZA DANYCH W BADANIACH POJEDYNCZYCH CZĄSTECZEK RNA

Przegląd metod statystycznej analizy danych w zastosowaniu do badań nad pojedynczymi cząsteczkami znaleźć można w pracach [39, 40]. Analiza danych w enzymologii pojedynczych cząsteczek RNA polega często na analizie trajektorii spFRET wykazujących skoki pomiędzy stanami o różnej wydajności przeniesienia energii fluorescencji *E*. Jeśli poziom szumu jest niski, liczbę stanów FRET można określić wizualnie z wykresu trajektorii. Podobnie można ustalić progi pozwalające przypisać zmierzone wartości *E* do poszczególnych stanów, a następnie wyznaczyć długości interwałów czasu przebywania w tych stanach. Analiza histogramów czasów przebywania w poszczególnych stanach FRET pozwala wyznaczyć stałe szybkości przejść pomiędzy stanami.

Wyznaczenie liczby stanów i rozkład trajektorii na odcinki odpowiadające poszczególnym stanom są trudne jeśli szum eksperymentalny jest duży, jak to ma często miejsce w badaniach spFRET. Dlatego poszukuje się nowych metod statystycznej analizy danych. Interesujące możliwości daje modelowanie trajektorii spFRET jako ukrytego procesu Markowa [41], lub modelowanie zliczeń w kanałach donora jako modulowanych procesów Poissona [42].

5.1. ROZKŁADY CZASÓW ON I OFF

W spektroskopii spFRET rejestruje się trajektorie fluorescencji donora i akceptora. W badaniach rybozymów trajektorie te wykazują często dwa lub więcej dyskretnych wartości wydajności przeniesienia energii E , a przejścia między stanami zachodzą w sposób skokowy. W najprostszym przypadku obserwuje się dwie wartości E odpowiadające wysokiej (E_{on}) i niskiej (E_{off}) wydajności przeniesienia energii. Na podstawie trajektorii E dobierana jest wartość progowa, np. $E_p = (E_{\text{on}} + E_{\text{off}})/2$, rozdzielająca trajektorię na okresy o wysokiej (on) wydajności ($E > E_p$) i okresy o niskiej (off) wydajności przeniesienia energii ($E < E_p$). Kolejne czasy przebywania w stanach on i off, są zmiennymi losowymi o rozkładach zależnych od mechanizmu zmian konformacyjnych. W celu wyznaczenia stałych szybkości przejść, do histogramu czasów on i off dopasowuje się krzywe wynikające z modelu zmian konformacyjnych (Rys. 10). Otrzymuje się w ten sposób stałe kinetyczne ucieczki ze stanów on i off (k_{on} i k_{off}), będące odwrotnościami średnich czasów przebywania w każdym ze stanów (τ_{on} i τ_{off}). Wariantem tej metody jest dopasowywanie modelu do kumulatywnych histogramów czasów on i off [19].



Rysunek 10. Przykład analizy on-off: histogramy czasów przebywania w stanie on (A) i off (B) wraz z dopasowanymi krzywymi wykładniczymi (linie ciągłe) i wartościami stałych kinetycznych ucieczki (k_{on} , k_{off}) użytymi do symulacji (indeks teor) i odzyskanymi (indeks dop) w wyniku dopasowań

Figure 10. Example of an on-off analysis: on- (A) and off- (B) time histograms with fitted exponential curves (solid lines) and the kinetic rates (k_{on} , k_{off}) used in simulations (“teor”) and those obtained from fitting (“dop”).

Jeśli szum eksperymentalny jest duży można zastosować wygładzanie trajektorii spFRET [43].

5.2. MODELOWANIE I SYMULACJE EKSPERYMENTÓW spFRET

W pracy [39] zaproponowano model trajektorii wydajności jako realizacji ukrytego modelu Markowa. Ukryte modele Markowa zostały początkowo zastosowane w automatycznym rozpoznawaniu mowy, a później znalazły zastosowanie w innych dziedzinach [44].

Model Markowa składa się z dyskretnych stanów, pomiędzy którymi następują przeskoki. Szybkość przejść między stanami opisana jest równaniami kinetycznymi. Przykładem modelu Markowa jest model zmian konformacyjnych cząsteczki RNA przedstawiony na Rysunku 9. Proces zmian konformacyjnych jest ukryty ponieważ obserwujemy go jedynie pośrednio, w postaci trajektorii wydajności FRET. Wartość wydajności E informująca o konformacji cząsteczki jest zmienna losową o rozkładzie, który z dobrym przybliżeniem jest rozkładem Gaussa. Trajektorja FRET jest traktowana jako generowana przez ukryty model Markowa, a celem analizy danych jest określenie liczby stanów i stałych szybkości przejść tego modelu. Przykład zastosowania w eksperymencie z rybozymami znajduje się w pracy [19]. W pracy [45] zastosowano symulacje do określenia możliwości wyznaczania liczby stanów i wyznaczania parametrów kinetycznych dla krótkich trajektorii spFRET.

Eksperymentalna trajektorja wydajności spFRET jest szeregiem czasowym obliczanym jako $E_i = n_{Ai} / (n_{Ai} + n_{Di})$, gdzie n_{Ai} i n_{Di} są liczbami zliczeń fotonów odpowiednio w kanale akceptora i donora, w przedziale czasowym $(ih, (i + 1)h)$ o szerokości h . Liczby zliczeń n_{Ai} i n_{Di} są zmiennymi losowymi, których wartości średnie są równe $I_{Ai}h$ i $I_{Di}h$, gdzie I_{Ai} i I_{Di} są średnimi intensywnościami fluorescencji akceptora i donora w interwale $(ih, (i + 1)h)$. E_i jest oszacowaniem średniej wydajności FRET w i -tym interwale $(ih, (i + 1)h)$. Oznacza to uśrednienie informacji po szerokości interwału h . Metodą analizy spFRET, która unika tego ograniczenia jest metoda największej wiarygodności zastosowana bezpośrednio do trajektorii czasów detekcji fotonów w kanałach donora i akceptora. Gopich i Szabo [42] opracowali podstawy teoretyczne tego podejścia i zademonstrowali, że może być ono stosowane do estymacji parametrów w spFRET.

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

Rybozomy są ważnymi biologicznie cząsteczkami RNA występującymi we wszystkich żywych organizmach. Dzięki badaniom na zespole cząsteczek możliwe było określenie mechanizmów działania rybozymów i wyznaczenie niektórych stałych kinetycznych. Zastosowanie spektroskopii pojedynczych cząsteczek pozwoliło na pełniejszy opis aktywności rybozymów. Wyznaczono stałe kinetyczne, których określenie w badaniach na zespole cząsteczek było niemożliwe. Zaobserwowano także zjawiska, uśredniające się w pomiarach na zespole cząsteczek. Na przykład, stwierdzono istnienie heterogeniczności polegającej na tym, że różne cząsteczki, pomimo takiej samej budowy chemicznej i identycznych warunków eksperymentalnych katalizują reakcje z różnymi stałymi szybkości. Należy przypuszczać, że kolejne lata przyniosą dalsze zastosowania metod pojedynczych cząsteczek do badania zarówno enzymów RNA jak i enzymów białkowych.

PODZIĘKOWANIA

Praca ta powstała przy wsparciu grantu NN204 166736 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] T.R. Cech, *Biosci. Rep.* 1990, **10**, 317.
- [2] S. Altman, *Biosci. Rep.* 1990, **10**, 239.
- [3] N.G. Walter, D.R. Engelke, *Biologist*, 2002, **49**, 199.
- [4] X. Zhuang, *Ann. Rev. Biophys. Struct.*, 2005, **34**, 399.
- [5] S. Myong, B.C. Stevens, T. Ha, *Structure*, 2007, **14**, 633.
- [6] M.A. Ditzler, E.A. Aleman, D. Rueda, N.G. Walter, *Biopolymers*, 2007, **87**, 302.
- [7] R. Zhao, D. Rueda, *Methods*, 2009, **49**, 112.
- [8] K.S. Karunatilaka, D. Rueda, *Chem. Phys. Lett.* 2009, **476**, 1.
- [9] X. Chen, A.D. Ellington, *Chem. Biodiversity*, 2007, **4**, 633.
- [10] N.G. Walter, S.A. Woodson, R.T. Batey, *Non-Protein Coding RNAs*, Springer Series in Biophysics, 2008.
- [11] J.J. Agresti, B.T. Kelly, A. Jaschke, A.D. Griffiths, *PNAS*, 2005, **102**, 16170.
- [12] H.D. Kim, G.U. Nienhaus, T. Ha, J.W. Orr, J.R. Williamson, S. Chu, *PNAS*, 2002, **99**, 4284.
- [13] V. Gopalan, *PNAS*, 2007, **104**, 2031.
- [14] Y. Kobitski, A. Nierth, M. Helm, A. Jaschke, G.U. Nienhaus, *Nucl. Ac. Research*, 2007, **35**, 2047.
- [15] R. Wombacher, S. Keiper, S. Suhm, A. Serbanov, D.J. Patel, A. Jaschke, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, **45**, 2469.
- [16] M.K. Nahas, T.J. Wilson, S. Hohng, K. Jarvie, D.M.J. Lilley, T. Ha *Nature Struct. Mol. Biol.*, 2004, **11**, 1107.
- [17] E. Tan, T.J. Wilson, M.K. Nahas, R.M. Clegg, D.M.J. Lilley, T. Ha, *PNAS*, 2003, **100**, 9308.
- [18] T.J. Wilson, M. Nahas, T. Ha, D.M.J. Lilley, *Biochem. Soc. Trans.*, 2005, **33**, 461.
- [19] S. Liu, G. Bokinsky, N.G. Walter, X. Zhuang, *PNAS*, 2007, **104**, 12639.
- [20] G. Bokinsky, D. Rueda, V.K. Misra, M.M. Rhodes, A. Gordus, H.P. Babcock, N.G. Walter, X. Zhuang, *PNAS*, 2003, **100**, 9302.
- [21] X. Zhuang, H. Kim, M.J.B. Pereira, H.P. Babcock, N.G. Walter, S. Chu, *Science*, 2002, **296**, 1473.
- [22] D. Rueda, G. Bokinsky, M.M. Rhodes, M.J. Rust, X. Zhuang, N.G. Walter, *PNAS*, 2004, **101**, 10066.
- [23] N.G. Walter, K.J. Hampel, K.M. Brown, J.M. Burke, *EMBO*, 1998, **17**, 2378.
- [24] N.G. Walter, J.M. Burke, D.P. Millar, *Nat. Str. Biol.*, 1999, **6**, 544.
- [25] E. Kikovska, S.G. Svard, L.A. Kirsebom, *PNAS*, 2007, **104**, 2062.
- [26] M. Dahan, A.A. Deniz, T. Ha, D.S. Chemla, P.G. Schultz, S. Weiss, *Chem. Phys.*, 1999, **245**, 85.
- [27] Z. Xie, N. Srividya, T. R. Sosnick, T. Pan, N. F. Scherer, *PNAS*, 2004, **101**, 534.
- [28] S. Weiss, *Science*, 1999, **283**, 1676.
- [29] R. Roy, S. Hohng, T. Ha, *Nature Meth.*, 2008, **6**, 507.
- [30] D. Herschlag, T.R. Cech, *Biochemistry*, 1990, **29**, 10159.
- [31] R. Russell, D. Herschlag, *J. Mol. Biol.*, 2001, **308**, 839.
- [32] R. Russel, X. Zhuang, H.P. Babcock, I.S. Millett, S. Doniach, S. Chu, D. Herschlag, *PNAS*, 2002, **99**, 155.
- [33] X. Zhuang, L. E. Bartley, H.P. Babcock, R. Russel, T. Ha, D. Herschlag, S. R. Chu, *Science*, 2000, **288**, 2048.

- [34] T. H. Lee, L.J. Lapidus, W. Zhao, K.J. Travers, D. Herschlag, S. Chu, *Biophys. J.*, 2007, **92**, 3275.
- [35] Z. Xie, N. Srividya, T.R. Sosnick, T. Pan, N.F. Scherer, *PNAS*, 2004, 101, 534.
- [36] X. Fang, T. Pan, T.R. Sosnick, *Nature Str. Biol.*, 1999, **6**, 1091.
- [37] P. Toti, L. Sbordone, C. Sbordone, C. Bauer, *J. Biol. Phys.*, 2006, **32**, 473.
- [38] T. Persson, S. Cuzic, R.K. Hartmann, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 43394.
- [39] E. Barkai, F. Brown, M. Orrit, H. Yang (Eds.), *Theory and Evaluation of Single Molecule Signals*, World Scientific, 2008.
- [40] M. Lippitz, F. Kulzer, M. Orrit, *ChemPhysChem*, 2005, **6**, 770.
- [41] S.A. McKinney, Ch. Joo, T. Ha, *Biophys. J.*, 2006, **91**, 1941.
- [42] I. Gopich, A. Szabo, *J. Phys. Chem. B*, 2009, **113**, 10965.
- [43] G. Haran, *Chem. Phys.*, 2004, **307**, 137.
- [44] L.R. Rabiner, *Proc. IEEE*, 1989, **77**, 257.
- [45] T.H. Lee, *J. Phys. Chem. B*, 2009, **113**, 11535.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 grudnia 2009

**INICJUJĄCE MATERIAŁY WYBUCHOWE
Z GRUPY ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH**

PRIMARY EXPLOSIVES
FROM A GROUP OF COORDINATION COMPOUNDS

Stanisław Cudziło, Marcin Nita

*Wojskowa Akademia Techniczna, Wydział Nowych Technologii i Chemii,
Instytut Chemii
ul. gen. Sylwestra Kaliskiego 2, 00-908 Warszawa
e-mail: scudzilo@wat.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Kompleksowe inicjujące materiały wybuchowe zawierające pochodne tetrazolu
2. Kompleksowe inicjujące materiały wybuchowe zawierające pochodne triazololi
3. Kompleksowe inicjujące materiały wybuchowe zawierające hydrazynę
4. Kompleksowe inicjujące materiały wybuchowe zawierające karbohydrazyd
5. Kompleksowe inicjujące materiały wybuchowe zawierające alifatyczne poliaminy

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr. hab. inż. Stanisław Cudziło, prof. WAT, jest absolwentem Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie. Na rodzimej uczelni uzyskał stopień doktora (1994) i doktora habilitowanego (2003). Obecnie pełni funkcję dyrektora Instytutu Chemii WAT.

Jest specjalistą z zakresu chemii i technologii materiałów wybuchowych. Aktualnie prowadzi badania nad nowymi wysokoenergetycznymi i mało wrażliwymi związkami o właściwościach wybuchowych

Mgr inż. Marcin Nita ukończył Wojskową Akademię Techniczną w 2007 r. W tym samym roku został zakwalifikowany na stacjonarne studia doktoranckie. Zajmuje się projektowaniem, syntezą i badaniem właściwości związków kompleksowych będących materiałami wybuchowymi.

ABSTRACT

For more than one hundred years, mercury fulminate (MF), lead azide (LA) and lead styphnate (LS) have been used as primary explosives (Fig. 1). They are very good initiatory explosives but they also suffer from serious drawbacks, such as: (a) extremely high sensitivity to mechanical stimuli, (b) thermal, hydrolytic, and chemical instability or lack of resistance to light, (c) incompatibility with metals commonly used in initiating devices, (d) high toxicity of the compounds themselves and their decomposition products [1, 2].

The ongoing search for new primary explosives is aimed at finding materials safer in production and use which do not contain heavy metals and exhibit better initiating performance than the multicomponent compositions being used now. The replacements of the present primaries should be more resistant to accidental stimuli (electrostatic discharge, impact, friction), but they must reliably inflame or detonate, e.g. upon exposure to flame, electrically heated wire or strike with a firing pin in stab and percussion initiators. However their thermal stability should not be too low in order to avoid unexpected explosions of ammunition exposed to heat flow from a fire. On the other hand some of the materials (detonants) must be capable of fast transition from deflagration to detonation. It is not easy to reconcile so many contradictory demands, but from the recently published papers, it appears that it may be possible [3–5].

It has been confirmed many times that some complex compounds with a general formula $M_x(L)_y(XO)_z$ where **M** denotes a transition metal cation, **L** is a nitrogen rich ligand, and **XO** is an oxygen containing anion are effective primary explosives [3]. The cation plays structure-creating role (i.e. coordinates other molecules) providing stability of the compound and required level of safety. Usually it is also a catalyst of the first stage of decomposition which assures a rapid deflagration to detonation transition – inherent feature of primary explosives. In order to maximize the heat effect of decomposition, the oxygen balance of the compounds ought to be close to zero. Thanks to this the initiating performance of the new primaries may be higher than that of azides and flumintaes.

In this work we present a review of papers devoted to synthesis, chemical composition, molecular structure and explosive properties of primary explosives from the group of coordination compounds. A lot of attention was paid especially to the explosives that have already been used in initiating devices and those with unique properties, e.g. highly sensitive to laser radiation. To systematize the review, the title compounds were divided into groups which distinguishing feature was the kind of ligand.

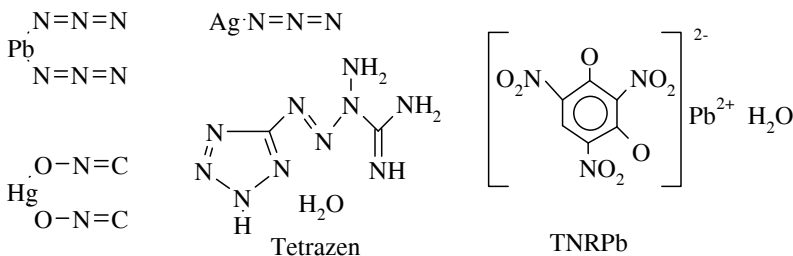
Keywords: primary explosives, coordination compounds

Słowa kluczowe: inicjujące materiały wybuchowe, związki kompleksowe

WPROWADZENIE

Inicjujące materiały wybuchowe (IMW) wykorzystuje się do zapoczątkowania procesów spalania i detonacji innych materiałów wybuchowych, czyli prochów i paliw raketowych oraz tzw. kruszących materiałów wybuchowych (KMW). Ich cechą szczególną jest zdolność do wybuchu w ładunkach o bardzo małych masach (nawet miligramowych) pod wpływem bodźców prostych, takich jak uderzenie, tarcie, nakłucie czy płomień. Oznacza to, iż rozkład IMW można z łatwością zainicjować, a jego dalszy rozwój jest niezwykle dynamiczny. Początkowo ma on charakter spalania, jednak w ciągu bardzo krótkiego czasu (kilka mikrosekund) i na bardzo krótkiej drodze (pojedyncze mm) transformuje się w wybuch, tzn. osiąga prędkości naddźwiękowe. Generowany przy tym impuls ciśnienia ma parametry wystarczające do szybkiego (uderzeniowego) wytworzenia identycznej, naddźwiękowej fali przemian chemicznych (w tym fali detonacyjnej) w przylegających ładunkach KMW. Do zapoczątkowania detonacji wykorzystuje się zwykle czyste związki wybuchowe o właściwościach inicjujących, natomiast procesy spalania generowane są najczęściej za pomocą mieszanin, które mogą zawierać indywidualne IMW. Miara zdolności inicjującej jest minimalna ilość IMW niezbędna do trwałego zapoczątkowania przemiany wybuchowej innego materiału. Parametr ten zależy nie tylko od ilości energii i tempa jej uwalniania podczas rozkładu ładunku inicjującego, ale także od jego gęstości, obecności dodatków, rozmiarów cząstek, rodzaju otoczki, itp. [1].

Związki mające właściwości IMW znaleziono dotychczas w grupie: (a) soli ciężkich metali kwasu piorunowego (HONC) oraz azotowodorowego (HN_3), (b) soli ciężkich metali nitrowych pochodnych fenoli (pikryniany, trinitrorezorcyniany, trinitrokrezolany), (c) azydków organicznych, (d) pochodnych tetrazolu, (e) związków zawierających ugrupowania diazowe, diazoksove, furaznowe i furoksanowe, (f) nadtlenków organicznych, (g) acetylenków ciężkich metali, (h) prostych soli amin i związków heterocyklicznych z kwasami utleniającymi, (i) różnych związków koordynacyjnych metali przejściowych z organicznymi ligandami i kwasami utleniającymi [1, 2].

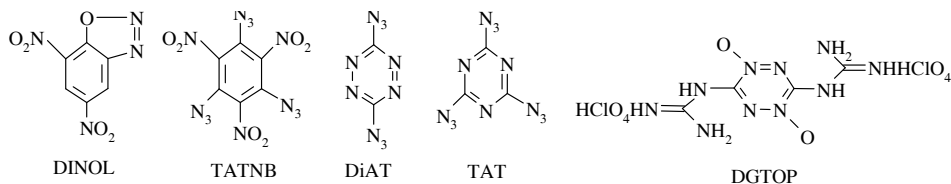


Rysunek 1. Najważniejsze inicjujące materiały wybuchowe
Figure 1. The most important primary explosives

Pomimo olbrzymiej ilości związków, które mają właściwości inicjujące, przez ostatnie kilkadziesiąt lat powszechnie wykorzystywano praktycznie tylko pięć z nich, a mianowicie: azydek ołowiu ($Pb(N_3)_2$), azydek srebra (AgN_3), piorunian rtęci ($Hg(ONC)_2$), trinitrorezorcynian ołowiu (TNRPb) i tetrazen (Rys. 1) [1–5].

Zbyt mała odporność termiczna, niedostateczna trwałość chemiczna i toksyczność piorunianu rtęci znacznie ograniczyły jego zastosowania. W spłonkach zapalających został on zastąpiony przez TNRPb i tetrazen, natomiast w spłonkach detonujących przez azydek ołowiu. Ten ostatni charakteryzuje się bardzo dobrą zdolnością inicjującą, jednak jest nadmiernie wrażliwy na oddziaływania mechaniczne (szczególnie tarcie), wchodzi w reakcje ze składnikami atmosfery (H_2O , CO_2), reaguje z miedzią (materiał konstrukcyjny spłonek) tworząc ekstremalnie wrażliwe azydki miedzi oraz jest substancją toksyczną. Azydek srebra jest odporniejszy na oddziaływanie atmosfery i nie reaguje z metalami, ale pod wpływem światła słonecznego ulega szybkiemu rozkładowi na pierwiastki z których jest zbudowany. Wadą TNRPb, poza toksycznością, jest zbyt duża wrażliwość na iskrę elektryczną. Ponadto, w spłonkach zapalających działających od uderzenia, musi być uczulany tetrazenem, który z kolei ulega hydrolizie już w ok. $60^\circ C$ [1, 2].

Niektóre IMW z grupy związków organicznych (Rys. 2) przewyższają nawet azydki srebra i ołowiu pod względem zdolności inicjującej. Niestety, wraz ze wzrostem wartości parametrów detonacyjnych rośnie także zagrożenie przypadkowym wybuchem, ponieważ zwiększa się wrażliwość na bodźce inicjujące i maleje trwałość chemiczna tych związków [2].



Rysunek 2. Przykładowe struktury IMW z grupy związków organicznych
 Figure 2. Exemplary structures of organic primary explosives

2-Diazo-4,6-dinitrofenol (DINOL) rozkłada się pod wpływem światła słonecznego. 1,3,5-Triazydo-2,4,6-trinitrobenzen (TATNB) powoli uwalnia azot już w temperaturze pokojowej, po czym ulega wewnątrzcząsteczkowemu przegrupowaniu do benzotrifuroksanu (BTF), który nie jest IMW. TATNB, 3,6-diazydo-1,2,4,5-tetrazyna (DiAT) i 1,3,5-triazydo-2,4,6-triazyna (TAT) są niezwykle efektywnymi IMW, ale brak odporności termicznej i nieakceptowalny poziom zagrożenia przypadkowym wybuchem wyklucza możliwość ich stosowania w środkach inicjujących. Chlorki i azotany amin, zasobnych w azot, znane są z wysokich parametrów detonacyjnych i mogą mieć właściwości inicjujące [6, 7]. Pozwala to wykorzystywać je w roli zarówno ładunków pierwotnych (inicjujących) jak i wtórnych (kruszących). Przykładem takiego związku jest sól kwasu chlorowego(VII) i 3,6-di(guanidyno)-1,2,4,5-

-tetrazyna-1,4-di-*N*-tlenku (DGTOP). Niestety DGTOP ulega rozkładowi w zbyt niskiej temperaturze, a jego synteza jest bardzo skomplikowana.

Ewidentne wady wielu znanych IMW są przyczyną niegasnącego zainteresowania poszukiwaniem nowych związków. Oczekuje się od nich nie tylko niezawodności działania, ale także poprawy bezpieczeństwa produkcji i użytkowania oraz braku szkodliwego oddziaływania na środowisko naturalne. W ostatnich latach dowiedziono, że obiecującym obszarem poszukiwań bezpiecznych, nietoksycznych i nieuciążliwych dla środowiska IMW są związki kompleksowe o ogólnym wzorze: $[M(L)_n](XO)_m$, gdzie: M – jon centralny, najczęściej kation metalu przejściowego, L – ligand, zwykle związek organiczny o dużej zawartości azotu, XO – anion kwasu tlenowego [3–5].

Struktura i skład chemiczny takich kompleksów jednoznacznie wskazują na ich potencjalne właściwości wybuchowe. Zgromadzenie w jednej cząsteczce mocnych reduktorów (organiczne ligandy) i utleniaczy (aniony zasobne w tlen) tworzy, bowiem, sprzyjające warunki do zachodzenia szybkich, wewnątrzcząsteczkowych reakcji utlenienia i redukcji, którym towarzyszy wydzielenie produktów gazowych i energii – nieodłącznych cech wszystkich materiałów wybuchowych.

Kation metalu pełni rolę strukturotwórczą łącząc elementy utleniające i redukujące w jeden związek. Jego trwałość jest pochodną wartości energii wiązań koordynacyjnych, a ta z kolei zależy w dużej mierze od potencjału jonowego kationu metalu (stosunek ładunku jonu do jego średnicy). Metal ma też wpływ na właściwości wybuchowe kompleksu, ponieważ jego wartościowość określa liczbę związanych anionów (tzn. zawartość tlenu), natomiast liczba koordynacyjna determinuje udział reduktorów w związku. Ponadto niektóre metale, np. miedź, są znane z katalitycznego wpływu w reakcjach utlenienia i redukcji, można to wykorzystać do skrócenia etapu transformacji procesu spalania w wybuch (rośnie wówczas zdolność inicjująca). Oczywiście aktywność katalityczna metali jest różna w stosunku do różnych utleniaczy i reduktorów. Niemniej jednak modułowy charakter budowy związków kompleksowych sprawia, że możliwe jest wprowadzanie nawet istotnych zmian ich składu pierwiastkowego i struktury, w celu uzyskania optymalnego zestawu właściwości fizykochemicznych i wybuchowych (możliwie małej wrażliwości, dużej trwałości i wysokich parametrów detonacyjnych) [3].

Pierwszymi zbadanymi związkami kompleksowymi, które miały właściwości IMW, były azotany(V) oraz chlorany(V) i (VII) aminometali. Jednak z powodu zbyt dużej wrażliwości i niewystarczającej trwałości materiały te nie znalazły praktycznego zastosowania. Późniejsze badania wykazały, że zastępując amoniak, częściowo lub całkowicie, hydrazyną i jej pochodnymi, a także związkami heterocyklicznymi o różnej strukturze i funkcjonalizacji można zmniejszyć wrażliwość i zwiększyć trwałość kompleksów, bez pogorszenia ich właściwości inicjujących [2].

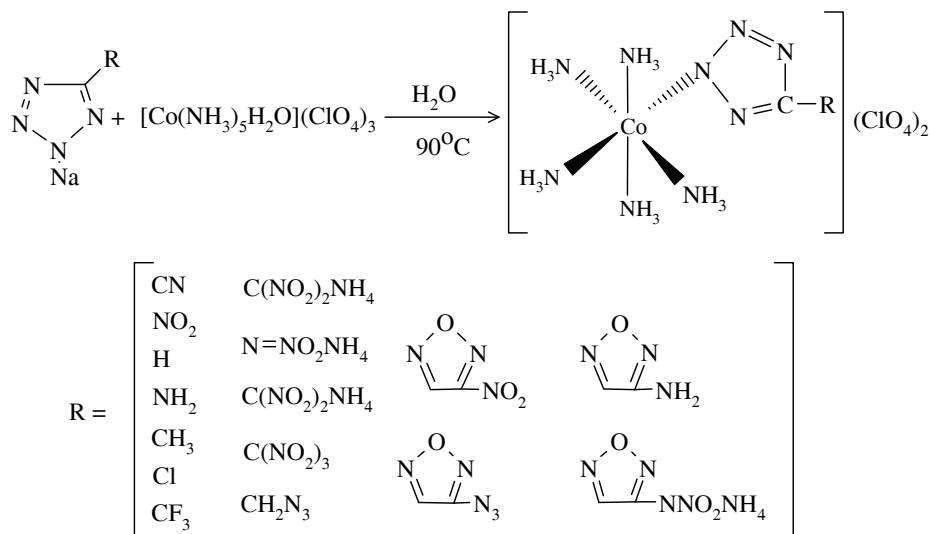
W niniejszej pracy podjęto próbę przedstawienia aktualnego stanu wiedzy dotyczącej metod syntezy, składu chemicznego i struktury oraz właściwości wybuchowych IMW z grupy związków kompleksowych. Szczególnie dużo uwagi poświę-

cono związkom, które znalazły już zastosowania praktyczne oraz tym o unikalnych właściwościach, np. charakteryzujących się dużą wrażliwością na promieniowanie laserowe. W celu usystematyzowania przeglądu, tytułowe związki podzielono na grupy, których wyróżnikiem jest rodzaj ligandu, i opisano w kolejnych rozdziałach.

1. KOMPLEKSOWE INICJUJĄCE MATERIAŁY WYBUCHOWE ZAWIERAJĄCE POCHODNE TETRAZOLU

Pochodne tetrazolu należą bez wątpienia do grupy ligandów pierwszego wyboru podczas projektowania związków kompleksowych o właściwościach wybuchowych. Decyduje o tym duża zawartość azotu, który jest pożądanym produktem przemian wybuchowych oraz wysoka dodatnia wartość entalpii tworzenia tych związków, wynosząca w przypadku tetrazolu 237,2 kJ/mol [8]. Dzięki temu kompleksy zawierające ugrupowania tetrazolowe charakteryzują się wysokimi wartościami ciepła, prędkości i ciśnienia detonacji. Ponadto liczne możliwości mono- i polifunkcjonalizacji tetrazolu, zarówno podstawnikami elektronodonorowymi (np. NH_2) jak i elektroakceptorowymi (np. NO_2) pozwalają kontrolować skład i strukturę kompleksu w szerokim zakresie. W połączeniu z właściwym doбором jonu centralnego oraz pozostałych wewnątrz- i zewnątrz sferycznych ligandów, a także anionów, można dokładnie dopasować właściwości użytkowe IMW do konkretnych aplikacji.

Wyraźnie zaznaczone właściwości wybuchowe, w tym inicjujące mają, chlorany(VII) aminakobaltu(III) zawierające ponadto jeden lub dwa ligandy anionowe w postaci podstawionych tetrazoli [9]. Pierwszym IMW z tej grupy, który jest wykorzystywany w bezpiecznych, niskonapięciowych zapalnikach elektrycznych jest dichloran(VII) (5-cyjanotetrazolo- N^2)pentaaminakobalt(III), nazywany także CP (Rys. 3.). Materiał ten został opracowany w USA w latach 70. XX wieku [10]. Jego wrażliwość na uderzenie jest zbliżona do wrażliwości heksogenu (ok. 5 J), a więc można go uznać za bezpieczny IMW. Później otrzymano i zbadano szereg analogów CP, w których grupa cyjanowa została wymieniona na inne, znacznie różniące się wielkością, strukturą i sposobem oddziaływań elektronowych z pierścieniem tetrazolowym. Żaden z nich nie miał lepszych właściwości użytkowych. Większość jest jednak bezpieczniejsza w użytkowaniu niż klasyczne IMW, a niektóre nie ustępują pod względem parametrów detonacyjnych wysokoenergetycznym KMW, takim jak pentryt czy heksogen [11, 12]. Niestety te najbardziej zasobne w energię są także najmniej trwałe.



Rysunek 3. Schemat syntezy i struktura dichloranów(VII) (5-R-tetrazolo- N^2)pentaaminakobaltu(III)

Figure 3. Scheme of synthesis and structure of (5-R-terazolato- N^2)pentaamminecobalt(III)

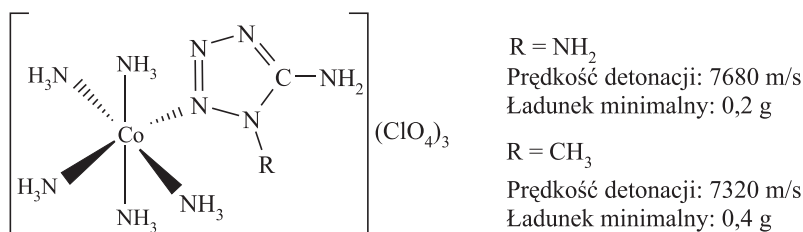
Poza CP, najkorzystniejszy zestaw parametrów użytkowych ma dichloran(VII) (5-nitrotetrazolo- N^2)pentaaminakobaltu(III) (NKT). Jest to substancja nietoksyczna, mało wrażliwa na wyładowania elektrostatyczne, odporna termicznie i trwała chemicznie (hermetycznie zamknięta wytrzymuje ogrzewanie w 200°C przez 6 godz.). Proces spalania prasowanych ładunków NKT (gęstość ok. $1,6 \text{ g/cm}^3$, średnica ok. 6,3 mm) przechodzi w wybuch na odcinku o długości ok. 4,5 mm, a prędkość detonacji wynosi w tych warunkach 6650 m/s. W badaniach aplikacyjnych wykazano, że zapalniki elektryczne zawierające wyłącznie NKT w roli ładunku inicjującego niezawodnie działają w temperaturze 150°C i pod ciśnieniem 80 MPa [3, 13].

Dichloran(VII) (5-aminotetrazolo- N^2)pentaaminakobaltu(III) jest zaledwie kruszącym materiałem wybuchowym o umiarkowanej wrażliwości na uderzenie (powyżej 6 J). Fakt ten wskazuje, że mono funkcjonalizacja tetrazolu w pozycji 5 (na atomie węgla) grupami elektronodonorowymi (NH_2 , OH) sprzyja zwiększeniu stabilności kompleksowych kationów $[\text{Co}(\text{R}-\text{CN}_4)(\text{NH}_3)_5]^{2+}$ [14].

Związki typu CP otrzymywane są w wyniku wymiany koordynacyjnej cząsteczki wody w dichloranie(VII) akwapentaaminakobaltu(III) na anion odpowiedniej pochodnej tetrazolu (Rys. 3). Reakcja zachodzi podczas ogrzewania reagentów w środowisku wodnym lub alkoholowym w obecności HClO_4 [3].

Koordinacja obojętnych elektrycznie ligandów tetrazolowych sprzyja zwiększeniu liczby anionów chloranowych(VII), przez co poprawia się bilans tlenowy kompleksów oraz ich parametry detonacyjne i zdolność inicjująca. W pracy [15] wykazano, że trichloran(VII) (1,5-diaminotetrazol)pentaaminakobaltu(III) oraz trichlo-

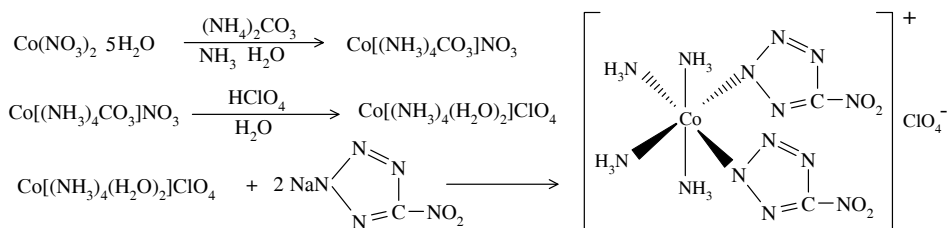
ran(VII) (1-metylo-5-aminotetrazol)-pentaaminakobaltu(III) są wysokoenergetycznymi i bezpiecznymi IMW (Rys. 4).



Rysunek 4. Struktura i właściwości trichloratów(VII) (1-R-5-aminotetrazol)pentaaminakobaltu(III)
 Figure 4. Structure and properties of trichlorate(VII) (1-R-5-aminotetrazole)pentaamminecobalt(III)

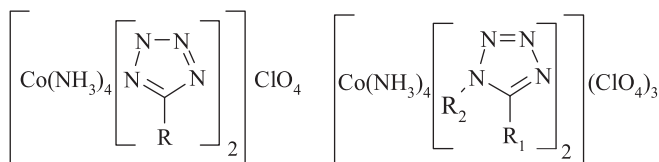
Chloran(VII) di(5-nitrotetrazolo-*N*²)teraaminakobaltu(III) (BNCP) otrzymano w 1986 r. [16] (Rys. 5). Obecnie jest uważany za jeden z najbardziej efektywnych IMW [17–20]. Charakteryzuje się krótkim czasem przejścia palenia w detonację (ok. 10 ms) i może pełnić rolę zarówno ładunku pierwotnego jak i wtórnego, ponieważ przy gęstości 1,97 g/cm³ detonuje z prędkością 8100 m/s, a jego wrażliwość na uderzenie jest mniejsza niż wrażliwość pentrytu (ok. 6 J). Najmniejszy ładunek BNCP niezbędny do pobudzenia heksogenu ma masę 50 mg [20]. Trwałość i odporność termiczna tego związku również nie budzi zastrzeżeń. Szybki, jednoetapowy rozkład termiczny rozpoczyna się dopiero po przekroczeniu 270°C.

Parametryczne badania syntezy BNCP w wodnych roztworach HClO₄ wykazały, że najczystszy produkt i z największą wydajnością (do 70%) uzyskać można prowadząc reakcję w możliwie wysokiej temperaturze (95°C), przy wykorzystaniu substratów (sól sodowa 5-nitrotetrazolu i azotan(V) tetraaminawęglanokobaltu(III)) nie zawierających azotanu(III) sodu. Jon NO₂⁻ konkuruje, bowiem, z anionem 5-nitrotetrazolu w ostatnim etapie syntezy kompleksu, tzn. w reakcji wymiany cząsteczki wody na anionowy ligand [21, 22].



Rysunek 5. Schemat syntezy i struktura BNCP
 Figure 5. Scheme of synthesis and structure of BNCP

Otrzymano i zbadano także inne kompleksowe chlorany(VII) tetraaminatów kobaltu(III) z tetrazolami podstawionymi w pozycjach 5 oraz 1 i 5 (Rys. 6) [23, 24].



Parametr	Związek				
	R = CH ₃	R = H	R ₁ = H R ₂ = NH ₂	R ₁ = NH ₂ R ₂ = NH ₂	R ₁ = CH ₃ R ₂ = NH ₂
Gęstość, g/cm ³	1,86	1,75	1,90	1,85	1,90
Prędkość detonacji, m/s	6900	6800	7100	7300	7500
Temperatura rozkładu, °C	239	252	238	233	234
Wrażliwość, % wybuchów, (2 kg z 25 cm)	64	–	10	32	8
Minimalny ładunek inicjujący heksogen, g	0,45	0,30	0,40	0,35	0,15

Rysunek 6. Struktura i właściwości wybranych kompleksowych chloranów(VII) kobaltu(III)

Figure 6. Structure and properties of chosen complex cobalt(III) chlorates(VII)

Analizy termiczne związków o strukturze przedstawionej na Rys. 6 potwierdziły, że są wystarczająco trwałe. Ich szybki rozkład rozpoczyna się w temperaturach wyższych od 230°C, a wartość energii aktywacji jest w każdym przypadku większa niż 200 kJ/mol [3]. Pierwszy etap termolizy polega na uwolnieniu jednej cząsteczki amoniaku, co prowadzi do destrukcji kompleksu. Następnie rozkładowi i utlenieniu jonami ClO₄⁻ ulegają ligandy tetrazolowe. Wieloetapowy charakter rozkładu i niższe parametry detonacyjne sprawiają, że zdolność inicjująca tych związków jest kilkakrotnie mniejsza niż w przypadku BNCP.

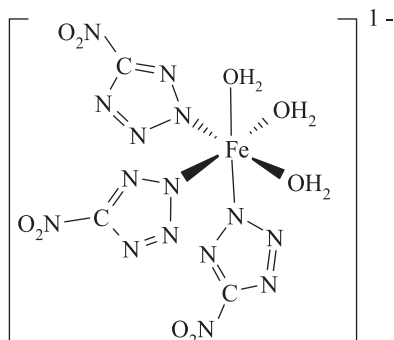
Talawar i in. [25] opisali syntezę, strukturę i właściwości wybuchowe chloranów(VII) di(5-nitrotetrazolo-*N*²)tetraaminaniklu(III) oraz (5-nitrotetrazolo-*N*²)triaminamiedzi(II) i cynku(II). Wrażliwość na uderzenie (6 J), tarcie (30 N) i ogrzewanie (początek rozkładu w ok. 270°C) złożonych soli niklu i miedzi są zbliżone do odpowiednich parametrów BNCP. Kompleks cynku ulega rozkładowi już w 120°C i nie może być brany pod uwagę jako kandydat na IMW.

5-Nitrotetrazolan rtęci(II) Hg(N₄C-NO₂)₂ ma większą zdolność inicjującą niż azydek ołowiu [26]. Jest przy tym odporny na oddziaływanie wilgoci i ditlenku węgla oraz charakteryzuje się małą wrażliwością na tarcie (50 N). Może być stosowany w spłnkach detonacyjnych działających od płomienia, ponieważ w odróżnieniu od azydku ołowiu jest dostatecznie wrażliwy na ten rodzaj bodźca.

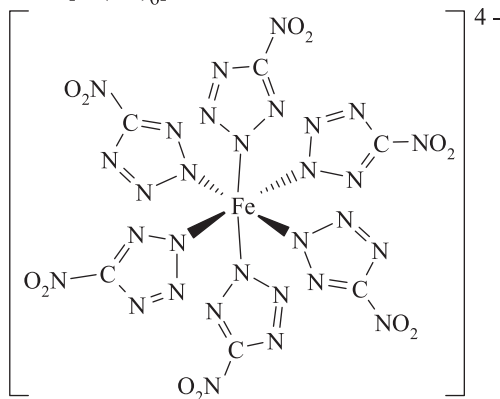
Wdrażanie przyjaznych środowisku naturalnemu materiałów i technologii staje się coraz bardziej palącą potrzebą także w dziedzinie materiałów wysokoenergetycznych. Kandydatów na nowe, tzw. „zielone” IMW, poszukuje się wśród organicznych azydków, związków heterocyklicznych zasobnych w azot oraz związków koordynacyjnych. Ta ostatnia grupa jest szczególnie eksplorowana, ponieważ ich syn-

teza jest stosunkowo prosta, przebiega w środowisku wodnym i nie generuje toksycznych odpadów.

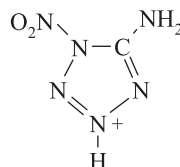
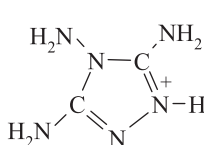
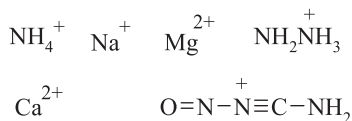
Kompleksowe aniony: $[\text{Fe}(\text{NT})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^-$



oraz $[\text{Fe}(\text{NT})_6]^{4-}$



i kationy:



Parametr	Związek		
	$\text{NH}_4[\text{Fe}(\text{NT})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	$\text{Na}[\text{Fe}(\text{NT})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	$\text{Pb}(\text{N}_3)_2$
Gęstość, g/cm^3	2,2	2,2	4,8
Prędkość detonacji, m/s	7700	–	5500
Temperatura rozkładu, °C	255	250	315
Wrażliwość na wyładowanie elektryczne, J	> 0,36	> 0,36	0,005
Wrażliwość na tarcie, N	28	0,2	0,06

Rysunek 7. Struktura i właściwości kompleksowych soli żelaza(II) – nowoczesnych IMW
 Figure 7. Structure and properties of complex iron(II) salts – novel primary explosives

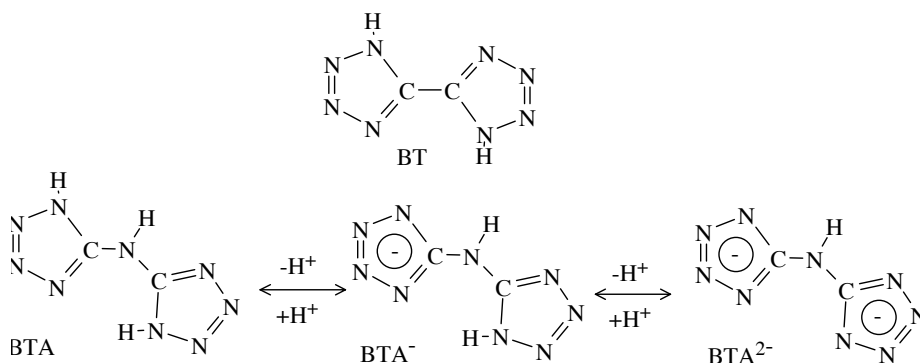
Na przykład, Huynh i in. [27–30] opublikowali ostatnio wyniki długoletnich badań, które zakończyły się odkryciem kilku interesujących IMW w grupie złożonych soli żelaza(II) i miedzi(II) z anionami 5-nitrotetrazolu i różnymi kationami, zarówno nieorganicznymi jak i organicznymi (Rys. 7). Autorzy podkreślają potencjalną możliwość zastąpienia nie tylko toksycznych związków ołowiu i rtęci, ale także mało trwałych organicznych IMW (np. tetrazenu). Zmieniając, bowiem, ilość ligandów tetrazolowych i rodzaj kationu można uzyskać związki o wrażliwości

i parametrach detonacyjnych (rosną wraz ze zwiększeniem ilości anionów 5-nitro-tetrazolu [30]) dokładnie dopasowanych do konkretnych zastosowań. Ponadto proponowane substancje spełniają wszystkie kryteria stawiane nowoczesnym IMW, tzn. są odporne termicznie przynajmniej do 200°C, pewne w działaniu, ale jednocześnie bezpieczne w użytkowaniu, dostatecznie trwale chemicznie i fizycznie oraz nie zawierają toksycznych składników (metali ciężkich, jonów chloranowych).

W pracy [31] zaproponowano wykorzystanie bis-tetrazoli: 5,5'-bis-1*H*-tetrazolu (BT) oraz *N,N*-bis(1(2)*H*-tetrazol-5-yl)-aminy (BTA) (Rys. 8) jako składników mieszanin gazotwórczych oraz ligandów w związkach kompleksowych metali przejściowych.

BTA ma szczególnie interesujące właściwości kompleksotwórcze, ponieważ może być koordynowany przez metale w trzech postaciach: jako ligand obojętny lub formie anionowej, mono- (BTA⁻) oraz dideprotonowanej (BTA²⁻). Ponadto jest ligandem chelatowym (didentnym) i w związku z tym umożliwia tworzenie związków koordynacyjnych o strukturze polimerycznej. W połączeniu z właściwym doбором pozostałych elementów składowych, pozwala to zmieniać właściwości fizykochemiczne i wybuchowe w szerokim zakresie.

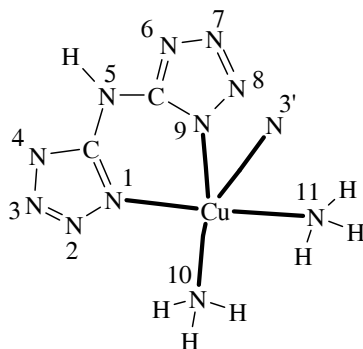
Na przykład, w wyniku reakcji BTA z kationami Cu²⁺ w wodnym roztworze amoniaku, prowadzonej w różnych warunkach, otrzymano związki o składzie Cu(BTA)(NH₃)₂, Cu(BTA)(NH₃)₂·H₂O oraz (NH₄)₂Cu(BTA)₂·2,5H₂O. W cytowanej pracy przedstawiono strukturę pierwszych dwóch kompleksów, a pierwszy i trzeci scharakteryzowano pod względem wybuchowym.



Rysunek 8. Struktury bis-tetrazoli – wysokoenergetycznych ligandów w kompleksowych IMW

Figure 8. Structures of bis-tetrazoles – highly energetic ligands of complex primary explosives

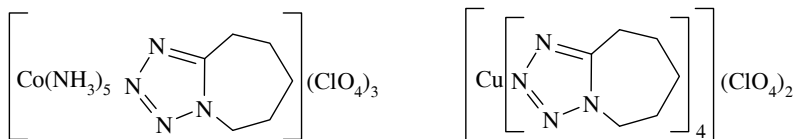
Otoczenie koordynacyjne kationu miedzi w Cu(BTA)(NH₃)₂ przedstawiono na Rysunku 9. Kompleks ma kształt zdeformowanej piramidy tetragonalnej, której podstawę stanowią dwa atomy azotu BTA (1 i 9) oraz dwie cząsteczki amoniaku. Piąty, wierzchołkowy, atom azotu (3') należy do innej cząsteczki BTA, będącej ligandem kolejnego kationu Cu²⁺. To oznacza, że omawiany związek jest polimerem koordynacyjnym, w którym mostek stanowi jeden z pierścieni tetrazolowych BTA.



Rysunek 9. Otoczenie koordynacyjne Cu^{2+} w $[\text{Cu}(\text{BTA})(\text{NH}_3)_2]_n$
 Figure 9. Coordination environment of the Cu^{2+} ion in $[\text{Cu}(\text{BTA})(\text{NH}_3)_2]_n$

$[\text{Cu}(\text{BTA})(\text{NH}_3)_2]_n$ jest mało wrażliwym materiałem wybuchowym. Ulega szybko rozpadowi dopiero po przekroczeniu 250°C , a energia aktywacji wynosi ok. 196 kJ/mol . W standardowych próbach wrażliwości na uderzenie i tarcie, nie udało się zainicjować jego rozkładu nawet przy najwyższych możliwych obciążeniach (40 J , 360 N).

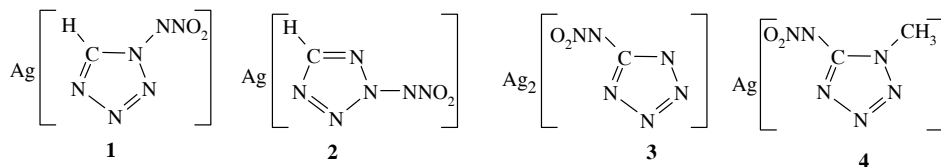
Wysokoenergetyczne kompleksy chlorany(VII) kobaltu(III) i miedzi(II) otrzymano wykorzystując w roli ligandu znany z zastosowań medycznych 1,5-pentametylenotetrazol (corazol) [32–34] (Rys. 10).



Rysunek 10. Związki kompleksowe zawierające 1,5-pentametylenotetrazol jak ligand
 Figure 10. Complex compounds containing 1,5-pentamethylenetetrazol as a ligand

Wybitnie ujemny bilans tlenowy dichloranu(VII) tetra(1,5-pentametylenotetrazol)-miedzi(II) sprawia, że nie ma właściwości inicjujących. Proponowany jest jako katalizator procesu spalania złożonych paliw raketowych zawierających chloran(VII) amonu [33]. Trichloran(VII) (1,5-pentametylenotetrazol)pentaaminakobaltu(III) detonuje z maksymalną prędkością ok. 7000 m/s i jest względnie bezpiecznym IMW (wrażliwość na uderzenie ok. 5 J , ładunek inicjujący heksogen ok. $0,4 \text{ g}$).

Proste i złożone sole metali i (*N*-nitroamino)tetrazoli są z reguły efektywnymi IMW. Jest wynik wysokiej dodatniej wartości entalpii tworzenia tego ligandu. W pracy [3] zbadano wpływ pozycji grupy *N*-nitroaminowej w pierścieniu tetrazolu na właściwości inicjujące soli srebrnych (Rys. 11)



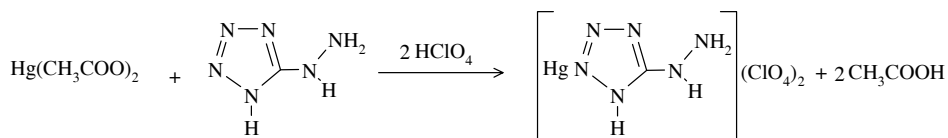
Rysunek 11. Struktury badanych soli srebrowych *N*-nitroaminotetrazoli
Figure 11. Structures of the tested silver salts of *N*-nitroamminotetrazoles

Zdolność inicjującą związków **1–4** (Rys. 9) oszacowano poprzez wyznaczenie masy ładunku niezbędnej do zainicjowania wybuchu heksogenu. Ustalono, że masa ta zależy od pozycji grupy *N*-nitroaminowej i zmienia się w następującym stosunku:

$$(2):(1):(3):(4) \approx 1:5:60:120.$$

Związki kompleksowe zawierające 1- i 2-(*N*-nitroamino)tetrazol charakteryzują się zdecydowanie krótszym czasem przejścia palenia w detonację niż ich izomery podstawione w pozycji 5 (atom węgla). Analiza widm masowych odpowiednich soli amonowych pozwoliła stwierdzić, że przyczyną tego stanu rzeczy są różnice w strukturze i reaktywności produktów początkowych etapów rozkładu tych izomerów. W przypadku *N*-podstawionych tetrazoli w produktach obserwowano nawet 30-krotnie większy udział ditlenku węgla. Proporcjonalnie większa jest też ilość uwalnianego ciepła, a to przyspiesza rozwój procesu detonacji [3, 50].

Ilyshin i in. [35–39] otrzymali i zbadali szereg kompleksowych chloranów(VII) rtęci(II) z hydrazynowymi pochodnymi azoli, w tym 5-hydrazynotetrazolem (Rys. 12).

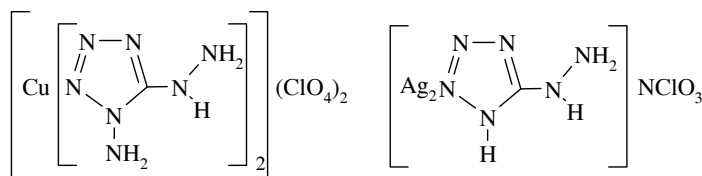


Rysunek 12. Schemat syntezy dichloranu(VII) (5-hydrazynotetrazol)rtęci(II)
Figure 12. Scheme of synthesis of dichlorate(VII) (5-hydrazinotetrazole)mercury(II)

Dichloran(VII) (5-hydrazynotriazol)rtęci(II) ma dodatni bilans tlenowy (+12,8%), detonuje z maksymalną prędkością ok. 6000 m/s, a minimalny ładunek inicjujący heksogen ma masę zaledwie 15 mg. Jego podstawową zaletą jest jednak ekstremalnie duża wrażliwość na promieniowanie laserowe o długości fali 1,06 mm – progowa gęstość energii pojedynczego impulsu o czasie trwania 30 ns wynosi ok. 5 mJ/cm² [39].

Równie wysoką podatnością na rozkład pod wpływem promieniowania laserowego charakteryzują się związki kompleksowe innych metali z bloku *d*, szczególnie tych o wysokim potencjale jonizacji. Dotychczas najdokładniej zbadano dichlo-

ran(VII) (1-amino-5-hydrazynotetrazol)miedzi(II) oraz kompleksową sól srebra z 5-aminotetrazolem i unikalnym anionem – deprotonowanym amidem kwasu chlorowego(VII) (Rys. 13) [39].

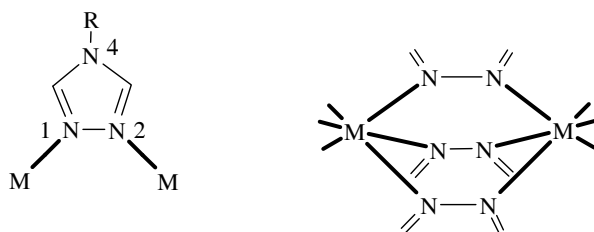


Rysunek 13. Struktury związków kompleksowych ekstremalnie wrażliwych na promieniowanie laserowe
 Figure 13. Structures of coordination compounds extremely sensitive to laser radiation

Mechanizm inicjowania związków kompleksowych promieniowaniem laserowym nie jest do końca rozpoznany. W wielu pracach poświęconych temu zagadnieniu stawia się hipotezę (niesprzeczną z wynikami eksperymentów), że rozkład rozpoczyna się w wyniku deformacji sieci krystalicznej w otoczeniu optycznych niejednorodności o mikrometrowych wymiarach (w tzw. laserowo generowanych gorących punktach) [40].

2. KOMPLEKSOWE INICJUJĄCE MATERIAŁY WYBUCHOWE ZAWIERAJĄCE POCHODNE TRIAZOLI

1,2,4-Triazol i jego pochodne są niemal równie często jak tetrazole wykorzystywane w roli ligandów w wysokoenergetycznych związkach kompleksowych. Zawdzięczają to swej budowie, a szczególnie obecności aż trzech donorowych atomów azotu w pierścieniu. Dzięki temu triazole mają możliwość tworzenia kompleksów wielordzeniowych, w których cząsteczka ligandu stanowi łącznik pomiędzy centrami koordynacji (Rys. 14). Mostki mogą mieć różne geometrie, zależnie od pozycji atomów donorowych w pierścieniu, rodzaju i stopnia jego funkcjonalizacji oraz liczby koordynacyjnej i potencjału jonowego metalu [41].



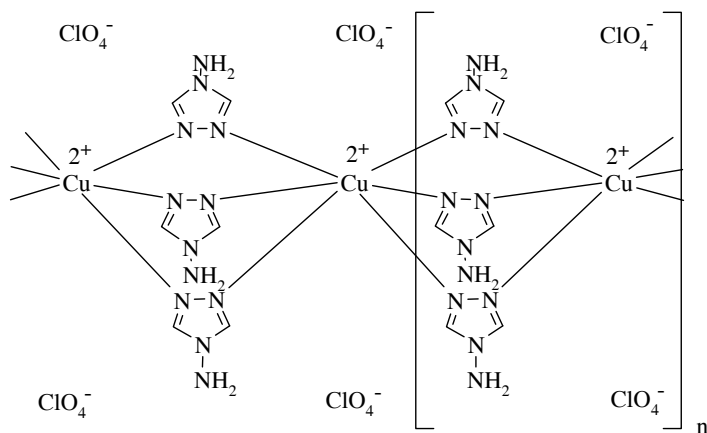
Rysunek 14. Schemat koordynowania triazoli i geometria potrójnych mostków triazolowych
 Figure 14. Scheme of coordination modes of triazoles and the geometry of triple triazole bridges

Preferowanym sposobem koordynowania 1,2,4-triazoli (szczególnie podstawionych w pozycji 4) jest ich połączenie z dwoma kationami metalu przejściowego poprzez atomy azotu w pozycjach 1 i 2, co prowadzi do utworzenia polimeru koordynacyjnego z potrójnymi mostkami triazolowymi (Rys. 14).

W przypadku triazoli z dużymi objętościowymi podstawnikami w pozycjach 3 lub 5, jeden lub dwa ligandy triazolowe mogą być zastąpione przez anion mostkujący, np. F^- , Cl^- , NCS^- [42].

Pod koniec lat 70. XX w. Lavrenova i in. wykorzystali po raz pierwszy 4-amino-1,2,4-triazol (4-AT) jako ligand w kompleksowych azotanach(V) i chloranach(VII) metali przejściowych (Co, Ni, Cu, Zn, Cd), które badano ze względu na ich ciekawe właściwości magnetyczne [43]. Atrakcyjność 4-AT jako składnika nadającego właściwości wybuchowe to odkrycie ostatnich lat [44]. Wśród jego zalet należy przede wszystkim wymienić dużą zawartość azotu (66,6%), dodatnią wartość entalpii tworzenia (318 kJ/mol [7]), ale jednocześnie zadawalającą trwałość (rozkład powyżej 250°C). Ponadto może tworzyć jedno- i wielordzeniowe związki koordynacyjne.

Znane są, na przykład, trzy różne sole kompleksowe miedzi(II) z 4-AT [45]. Jednym z nich jest polimer koordynacyjny $\{[Cu(C_2H_4N_4)_3](ClO_4)_2\}_n$ o strukturze przedstawionej na Rys. 15.

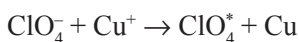
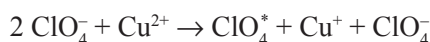
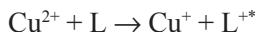


Rysunek 15. Polimeryczna struktura chloranu(VII) μ -tri(4-amino-1,2,4-triazol)miedzi(II)

Figure 15. Polymeric structure of μ -tri(4-amino-1,2,4-triazole)copper(II) chlorate(VII)

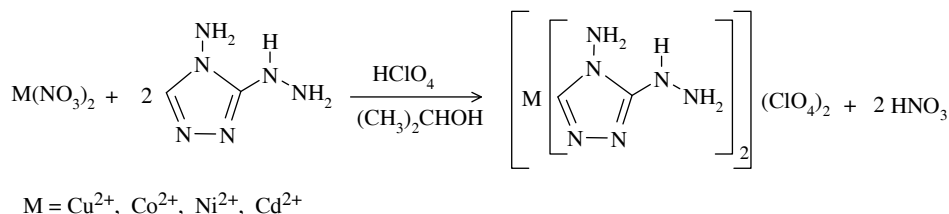
W pracy [44] podano dokładny przepis syntezy tego związku oraz przedstawiono wyniki badań właściwości wybuchowych. Stwierdzono, że z łatwością detonuje od płomienia, charakteryzuje się przy tym wysoką odpornością termiczną (do ok. 310°C), względnie małą wrażliwością na tarcie (10 N) i dużą zdolnością inicjującą (graniczny ładunek niezbędny do pobudzenia prasowanego pentrytu ma masę ok. 200 mg). Prędkość detonacji tego IMW w ładunkach o gęstości ok. 1,4 g/cm³ wynosi 6500 m/s.

Korzystne połączenie właściwości użytkowych jest wynikiem właściwego wyboru elementów składowych $\{[\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4)_3](\text{ClO}_4)_2\}_n$. Kation miedzi Cu^{2+} obdarzony jest największym potencjałem jonowym (stosunek ładunku jonu do jego promienia) spośród dwuwartościowych kationów metali przejściowych z czwartego okresu i dlatego tworzy w tej grupie najtrwalsze kompleksy. Jednocześnie przyspiesza początkowe etapy rozkładu (krótka droga rozbiegu detonacji), ponieważ aktywuje cząsteczki ligandów (L) i aniony ClO_4^- wskutek ich jednoelektronowego utlenienia (powstają reaktywne rodniki) [46]:



Aniony ClO_4^- są zasobne w aktywny tlen i charakteryzują się umiarkowaną reaktywnością (standardowy potencjał redox półogniwa $\text{Cl}_2/\text{ClO}_4^-$ wynosi 1,39 V). Didentny charakter 4-AT sprzyja dużej trwałości kompleksu, bo oderwanie ligandu wymaga zerwania aż dwóch wiązań.

Nita i in. otrzymali i wstępnie zbadali związek kompleksowy chlorku miedzi(II) z chloranem(VII) 4-amino-1,2,4-triazolu [47]. Wykonano analizy składu pierwiastkowego, badania spektrofotometryczne w podczerwieni, analizy termiczne oraz badania wrażliwości i zdolności inicjowania detonacji w prasowanym pentrycie. Stwierdzono, że otrzymany związek to koordynacyjny polimer, zbudowany z kationów miedzi powiązanych podwójnymi mostkami chlorkowymi oraz pojedynczym mostkiem tworzoną przez chloran(VII) 4-amino-1,2,4-triazolu (chloran(VII) μ -(4-amino-1,2,4-triazol)- μ -dichloromiedzi(II)). Nowy związek jest inicjującym materiałem wybuchowym o właściwościach wybuchowych zbliżonych do właściwości azydku ołowiu



Rysunek 16. Schemat syntezy i budowa kompleksów metali z 3(5)-hydrazyno-4-amino-1,2,4-triazolem

Figure 16. Scheme of synthesis and structure of metal complexes with 3(5)-hydrazino-4-amino-1,2,4-triazole

Innym interesującym ligandem jest 3(5)-hydrazyno-4-amino-1,2,4-triazol (HAT) [48–52]. Związki kompleksowe z jego udziałem charakteryzują się szczególnie dużą wrażliwością na promieniowanie laserowe. Otrzymuje się je wprowadzając roztwór azotanu odpowiedniego metalu w propan-2-olu do roztworu HAT i kwasu chlorowego(VII) w tym samym rozpuszczalniku (Rys. 16) [48].

Szybki rozkład kompleksowych chloranów(VII) miedzi, kobaltu, niklu i kadmu z 3(5)-hydrazyno-4-amino-1,2,4-triazolem rozpoczyna się powyżej 230°C. Jedynie termoliza $[\text{Cu}(\text{HAT})_2](\text{ClO}_4)_2$ zachodzi w jednym etapie i ma charakter wybuchowy. Autorzy przypisują to katalitycznemu działaniu kationu miedzi.

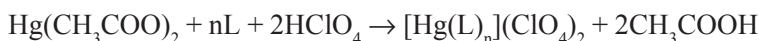
Badania wrażliwości na promieniowanie laserowe polegały na oświetlaniu prasowanych próbek IMW pojedynczym, 30-ns impulsem o długości fali $\lambda = 1,06$ mm i średnicy wiązki 0,5 mm. Wyznaczano progową wartość energii promieniowania (E_{kr}) skutkującej zainicjowaniem detonacji [48, 52]. Wyniki pomiarów przedstawiono w Tabeli 1.

Stwierdzono, że wszystkie badane związki mają właściwości inicjujące i można je uznać za wrażliwe na promieniowanie lasera Nd:YAG. Wrażliwość jest tym większa im wyższa jest suma potencjałów jonizacji metalu, czyli im silniejsze właściwości utleniające ma jego kation. Wynik ten potwierdza sugerowany wcześniej mechanizm katalitycznego działania miedzi na początkowe etapy rozkładu wybuchowych związków kompleksowych [46].

Tabela 1. Wrażliwość $[\text{M}(\text{HAT})_2](\text{ClO}_4)_2$ na promieniowanie laserowe
Table 1. Sensitivity of $[\text{M}(\text{HAT})_2](\text{ClO}_4)_2$ to laser radiation

Związek	E_{kr} , J	Suma potencjałów jonizacji metalu $I_1 + I_2$, eV
$(\text{Cu}(\text{HAT})_2)(\text{ClO}_4)_2$	$1,10 \times 10^{-5}$	28,02
$(\text{Cd}(\text{HAT})_2)(\text{ClO}_4)_2$	$5,03 \times 10^{-4}$	25,90
$(\text{Ni}(\text{HAT})_2)(\text{ClO}_4)_2$	$5,75 \times 10^{-4}$	25,78
$(\text{Co}(\text{HAT})_2)(\text{ClO}_4)_2$	$1,36 \times 10^{-3}$	24,92

Światłoczułymi materiałami wybuchowymi są także dichlorany(VII) rtęci(II) z różnymi pochodnymi 1,2,4-triazolu [3]. Poza HAT w roli ligandów wykorzystywano 5-hydrazyno-1,2,4-triazol, 3-hydrazyno-4-amino-5-metylo-1,2,4-triazol, 3-hydrazyno-4-amino-5-merkaptto-1,2,4-triazol. Substratami w syntezie tych związków były octan rtęci(II) i roztwór odpowiedniego ligandu ($n = 1$ lub 2) w rozcieńczonym kwasie chlorowym(VII).



Impuls promieniowania ($\lambda = 1,06$ mm) o energii 0,2 J, średnicy wiązki 1 mm i czasie trwania 2 ms powoduje natychmiastową przemianę, którą tylko w jednym

przypadku (triazol z podstawnikiem metylovym) zakwalifikowano jak gwałtowne spalanie. Pozostałe związki ulegają w tych warunkach detonacji [3].

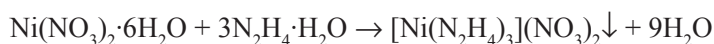
Liu i in. [53] otrzymali oraz wyznaczyli strukturę trzech nowych związków kompleksowych miedzi(II), w których liganadami są jednocześnie aniony azydkowe i pochodne triazolu: 4-amino-3,5-dimetylo-1,2,4-triazol (admtrz), 4-amino-3,5-bis(4-pirydino)-1,2,4-triazol (abptrz) oraz 4-(2-pirydino)-1,2,4-triazol (ptrz). Związkom tym przypisano następujące wzory: (1) $[\text{Cu}_2(\text{admtrz})_2(\text{N}_3)_4]_n$, (2) $[\text{Cu}(\text{abptrz})(\text{N}_3)_2]_n \cdot 2n\text{H}_2\text{O}$ oraz (3) $[\text{Cu}_3(\text{ptrz})_2(\text{N}_3)_6]_n$. Wszystkie są polimerami koordynacyjnymi, przy czym związki (1) i (3) mają budowę liniową, natomiast związek (2) tworzy trójwymiarową sieć, w której kationy Cu^{2+} połączone anionami azydkowymi w kwadraty stanowią płaszczyzny, a te z kolei łączą się między sobą poprzez cząsteczki 4-(2-pirydino)-1,2,4-triazolu. Tylko związki (1) i (3) mogą mieć właściwości inicjujące, ponieważ ulegają jednoetapowemu, wybuchowemu rozkładowi w temperaturach wynoszących odpowiednio 180 i 170°C (maksimum pików rozkładu). Podczas ogrzewania próbki związku (2) usuwane są dwie cząsteczki wody, a rozkład pozostałości zachodzi w dwóch etapach i jest stosunkowo powolny [53].

3. KOMPLEKSOWE INICJUJĄCE MATERIAŁY WYBUCHOWE ZAWIERAJĄCE HYDRAZYNĘ

Hydrazyna jest silnym reduktorem o dodatniej entalpii tworzenia (50,6 kJ/mol) i zawiera ponad 87% azotu. Jej cząsteczka może być koordynowana przez wiele metali jako mono- i didentny ligand. Dzięki temu jest częstym składnikiem wysokoenergetycznych związków kompleksowych [54–59].

Najważniejszym inicjującym materiałem wybuchowym z tej grupy jest bez wątpienia diazotan(V) trihydrazynaniklu(II) (NiHN) [2]. Związek ten jest znany od kilkadziesiąt lat, jednak jego zalety jako IMW zostały dostrzeżone i docenione dopiero pod koniec XX w. [54].

NiHN otrzymuje się w wyniku reakcji azotanu niklu(II) z hydrazyną w środowisku wodnym. Roztwory reakcyjne nie zawierają żadnych niepotrzebnych jonów, a zatem mogą być używane wielokrotnie.



Właściwie dobierając temperaturę mieszaniny reakcyjnej (zwykle ok. 65°C) i stężenia substratów (8% roztwór $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ i 80% roztwór N_2H_4) można uzyskać produkt w formie sferoidalnych krystalitów o średnicy powyżej 80 μm i dużej gęstości usypowej (ok. 0,9 g/cm³).

NiHN jest odporny na promieniowanie słoneczne i nie reaguje ze składnikami atmosfery. Nie ulega hydrolizie nawet po tygodniu przechowywania pod wodą o temperaturze 60°C. Rozcieńczone wodne roztwory kwasów i zasad powodują jego szybki rozkład, a stężone kwasy inicjują wybuch. Nie stwierdzono braku zgodności

kontaktowej NiHN z glinem, miedzią i żelazem. Jego wrażliwość na wyładowania elektrostatyczne i bodźce mechaniczne (50% pobudzeń przy energii uderzenia ok. 17 J) jest dużo mniejsza niż w przypadku klasycznych IMW. Jedynie odporność termiczna NHN budzi zastrzeżenia – w temperaturze 170°C czas indukcji wybuchu jest równy 5 s (345°C w przypadku $\text{Pb}(\text{N}_3)_2$).

Ciepło wybuchu NiHN wynosi ok. 4240 kJ/kg. W ładunkach o gęstości 1,7 g/cm³ detonuje z prędkością 7000 m/s. Aby zainicjować prasowany pentryt, wystarczy użyć ładunku NiHN o masie 150 mg. Oznacza to, że pod względem parametrów detonacyjnych NHN przewyższa obecnie stosowane IMW [54].

Wykorzystując przepis syntezy podany w pracy [54], Chhabra i in. [55] otrzymali i zbadali NiHN oraz analogiczną sól kobaltu(II) – triazotanu(V) trihydrazynakobaltu(II) (CoHN). Ogrzewanie NiHN z szybkością 5°C/min. skutkuje wybuchem w temperaturze ok. 220°C, natomiast CoHN rozkłada się w dwóch etapach, uwalniając najpierw hydrazynę (185°C), a następnie tlenki azotu. Proces termolizy był monitorowany poprzez wykonywanie widm w podczerwieni próbek ogrzewanych w różnych temperaturach. Stwierdzono, że intensywność pasm absorpcji wiązań Ni–N maleje dopiero po przekroczeniu 190°C, a pasma wiązań N–N pozostają niezmiennione do 210°C. W przypadku CoHN obserwowano podobne zmiany widma IR, ale następowały one w niższych temperaturach (począwszy od 140°C). Oznacza to, iż pierwszym etapem rozkładu jest zerwanie wiązań koordynacyjnych metal–azot. Odporność termiczna badanych związków koreluje ze zmianami wartości drugiego potencjału jonizacji niklu i kobaltu (odpowiednio 18,2 i 17,3 eV).

W cytowanej pracy potwierdzono, że NiHN jest bezpiecznym inicjującym materiałem wybuchowym, który może być stosowany w formie czystej lub w mieszaninach, w tym z utleniaczami, paliwami albo dodatkami uwrażliwiającymi, np. AgN_3 . Sól kobaltu nie ma właściwości inicjujących, ale może być używana jako katalizator w stałych złożonych paliwach raketowych.

Wojewódka i in. [56] wyznaczyli energetyczne charakterystyki dziesięciu kompleksowych chloranów(VII) i azotanów(V) metali przejściowych (Cu, Co, Ni, Hg, Cd, Cr, Zn) z hydrazyną lub etylenodiaminą w roli ligandów. Badania polegały na pomiarze parametrów fal uderzeniowych w wodzie generowanych wybuchem detonatorów zawierających 0,2, 0,5 lub 0,7 g testowanego związku (ładunek wtórny) oraz 0,3 g azydku ołowiu (ładunek pierwotny).

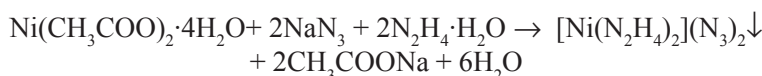
Energia wybuchu kompleksów z hydrazyną maleje w szeregu: $[\text{Ni}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{NO}_3)_2 > [\text{Cr}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{ClO}_4)_3 > [\text{Co}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{NO}_3)_3 > [\text{Cd}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{ClO}_4)_2 > [\text{Cd}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{NO}_3)_2 > [\text{Zn}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{NO}_3)_2$. Porównując badane związki z klasycznymi KMW stwierdzono, że ekwiwalent heksogenowy soli niklu i cynku wynosi odpowiednio ok. 96 i 71%. $[\text{Ni}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{NO}_3)_2$ i $[\text{Cr}(\text{N}_2\text{H}_4)_3](\text{ClO}_4)_3$ przewyższają trotyl pod względem parametrów detonacyjnych [56].

W ostatnich latach otrzymano wybuchowe związki koordynacyjne zawierające mieszane ligandy, w tym aniony azydkowe, których obecność w strukturze sprzyja wysokim parametrom detonacyjnym kompleksu, ale zwykle jest też przyczyną braku

trwałości i nadmiernej wrażliwości [57]. Liu i in. opisali syntezę, strukturę i właściwości koordynacyjnego polimeru $[\text{Cd}(\text{N}_2\text{H}_4)_2(\text{N}_3)_4]_n$. Związek ten ma złożoną przestrzenną strukturę, w której kationy Cd^{2+} są połączone mostkami azydowymi typu $\mu-1,1$ i $\mu-1,3$ oraz mostkami hydrazynowymi $\mu-1,2$.

Pomimo obecności grup azydowych związek jest stosunkowo trwały i charakteryzuje się małą wrażliwością na bodźce inicjujące. Podczas ogrzewania z szybkością $10^\circ\text{C}/\text{min.}$, rozkład $[\text{Cd}(\text{N}_2\text{H}_4)_2(\text{N}_3)_4]_n$ rozpoczyna się w temperaturze ok. 150°C i polega na utracie dwóch cząsteczek hydrazyny. Dalsza dekompozycja zachodzi w dwóch etapach z uwolnieniem najpierw dwóch ($180\text{--}215^\circ\text{C}$), a następnie czterech cząsteczek azotu ($215\text{--}290^\circ\text{C}$). Potwierdzono to rejestrując ubytki masy próbki po kolejnych etapach rozkładu oraz analizując ich widma w podczerwieni. Próbka ogrzewana do 180°C nie zawiera pasm charakterystycznych dla grupy aminowej, obecne są natomiast pasma drgań ligandów azydowych. Energia aktywacji rozkładu ma wartość ok. 101 kJ/mol .

Autorzy pracy [58] otrzymali diazydek dihydrazynaniklu(II) w wyniku reakcji azotanu, siarczanu lub octanu niklu(II) z hydrazyną i azydkiem sodu przebiegającej w roztworze wodnym, w temperaturze $55\text{--}60^\circ\text{C}$. Największą wydajność (ok. 90%) uzyskano stosując octan niklu:



$[\text{Ni}(\text{N}_2\text{H}_4)_2](\text{N}_3)_2$ ulega szybkiemu rozkładowi powyżej 165°C , uwalniając kolejno hydrazynę i azot. Jest związkiem o wysokich parametrach detonacyjnych – w ładunkach o gęstości ok. $1,5\text{ g/cm}^3$ detonuje z prędkością 5420 m/s . Dzięki temu minimalny ładunek $[\text{Ni}(\text{N}_2\text{H}_4)_2](\text{N}_3)_2$ niezbędny do zainicjowania heksogenu ma masę zaledwie 50 mg (podobnie jak azydok ołowiu) [58]. Wysoka zdolność inicjująca w połączeniu z małą wrażliwością na płomień i uderzenie, czyni go szczególnie interesującym IMW.

Metody syntezy koordynacyjnych związków metali z grup litowców i berylowców z hydrazyną i anionem trinitrometylowym opatentowano w 1964 r. [59]. Ze względu na dużą zawartość tlenu proponowano ich wykorzystanie (a szczególnie $[\text{Li}(\text{N}_2\text{H}_4)_2]\text{C}(\text{NO}_2)_3$ i $[\text{Mg}(\text{N}_2\text{H}_4)](\text{C}(\text{NO}_2)_3)_2$) jako utleniaczy w złożonych paliwach raketowych. Substancje te topią się z rozkładem w temperaturach z przedziału $50\text{--}150^\circ\text{C}$ i są wrażliwymi materiałami wybuchowymi (wrażliwość soli magnezu na uderzenie wynosi ok. 2 J). Część z nich ma niewątpliwie właściwości inicjujące, ale niedostateczna trwałość ogranicza możliwości ich zastosowań w roli IMW.

4. KOMPLEKSOWE INICJUJĄCE MATERIAŁY WYBUCHOWE ZAWIERAJĄCE KARBOHYDRAZYD

Karbohydryd (*N,N'*-diaminomocznik, $H_2NNHCONHNH_2$) ma niezwiązane pary elektronowe na atomach azotu grup aminowych i amidowych oraz atomie tlenu grupy karbonylowej. W związkach kompleksowych występuje jako ligand mono- i didentny. Jako didentny ligand jest koordynowany poprzez atom tlenu oraz atom azotu jednej z grup aminowych (tworząc pięciocłonowe pierścienie) lub przez atomy azotu obydwu grup aminowych. Może być też ligandem tridentnym [60–64]. Wówczas pary elektronowych dostarczają atom tlenu i dwa atomy azotu z terminalnych grup NH_2 . Koordynacja przez atomy azotu grup NH jest mniej prawdopodobna, ponieważ niewiążące elektrony azotu sprzęgają się z elektronami π grupy karbonylowej.

Dzięki chelatowemu charakterowi, karbohydryd jest zdolny do tworzenia trwałych związków kompleksowych z wieloma metalami. Ponadto ma silne właściwości redukujące (standardowy potencjał redoks ok. 0,8 V), i w związku z tym jest często wykorzystywany jako składnik IMW.

Pionierskie prace dotyczące wybuchowych związków kompleksowych z udziałem karbohydrydu zostały wykonane i opublikowane przez zespół prof. Sinditskiego w połowie lat 80. XX w. [46, 62]. Badaniom poddano chlorany(VII) i azotany(V) o ogólnych wzorach: $\{M[OC(NHNH_2)_2]_n\}(ClO_4)_2$ i $\{M[OC(NHNH_2)_2]_n\}(NO_3)_2$, gdzie $M = Ni, Pb, Cu, Cd, Co, Zn, Ba, Ca, Mg$, lub Sr .

Wyraźnie zaznaczone właściwości wybuchowe mają szczególnie kompleksowe chlorany(VII) miedzi, niklu, kobaltu kadmu i ołowiu. Metale te charakteryzują wysokimi potencjałami jonizacji i wywierają silne działanie katalityczne na początkowe etapy rozkładu związków kompleksowych, skracając tym samym czas niezbędny do transformacji spalania w wybuch. Anion chloranowy(VII) jest silniejszym utleniaczem niż anion azotanowy i dlatego kompleksowe chlorany są zwykle wrażliwymi i efektywniejszymi IMW niż odpowiednie azotany [46].

Najlepsze właściwości użytkowe jako inicjujący materiał wybuchowy ma bez wątpienia dichloran(VII) trikarbohydrydkadmu(II) $\{Cd[OC(NHNH_2)_2]_3\}(ClO_4)_2$ (KKP). Związek ten wykorzystano w roli ładunku pierwotnego w opatentowanym w 1996 r. zapalniku elektrycznym [65]. Porównanie właściwości KKP, CP oraz azydku ołowiu przedstawiono w Tabeli 2.

Proces spalania prasowanych ładunków KKP (gęstość ok. 1,6 g/cm³, średnica ok. 4,0 mm) przechodzi w wybuch na odcinku o długości ok. 2,7 mm, a zatem jest równie skuteczny jak azydek ołowiu. Jednocześnie może być uznany za bezpieczny IMW, ponieważ pod względem wrażliwości przypomina kruszące materiały wybuchowe. Jednoznacznym potwierdzeniem jego zalet są wyniki badań odporności detonatorów na przypadkowe zainicjowanie detonacji. Boczne uderzenie w zapalnik odważnikiem o masie 10 kg swobodnie spadającym z wysokości 1 m nie powoduje jego zadziałania [65].

Tabela 2. Właściwości KKP, CP i azydku ołowiu
Table 2. Properties of KKP, CP and lead azide

Właściwość	KKP	CP	Pb(N ₃) ₂
Gęstość, g/cm ³	1,95	1,85	4,8
Temperatura pobudzenia, °C	350	320	310
Ciepło wybuchu, J/g	3900	3500	1500
Prędkość detonacji (m/s) / Gęstość ładunku, (g/cm ³)	4400/1,1	6280/1,5	5180/4,0
Minimalny ładunek inicjujący heksogen, g	0,08	–	0,08
Wrażliwość na uderzenie, J	5,0	5,0	1,0
Wrażliwość na wyładowanie elektryczne, J	0,35	0,12	0,10

W 2004 r. Talawar i in. [66] donieśli o otrzymaniu chloranów(VII) tri(karbohydrazyd)-kobaltu(II), niklu(II) i cynku(II) oraz di(karbohydrazyd)miedzi(II). Największą wydajność oraz produkty o właściwym kształcie cząstek i dużej gęstości usypowej (ok. 0,9 g/cm³) uzyskano w wyniku zmieszania ok. 20% wodnych roztworów odpowiednich chloranów(VII) metali z ok. 10% wodnym roztworem karbohydrazynu, w temperaturze 58–60°C.

Wykorzystując widma w podczerwieni (FT-IR) oraz wyniki pomiarów energii wiązań (ESCA) stwierdzono, że w każdym przypadku karbohydrazyd jest koordynowany poprzez atomy azotu terminalnych grup aminowych.

Kompleksy niklu, cynku i kobaltu można uznać za odporne termicznie i stosunkowo bezpieczne materiały wybuchowe, ponieważ szybkiemu rozkładowi ulegają w temperaturach wyższych od 220°C, a ich wrażliwość na tarcie wynosi ok. 10 N. W próbie Kasta (wrażliwość na uderzenie) obserwowano 50% skuteczność pobudeń przy energii uderzenia z przedziału 10–12 J. Energia aktywacji termicznego rozkładu tych związków ma wartość ok. 160 kJ/mol. [Cu(OC(NHNH₂)₂)(ClO₄)₂] gwałtownie wybuchają już w ok. 120°C i jest równie wrażliwy na uderzenie jak azydek ołowiu (ok. 2 J). Właściwości inicjujących pozbawiony jest kompleks cynku, natomiast sole niklu i kobaltu, poddane działaniu płomienia, detonują w prasowanych ładunkach o masie ok. 0,35 g i są w stanie zainicjować detonację w tetrylu [66]. Zbyt mała odporność termiczna i nadmierna wrażliwość kompleksu miedzi wyklucza jego zastosowanie w roli IMW.

Chunhua i in. [67] otrzymali, poza chloranami(VII) tri(karbohydrazyd)kadmu(II) i niklu(II), także analogiczny związek manganu(II), tzn. {Mn[OC(NHNH₂)₂]₃}(ClO₄)₂. Wszystkie związki mają identyczną strukturę i są inicjującymi materiałami wybuchowymi. Zdaniem cytowanych autorów cząsteczki karbohydrazynu są didentnie koordynowane, ale nie poprzez terminalne grupy aminowe (jak stwierdzono we wcześniej omawianej pracy [66]), lecz przez tlen grupy karbonylowej i atom azotu jednej z grup aminowych. Kation centralny jest wówczas elementem trzech

trwałych, pięcioczłonowych pierścieni, co tłumaczy dużą stabilność tych związków. Najmniejszą wrażliwością na bodźce mechaniczne charakteryzuje się kompleks manganu. Związek niklu został uznany za bardzo wrażliwy, co również jest sprzeczne z wynikami zawartymi w pracy [66].

W 2009 r. Zhang i in. [68] opublikowali wyniki badań związku kompleksowego o wzorze: $\{\text{Mn}[\text{OC}(\text{NHNH}_2)_2]_3\}[\text{C}(\text{NO}_2)_3]_2$. Jak już wcześniej wspomniano, atrakcyjność trinitrometanu jest skutkiem dużej zawartości tlenu, ale mała trwałość ogranicza możliwości jego zastosowań. Jednak, będąc mocnym kwasem, ma zdolność tworzenia znacznie trwalszych soli zarówno z metalami jak i zasadami organicznymi. Jeżeli kationem jest zasobny w azot związek organiczny, to powstała sól stanowi wysokoenergetyczny materiał wybuchowy.

Omawiany związek kompleksowy otrzymano wkraplając roztwór $\text{Mn}[\text{C}(\text{NO}_2)_3]_2$ w 1,2-dichloroetanie do wodnego roztworu karbohydrazynu. Reakcje prowadzono w temperaturze pokojowej. Produkt ma postać drobnokrystalicznego, żółtego proszku. Monokryształy niezbędne do badań rentgenostrukturalnych wyhodowano w wyniku powolnego zateżenia roztworu poreakcyjnego.

W wyniku analizy dyfraktogramów ustalono, że każdy kation manganu tworzy sześć wiązań koordynacyjnych z trzema atomami tlenu grup karbonylowych i trzema terminalnymi atomami azotu z trzech cząsteczek karbohydrazynu. Cząsteczki ligandów i aniony trinitrometylowe są połączone w skomplikowaną trójwymiarową sieć wielokrotnymi wiązaniami wodorowymi i oddziaływaniami elektrostatycznymi.

Podczas ogrzewania z szybkością $10^\circ\text{C}/\text{min.}$, próbki $\{\text{Mn}[\text{OC}(\text{NHNH}_2)_2]_3\}[\text{C}(\text{NO}_2)_3]_2$ ulegają szybkiej dekompozycji w temperaturze ok. 154°C . Próbka traci ok. 90% swej masy, a zatem jedynym skondensowanym produktem rozkładu jest tlenek manganu(II). Energia aktywacji rozkładu ma zaskakująco wysoką wartość: ok. 244 kJ/mol . Autorzy cytowanej pracy są zdania, że jest to wynik dużej energii wiązań występujących w strukturze związku. Z tego samego względu charakteryzuje się umiarkowaną wrażliwością na tarcie i jest niewrażliwy na uderzenie oraz płomień [68].

Potencjalne właściwości inicjujące ma także polimer koordynacyjny o wzorze: $\{[\text{Ca}(\text{OC}(\text{NHNH}_2)_2)_2(\text{H}_2\text{O})](\text{NTO})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}\}_n$ [69]. Symbolem NTO oznaczono anion 3-nitro-1,2,4-triazol-5-onu, który jest kruszącym materiałem wybuchowych o małej wrażliwości. Wykazuje właściwości kwasowe i tworzy szereg soli zarówno z aminami jak i różnymi metalami, które także są materiałami wybuchowymi [70, 71]. W cytowanej pracy [69] wykorzystano go po raz pierwszy w roli anionu w związku kompleksowym.

Potrzebny do syntezy wodny roztwór soli wapniowej NTO otrzymano wprowadzając węglan(IV) wapnia (0,1 mola) do 1 M wodnego roztworu NTO (0,2 mola). W następnym etapie wkroplono roztwór karbohydrazynu (0,3 mola) w 600 ml wody do otrzymanego wcześniej roztworu $\text{Ca}(\text{NTO})_2$. Reakcje prowadzono w temperaturze ok. 60°C . Wytrącony produkt odsączono i wysuszone.

Struktura molekularna $\{[\text{Ca}(\text{OC}(\text{NHNH}_2)_2)_2(\text{H}_2\text{O})](\text{NTO})_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}\}_n$ została wyznaczona w oparciu o widma XRD monokryształów. Potwierdzono, że kationy wapnia ($\text{LK} = 9$) są połączone podwójnymi mostkami karbohidrazydowymi w długie łańcuchy. Każda cząsteczka karbohidrazynu jest tridentnym ligandem, który tworzy – po skoordynowaniu przez dwa sąsiednie kationy wapnia – pięcioczłonowe pierścienie stabilizujące całą strukturę.

W omawianej pracy nie podano żadnych właściwości wybuchowych otrzymanego związku, jednak duża zawartość azotu i obecność NTO w strukturze pozwalają przypuszczać, że jest to wysokoenergetyczny materiał wybuchowy. Z tego punktu widzenia niepożądany jest znaczny udział słabo związanej wody krystalizacyjnej w tym związku.

5. KOMPLEKSOWE INICJUJĄCE MATERIAŁY WYBUCHOWE ZAWIERAJĄCE ALIFATYCZNE POLIAMINY

Alifatyczne poliaminy, podobnie jak karbohidrazyd, są znanymi chelatowymi ligandami i mogą tworzyć trwałe związki kompleksowe. Jednak są stosunkowo rzadko stosowane jako elementy składowe związków wybuchowych, ponieważ zawierają dużo węgla. Jeżeli z jakiś względów wskazane jest ich użycie wybiera się najczęściej etylenodiaminę ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), a ponadto konieczne jest zastosowanie anionów bogatych w aktywny tlen. Wówczas powstaje związek o korzystnym bilansie tlenowym i wysokich parametrach detonacyjnych.

Ten tok rozumowania wykorzystali autorzy pracy [56]. Jednym z najzasobniejszych w energię związków okazał się chloran(VII) bis(etylenodiamina)miedzi(II). Analiza wyników tzw. testu wybuchu podwodnego pozwoliła stwierdzić, że związek ten dorównuje znanym kruszącym materiałom wybuchowym pod względem zdolności do wykonania pracy. Podobne właściwości mają także odpowiednie sole kobaltu rtęci i niklu: $[\text{Co}(\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2)_3](\text{ClO}_4)_3$, $[\text{Hg}(\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2)_2](\text{ClO}_4)_2$, $[\text{Ni}(\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2)_3](\text{ClO}_4)_2$. Kompleks niklu ma najmniej korzystny bilans tlenowy i w związku z tym charakteryzuje się najniższymi wartościami mierzonych parametrów energetycznych.

Wysokoenergetycznymi materiałami wybuchowymi są kompleksowe związki miedzi(II) i kadmu(II) zawierające odpowiednio dwie i trzy cząsteczki etylenodiaminy oraz dwa aniony trinitrometylowe $[(\text{C}(\text{NO}_2)_3)]^-$ [72]. Centralny kation miedzi koordynuje dwie cząsteczki etylenodiaminy i dwa aniony trinitrometylowe $[\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}(\text{NO}_2)_3)_2]$. W przypadku kadmu aniony są zlokalizowane w zewnętrznej sferze kompleksu $[\text{Cd}(\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2)_3][\text{C}(\text{NO}_2)_3]_2$. W obydwu związkach cząsteczki powiązane są silnymi, wielokrotnymi wiązaniami wodorowymi pomiędzy grupami aminowymi i nitrowymi w trójwymiarową sieć, co przyczynia się do zwiększenia stabilności tej struktury.

Energie aktywacji rozkładu tych związków wynoszą odpowiednio: ok. 239 i 265 kJ/mol, a maksima pików rozkładu są położone w temperaturach 165 i 242°C

(technika DSC, szybkość ogrzewania próbki 10°C/min.). Obydwa związki są niewrażliwe na bodźce mechaniczne i umiarkowanie wrażliwe na płomień [72].

Charakter wybuchowy mają także kompleksowe diazotany(V) bis(dietylenotriamina)-miedzi(II), niklu(II) i cynku(II) [73]. Nie wykazują jednak właściwości inicjujących, ponieważ zawierają zbyt mało tlenu, a anion azotanowy jest słabszym utleniaczem niż aniony chloranowe(VII) i trinitrometylowe [46].

PODSUMOWANIE

Związki kompleksowe metali przejściowych zawierające ligandy organiczne o dużej zawartości azotu i aniony kwasów tlenowych mają wiele istotnych zalet jako IMW. Ze względu na obniżoną wrażliwość na bodźce inicjujące są bezpieczniejsze w produkcji i użytkowaniu, natomiast pod względem zdolności inicjującej i pewności działania nie ustępują obecnie stosowanym IMW. Ponadto są znacznie mniej toksyczne, a to oznacza mniejsze zagrożenie dla zdrowia ludzi i czystości środowiska zarówno podczas ich syntezy jak i późniejszego wykorzystywania. Z pełną odpowiedzialnością można je uznać za produkty tzw. „zielonej” chemii, ponieważ zazwyczaj otrzymuje się je w środowisku wodnym i w niskich temperaturach.

Niektóre związki koordynacyjne o właściwościach wybuchowych mogą być z łatwością zainicjowane do detonacji lub spalania za pomocą promieniowania laserowego. Wykorzystuje się je w zaawansowanych technologicznie (najnowszej generacji) środkach inicjujących działających od promieniowania laserowego oraz do wytworzenia światłoczułych warstw pewnie detonujących po ich oświetleniu wiązką promieniowania generowanego przez niewielkie, przenośne lasery lub nawet diody laserowe.

PODZIĘKOWNIE

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008–2010 jako projekt rozwojowy nr O R00 0011 06.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] L.I. Bagal, *Chemistry and Technology of Primary Explosives* (in Russian), Moscow 1975.
- [2] T. Urbański, *Chemistry and Technology of Explosives*, vol. 4, pp. 462–505, Pergamon Press, Oxford 1984.
- [3] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, A.M. Sudarikov, *Development of Components of High Energetic Compositions*, Saint-Petersburg 2006.
- [4] D.M. Badgujar, M.B. Talawar, S.N. Asthana, P.P. Mahulikar, J. Hazard. Mater., 2008, **151**, 289.
- [5] M.B. Talawar, R. Sivbalan, T. Mukundan, H. Muthurajan, A.K. Sikder, B.R. Gandhe, A. Subhananda Rao, J. Hazard. Mater., 2009, **161**, 589.

- [6] D.E. Chavez, M.A. Hiskey D.L. Naud, *Propellants, Expols., Pyrotech.*, 2004, **29**, 209.
- [7] G. Drake, T. Hawkins, A. Brand, L. Hall, M. Mckay, A. Vij, I. Ismail, *Propellants, Expols., Pyrotech.*, 2003, **28**, 174.
- [8] V.A. Ostrovsky, M.S. Pevzner, M.S. Kofman, I.V.I.V. Tselinskii, *Targets Heterocycl. Syst.*, 1999, **3**, 467.
- [9] V.P. Sinditskii, V.V. Serushkin, *Def. Sci. J.* 1996, **46**, 371.
- [10] M.L. Lieberman, J.W. Fronabarger, *Status of the development of 2-(5-cyanotetrazolato)-penta-aminecobalt(III) perchlorate for DDT devices*, Proc. 7th Int. Pyrotechnic Seminar, Colorado, 1980, 322.
- [11] M.L. Lieberman, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, 1985, **24**, 436.
- [12] J.W. Fronabarger, J.W. Fleming, M.L. Lieberman, *Performance of chemical analogs of the explosive CP*, Proc. 11th Symposium on Explosives and Pyrotechnics, Philadelphia, 1981, 38–1.
- [13] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *Russ. J. Chem.*, 2001, **45**, 72.
- [14] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, A. Yu. Zhilin, *Hanneng Cailiao (Energetic Materials)* 2004, **12**, 15.
- [15] A.V. Smirnov, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *Russ. J. Appl. Chem.*, 2004, **77**, 794.
- [16] L.R. Bates, *The potential of tetrazoles in initiating explosive systems*, Proc. 13th Symposium on Explosives and Pyrotechnics, Head Island, 1986, 3–1.
- [17] J.W. Fronabarger, A. Schuman, R.D. Chapman, W. Fleming, W. B. Sanborn, *Chemistry and development of BNCP – a novel DDT explosive*, Proc. 31st AIAA-Joint Propulsion Conference, San Diego, 1995.
- [18] J.W. Fronabarger, W.B. Sanborn, T. Massis, *Recent activities in the development of the explosive BNCP*, Proc. 22nd Int. Pyrotechnic Seminar, Chandler, 1996, 645.
- [19] S.D. Lun, M.A. Feng, S.F. Long, L. Qiao-Liao, *Hanneng Cailiao (Energetic Materials)* 2000, **8**, 100.
- [20] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *Russ. J. Chem.*, 2001, **45**, 72.
- [21] V.F. Zhilin, V.L. Zbarskii, *Chem. Technol.*, 2001, **5**, 6.
- [22] P.E. Luebecke, P.M. Dickson, J.E. Field, *Proc. Royal Society*, 1995, **448**, 439.
- [23] A. Yu. Zhilin, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *Russ. J. Appl. Chem.*, 2001, **74**, 96.
- [24] A. Yu. Zhilin, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *Russ. J. Appl. Chem.*, 2003, **76**, 592.
- [25] M.B. Talawar, A.P. Agrawal, S.N. Asthana, *J. Hazard. Mater.*, 2005, **A120**, 25.
- [26] M.B. Talawar, J.S. Chhabra, A.P. Agrawal, S.N. Asthana, K.U.B. Rao, Haridwar Singh, *J. Hazard. Mater.*, 2004, **A113**, 27.
- [27] M.H.V. Huynh, M.A. Hiskey, T.J. Meyer, M. Wetzler, *PNAS*, 2006, **103**, 5409.
- [28] M.H.V. Huynh, M.D. Coburn, T.J. Meyer, M. Wetzler, *PNAS* 2006, **103**, 10322.
- [29] M.A. Hiskey, M.H.V. Huynh, *Primary Explosives*, Patent Application Publication US 2006/0030715 A1, Feb. 9, 2006.
- [30] M.H.V. Huynh, *Lead-free Primary Explosives*, Patent Application Publication US 2008/0091029 A1, Apr. 17, 2008.
- [31] M. Friedrich, J.C. Galvez-Ruiz, T.M. Klapotke, P. Meyer, B. Weber, J.J. Weigand, *Inorg. Chem.*, 2005, **44**, 8044.
- [32] A. Yu. Zhilin, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, Yu. A. Nikitina, A.S. Kozlov, I.V. Shugalei, *Russ. J. Appl. Chem.*, 2005, **78**, 188.
- [33] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, I.V. Bachurina, Yu. A. Gruzdev, V.P. Sinditskii, V.V. Serushkin, V. Yu. Egorshv, *Central Eur. J. Energetic Mater.* 2006, **3**, 41.
- [34] I.V. Bachurina, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, Yu. A. Gruzdev, *Russ. J. Appl. Chem.*, 2007, **80**, 1643.
- [35] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, I.A. Ugrumov, A. Yu. Zhilin, A. S. Kozlov, *Coordination complexes as inorganic primary explosives*, Proc. 6th Seminar New Trends in Research of Energetic Materials, Pardubice, Czech Republic, 2003, 146.

- [36] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *Method of preparation of (5-hydrazinotetrazole)mercury(II) perchlorate*, Russ. Patent RU 2225640 C2, 2004.
- [37] I.A. Ugrumov, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, A.S. Kolov, V. Yu. Dolmatov, I.V. Shugalei, A.N. Golovchak, *Study of sub-micron structured photosensitive primary explosives for laser initiation systems*, Proc. 7th Seminar New Trends in Research of Energetic Materials, Pardubice, Czech Republic, 2004, 307.
- [38] D.B. Lempert, G.N. Nechiporienko, S.I. Soglasova, Chem. Physics, 2004, **23**, 75.
- [39] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, Russ. J. Appl. Chem. 2000, **73**, 1305.
- [40] A.V. Chernai, V.V. Sobolev, V.A. Chernai, M.A. Ilushin, A. Dlugashek, Comb., Expl., Shock Waves 2003, **39**, 335.
- [41] J.G. Haasnoot, Coord. Chem. Rev., 2000, **200-202**, 131.
- [42] G.V. Romanenko, Z.A. Savelieva, N.V. Podberezeskaya, S.V. Larionov, J. Struct. Chem., 1997, **38**, 171.
- [43] L.G. Lavrenova, S.V. Larionov, S.A. Grankina, Izv. Sib. Otd. Akad. Nauk SSSR Ser. Khim., 1979, **5**, 88.
- [44] S. Cudziło, M. Nita, J. Hazard. Mater., 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.008.
- [45] V.P. Sinditskii, V.I. Sokol, A.E. Fogelzang, M.D. Lutov, V.V. Serushkin, M.A. Poray-Koshitz, B.C. Svetlov, Russ. J. Inorg. Chem., 1987, **32**, 1950.
- [46] A.E. Fogelzang, V.P. Sidnitskii, V. Y. Egorshhev, V. V. Serushkin, *Effect of structure of energetic materials on burning rate*, Mat. Res. Soc. Symp. Proc., 1996, **418**, 151.
- [47] M. Nita, S. Cudziło, M. Celiński, *Nowy inicjujący materiał wybuchowy – chloran(VII) m-4-amino-1,2,4-triazol-m-dichloromiedź(II)*, Biul. WAT, 2010, **59**, (w druku).
- [48] I.A. Ugrumov, M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, A.S. Kozlov, Russ. J. Appl. Chem., 2003, **76**, 439.
- [49] S. Cudziło, R. Szmigielski, Biul. WAT, 2000, **49**, 5.
- [50] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, *The influence of the structure of the salts of azoles upon the process of their thermal and laser initiation*, Proc. 8th Seminar New Trends in Research of Energetic Materials, Pardubice, Czech Republic, 2005, 213.
- [51] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, N.A. Petrova, Hanneng Cailiao (Energetic Materials) 1995, **3**, 22.
- [52] M.A. Ilushin, I.V. Tselinskii, N.A. Petrova, A.V. Chernai, Hanneng Cailiao (Energetic Materials), 1996, **4**, 139.
- [53] J.J. Liu, X. He, M. Shao, M.-X. Li, J. Mol. Struct., 2009, **919**, 189.
- [54] Z. Shunguan, W. Youchen, Z. Wenyi, M. Jingyan, Propellants, Explos., Pyrotech., 1997, **22**, 317.
- [55] J.S. Chhabra, M.B. Talawar, P.S. Makashir, S.N. Asthana, Haridwar Singh, J. Hazard. Mater., 2003, **A99**, 225.
- [56] A. Wojewódka, J. Belzowski, Z. Wilk, J. Staś, J. Hazard. Mater., 2009, **171**, 1175.
- [57] Z. Liu, T. Zhang, J. Zhang, S. Wang, J. Hazard. Mater., 2008, **154**, 832.
- [58] Z. Shunguan, M. Peng, C. Shijin, L. Yan, Z. Li, *Synthesis methods oh nickel hydrazine azide (NHA) and its characterization*, Proc. 2009 Int. Autumn Sem. Propellants, Explos., Pyrotech., Kunming, China, 2009, 35.
- [59] K.O. Groves, *Nitroform-hydrazine coordination compounds*, US Patent 3,140,317, 1964.
- [60] R.L. Dutta, A.K. Sarkar, J. Inorg. Nucl. Chem., 1981, **43**, 2557.
- [61] M.G. Ivanov, I.I. Kalinichenko, M. Savitskii, Koord. Khim, 1985, **11**, 45.
- [62] V.P. Sinditskii, A.E. Fogelzang, M.D. Dutov, V.I. Sokol, V.V. Serushkin, B.S. Svetlov, M.A. Poray-Koshitz, Russ. J. Inorg. Chem., 1987, **32**, 1944.
- [63] T.S. Konkova, Yu. N. Matushin, V. P. Sinditskii, Chem. Phys. Rep., 1995, **14**, 865.
- [64] M. Akiyoshi, H. Nakamura, Y. Hara, J. Jpn. Explos. Soc., 1996, **57**, 238.
- [65] V.V. Andreev, A.G. Hekludov, S.A. Pozdiakov, V.P. Sinditskii, A.E. Fogelzang, V.V. Serushkin, V. Yu. Egorshhev, V.I. Kolesov, *Primer detonator (variants)*, Patent RU 2 104 466 C1, 1998.

- [66] M.B. Talawar, A.P. Agrawal, J.S. Chhabra, S.N. Asthana, *J. Hazard. Mater.*, 2003, **A113**, 57.
- [67] L. Chunhua, Z. Tonglai, C. Ruijiao, *Synthesis, molecular structures and explosive properties of $[M(CHZ)_3](ClO_4)_2$ ($M = Cd, Ni, Mn$)*, Proc. 1999 Int. Autumn Sem. Propellants, Explos., Pyrotech., Chengdu, China, 1999, 33.
- [68] J. Zhang, T. Zhang, L. Yang, J. Zhang, Y. Cui, X. Hu, Z. Liu, *Propellants, Explos., Pyrotech.*, 2009, **34**, 24.
- [69] Z. Tonglai, L. Chunhua, Z. Jianguo, Y. Kaibei, *Propellants, Explos., Pyrotech.*, 2003, **28**, 271.
- [70] S. Cudziło, W. Trzeciński, *J. Energ. Mater.*, 2001, **19**, 1.
- [71] K.Y. Lee, L.B. Chapman, M.D. Coburn, *J. Energ. Mater.*, 1987, **5**, 27.
- [72] L. Yang, J. Zhang, T. Zhang, J. Zhang, Y. Cui, *J. Hazard. Mater.*, 2008, doi:10.1016/j.jhazmat.2008.08.096.
- [73] G. Singh, D.K. Pandey, *J. Therm. Anal. Cal.*, 2004, **76**, 507.

Praca wpłynęła do Redakcji 10 stycznia 2010

**WŁAŚCIWOŚCI I ZASTOSOWANIA
WODY POD- I NADKRYTYCZNEJ**
PROPERTIES AND APPLICATIONS OF
SUB- AND SUPERCRITICAL WATER

Dorota Światła-Wójcik

*Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej, Politechnika Łódzka,
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź
e-mail: swiatlad@p.lodz.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Właściwości fizykochemiczne wody w obszarach pod- i nadkrytycznym
2. Rola wiązań wodorowych
3. Przemysłowe zastosowania wody pod- i nadkrytycznej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr hab. inż. Dorota Światła-Wójcik ukończyła studia fizyczne na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Łódzkiej. Karierę naukową związała z Wydziałem Chemicznym PŁ. Obecnie pracuje w Międzyresortowym Instytucie Techniki Radiacyjnej. W 1989 roku uzyskała stopień doktora nauk chemicznych w zakresie chemii fizycznej. W roku 1993 odbyła staż naukowy na Uniwersytecie w Leeds w Wielkiej Brytanii. Stopień doktora habilitowanego uzyskała na Wydziale Chemicznym PŁ w roku 2002. Specjalizuje się w zastosowaniu metod obliczeniowych i symulacji komputerowej

do modelowania roztworów wodnych oraz radiolizy wody w szerokim zakresie ciśnień i temperatur. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych, od 2008 roku pełniąc funkcję sekretarza Oddziału Łódzkiego PTBR. W roku 2006 została zaproszona przez Departament Energii USA do udziału w konferencji poświęconej wyznaczeniu kierunków badań podstawowych na potrzeby rozwoju zaawansowanych technik jądrowych. Posiada w swoim dorobku 40 oryginalnych publikacji naukowych oraz 50 referatów i doniesień konferencyjnych. Jest autorką dwóch podręczników akademickich.

ABSTRACT

In the last decades, sub- and supercritical water has received continuously increasing attention as a reaction medium. As safe, non-toxic, readily accessible it is used in chemical synthesis, waste destruction and biomass processing [1–4]. A broad area of technological and industrial applications of sub- and supercritical water arises from its physical and transport properties falling between those of a gas and a liquid. The solvent properties of water can rapidly change with increasing pressure and temperature [2, 5, 10]. Above the critical point ($T_c = 647.1$ K, $P_c = 22.06$ MPa) water becomes highly compressible and diffusive. The static dielectric constant approaches values characteristic for low-polar solvent (Fig. 5). Contrary to liquid water at ambient conditions, supercritical water is a poor solvent for ionic species but is well miscible with hydrocarbons and gases (Fig. 6). The ionic product of supercritical water can be a few orders of magnitude higher than in ambient water (Fig. 4) with consequent effect on the kinetics and mechanisms of chemical reactions. By adjustment of thermodynamic conditions one can tune density, viscosity, polarity or pH of water to the desired solvation properties without any change in the chemical composition. An alternation in the character of water solvent near and above the critical point is the consequence of the structural transformations in the hydrogen-bonded network. As evidenced by many experimental and simulation studies the average number of hydrogen bonds per molecule and the lifetime of H-bonds decrease with increasing temperature and decreasing density [2, 10, 19]. With respect to experiment computer simulation plays an equal, and sometimes pivotal role, in quantitative characterization and understanding of water under extreme conditions. Precise definition of an H-bond employed in computer simulation allows one to examine size and topology of clusters of hydrogen-bonded molecules for various thermodynamic states [17, 19]. Such knowledge is invaluable to link features of the hydrogen bonding with the macroscopic properties of water [10, 19].

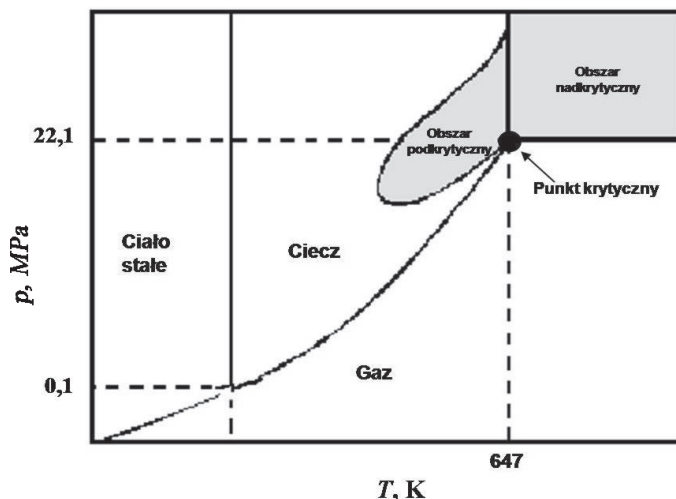
This article provides an overview of three aspects concerning water from ambient to supercritical conditions. In Chapter 1 the physical and transport properties are reviewed. Features of hydrogen bonding and a relationship between the molecular engagement in hydrogen-bonded clusters and macroscopic properties of water are discussed in Chapter 2. Chapter 3 focuses on technological and industrial applications of sub- and supercritical water. The summary concludes on main research needs.

Keywords: subcritical water, supercritical water, hydrogen bonding, molecular clusters, SCWO

Słowa kluczowe: woda podkrytyczna, woda nadkrytyczna, wiązania wodorowe, klastry molekularne, SCWO

WPROWADZENIE

W ostatnim dziesięcioleciu obserwuje się ciągły wzrost zainteresowania fizykochemią roztworów wodnych w wysokich temperaturach i pod wysokimi ciśnieniami. Wynika to z szerokiego obszaru zastosowań wody pod- i nadkrytycznej w energetyce i geochemii, w nowoczesnych technologiach unieszkodliwiania lub usuwania toksycznych zanieczyszczeń oraz z wykorzystania wody nadkrytycznej w syntezie chemicznej [1–4]. Obszar technologicznego zastosowania wody pod- i nadkrytycznej schematycznie zilustrowano na diagramie fazowym przedstawionym na Rysunku 1.

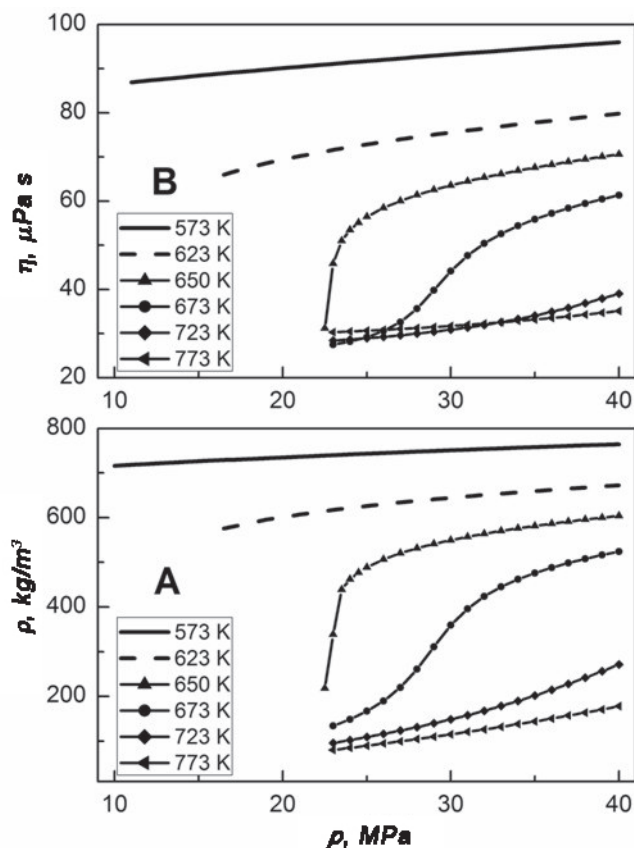


Rysunek 1. Schematyczny diagram fazowy dla wody z zaznaczonym obszarem zastosowań technologicznych
Figure 1. Schematic phase diagram for water with the depicted area of technological applications

Główną zaletą wody pod- i nadkrytycznej jako rozpuszczalnika jest możliwość „dostrajania” środowiska reakcji do potrzeb. Odpowiedni dobór warunków ciśnienia i temperatury, pozwala uzyskać rozpuszczalnik o określonej polarności, lepkości, a ponadto, o pożądanym kwasowo-zasadowym i roztwórczym. W pracy omówiono wpływ temperatury i ciśnienia na właściwości strukturalne i dynamiczne wody w kontekście zmian zachodzących w sieci wiązań wodorowych. Omawiane zależności są ilustrowane wynikami symulacji komputerowych wody w warunkach pokojowych, pod- i nadkrytycznych. Korzystne cechy aplikacyjne wody w wysokich temperaturach i pod wysokimi ciśnieniami zostały uwypuklone w rozdziale poświęconym przeglądowi zastosowań w technice, przemyśle i ochronie środowiska. Rozdział podsumowujący przedstawia krótką charakterystykę kierunków dalszych badań celem efektywnego wykorzystania wody około-krytycznej i racjonalnego planowania nowych technologii.

1. WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE WODY W OBSZARACH POD- I NADKRYTYCZNYM

W obszarze wysokich ciśnień i temperatur fizyczne i transportowe właściwości wody ulegają zasadniczym zmianom [5, 6]. Szczególnie gwałtowne przeobrażenia można zaobserwować dla temperatur i ciśnień zbliżonych do wartości krytycznych, $T_{kr} = 647,1$ K, $p_{kr} = 22,06$ MPa. W punkcie krytycznym zanika granica pomiędzy fazą ciekłą i gazową, zaś gęstości obu faz wynoszą 322 kg·m⁻³. Źródłem aktualnych danych fizykochemicznych na temat wody w różnych stanach termodynamicznych jest strona internetowa IAPWS (ang. *International Association for the Properties of Water and Steam*) (<http://www.iapws.org/>). Opracowane na podstawie danych IAPWS przykładowe zależności ilustrujące wpływ parametrów stanu na wybrane właściwości wody przedstawiono na Rysunkach 2–5.



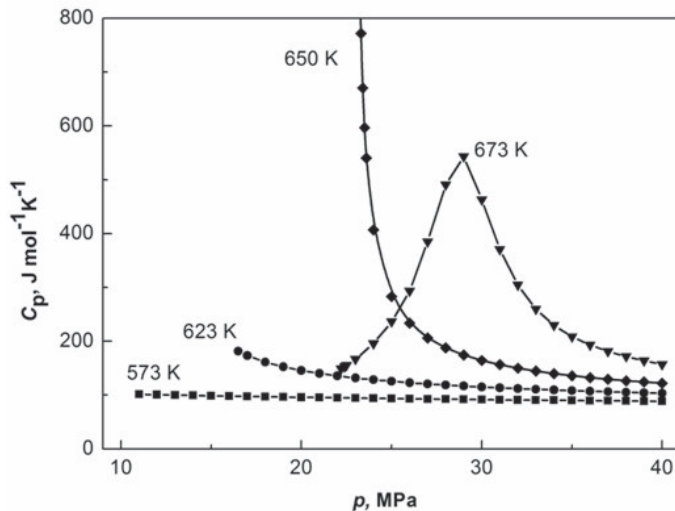
Rysunek 2. Ciśnieniowe zależności (A) gęstości wody – ρ oraz (B) współczynnika lepkości wody – η dla wybranych izoterm w obszarach podkrytycznym (linie) i nadkrytycznym (linie + symbole)

Figure 2. Density (A) and dynamical viscosity (B) of water as functions of pressure for selected subcritical (lines) and supercritical temperatures (lines + symbols)

Charakterystyczną cechą wody w pobliżu punktu krytycznego są duże fluktuacje gęstości. Zasięg tych fluktuacji mieszczący się w granicach $0,5 \div 1 \mu\text{m}$ jest porównywalny z długością fali światła widzialnego, co powoduje silną opalescencję. W otoczeniu punktu krytycznego współczynnik ściśliwości izotermicznej wody jest od dwóch do czterech rzędów wielkości większy w porównaniu z warunkami pokojowymi [5, 6]. Duży wpływ ciśnienia na gęstość wody nadkrytycznej jest widoczny na Rysunku 2A dla izoterm o temperaturach 650 K oraz 673 K. Zależności te wyraźnie kontrastują z niewielką zmianą gęstości wody w obszarze podkrytycznym.

Zmiana gęstości jest wyraźnie skorelowana ze zmianami większości właściwości wody. Przedstawione na Rysunku 2B zależności współczynnika lepkości dynamicznej od warunków termodynamicznych (p oraz T) mają charakter bardzo zbliżony do zmian gęstości widocznych w części A. Obniżaniu gęstości towarzyszy zdecydowany spadek lepkości. W otoczeniu punktu krytycznego lepkość wody jest o rząd wielkości mniejsza w porównaniu z warunkami pokojowymi. Konsekwencją spadku lepkości jest wzrost dyfuzyjności, co zapewnia szybszy transport masy.

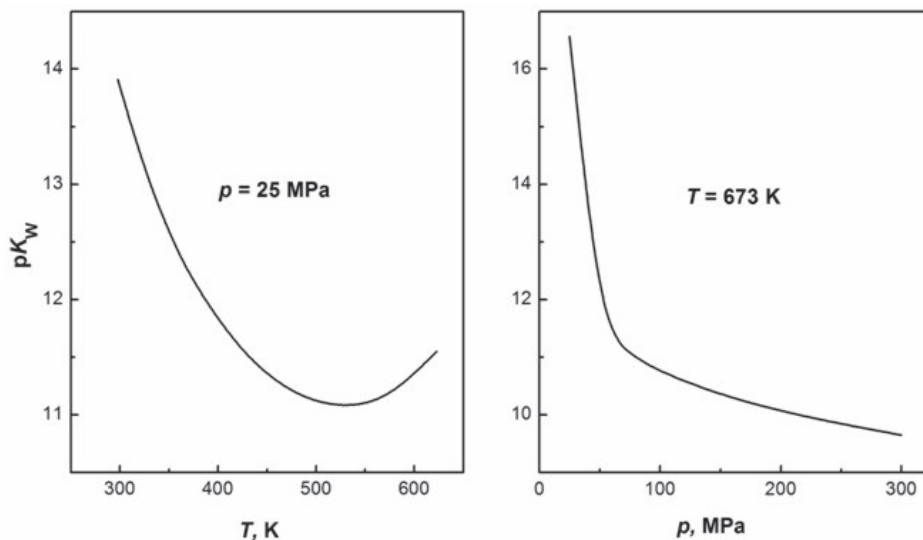
Woda pod- i nadkrytyczna ma bardzo dużą pojemność cieplną – C_p . Maksyma pojemności cieplnej widoczne na Rysunku 3 wielokrotnie przewyższają wartość $75,3 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$, charakterystyczną dla warunków pokojowych. W otoczeniu punktu krytycznego, molowa pojemność cieplna C_p dąży do nieskończoności [5, 6].



Rysunek 3. Wpływ ciśnienia i temperatury na ciepło molowe – C_p dla wody podkrytycznej (573 K, 623 K) i nadkrytycznej (650 K, 673 K)

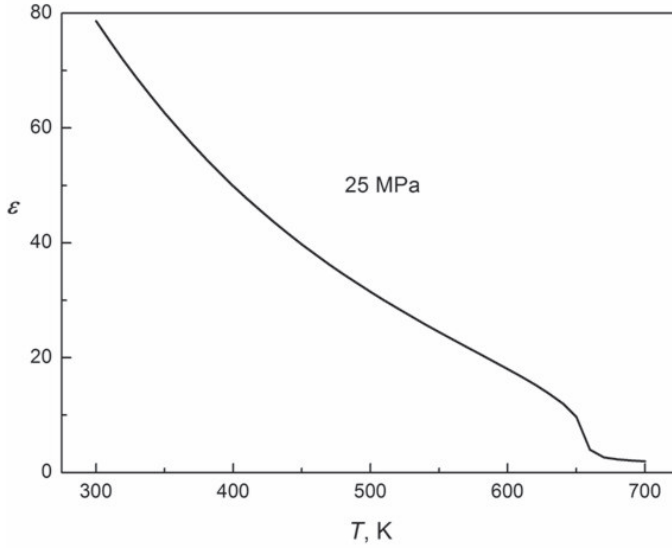
Figure 3. Specific heat capacity C_p as function of temperature and pressure for subcritical water (573 K, 623 K) and supercritical water (650 K, 673 K)

Z uwagi na zastosowania praktyczne, bardzo korzystną właściwością jest zależność kwasowości [7] i polarności [8] wody od warunków termodynamicznych. Cecha ta umożliwia dopasowanie właściwości rozpuszczalnika do wymogów procesów technologicznych wyłącznie poprzez zmianę ciśnienia i temperatury. W warunkach pokojowych iloczyn jonowy wody K_w ma wartość 10^{-14} , ale dla wody w wysokiej temperaturze i pod wysokim ciśnieniem może przyjmować wartości o kilka rzędów wielkości większe [7]. Zwiększenie iloczynu jonowego np. do wartości 10^{-8} , oznacza wzrost stężenia jonów H^+ i OH^- do 0,1 mmol/kg. Zatem przy odpowiednio dobranych warunkach ciśnienia i temperatury woda może pełnić rolę katalizatora kwasowego lub zasadowego. Wpływ temperatury i ciśnienia na $pK_w = -\log_{10} K_w$, został zilustrowany na Rysunku 4 dla izobary (25 MPa) oraz dla izotermy (673 K). Duży wzrost iloczynu jonowego obserwuje się w warunkach wysokiej temperatury przy zachowaniu dużej gęstości, regulowanej wysokim ciśnieniem. Widoczny na Rysunku 2 spadek gęstości wody dla $p = 25$ MPa i $T \geq 573$ K, bądź dla $T = 673$ K i $p < 50$ MPa, skutkuje wyraźnym zmniejszeniem wartości iloczynu jonowego.

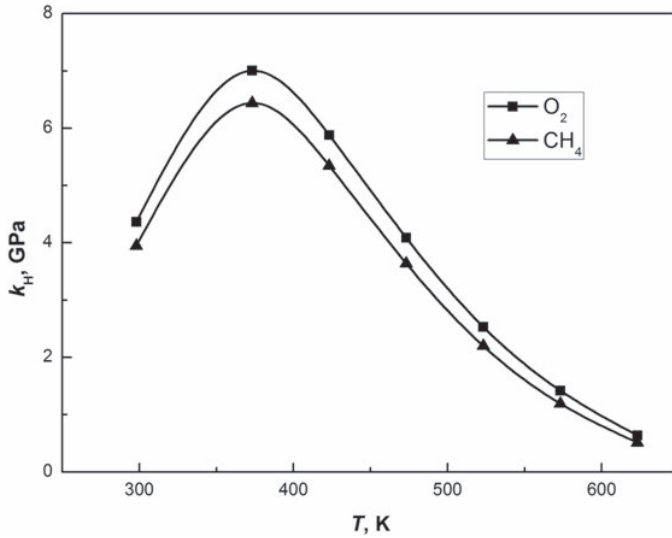


Rysunek 4. Zależność pK_w od temperatury i ciśnienia
Figure 4. The pK_w as a function of temperature and pressure

Woda w temperaturze pokojowej i pod ciśnieniem 1 atm jest polarną cieczą, w której słabo rozpuszczają się gazy, natomiast bardzo dobrze związki jonowe. Jak ilustruje Rysunek 5, w wyniku zmiany parametrów stanu można obniżyć statyczną stałą dielektryczną wody do wartości charakterystycznych dla rozpuszczalników niskopolarnych. Nisko-polarna woda może więc z powodzeniem zastępować toksyczne rozpuszczalniki organiczne, jak na przykład aceton ($\epsilon = 20,7$), czy benzen ($\epsilon = 2,3$).



Rysunek 5. Zależność statycznej stałej dielektrycznej wody od temperatury dla izobary $p = 25$ MPa
 Figure 5. Static dielectric constant of water as a function of temperature for the isobar $p = 25$ MPa



Rysunek 6. Stała Henry'ego dla O_2 i CH_4 w funkcji temperatury wody obliczona na podstawie rozwinięcia wielomianowego [9]
 Figure 6. Henry's constant for O_2 and CH_4 in water calculated using a general relationship given in ref. [9]

Zmniejszeniu polarności towarzyszy zmiana właściwości roztwórczych. W warunkach wysokich ciśnień i temperatur następuje znaczne obniżenie rozpuszczalności typowych soli, jak chlorki, siarczany i azotany, zaś wzrasta rozpuszczal-

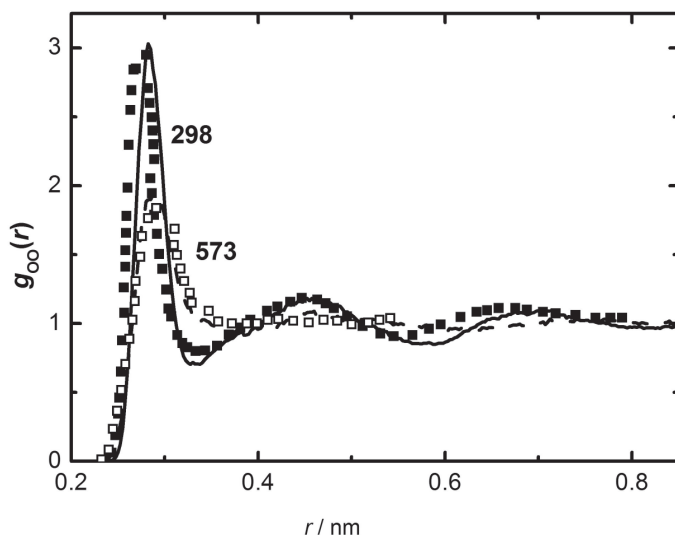
ność związków organicznych i gazów [9, 10]. Przykładowo, przy wzroście temperatury od 200 do 250°C rozpuszczalność kwasu tereftalowego w wodzie pod ciśnieniem 28 MPa zwiększa się od 0,5 do 13 g kwasu w 100 g wody [1]. Z kolei widoczny na Rysunku 6 spadek stałej Henry’ego dla tlenu i metanu wskazuje na rosnącą rozpuszczalność gazów. W warunkach wysokich ciśnień i temperatur woda zaczyna mieszać się z gazami, tworząc roztwory o dowolnym składzie. W szczególności dobra rozpuszczalność tlenu jest wykorzystywana w nowoczesnych technologiach usuwania szkodliwych zanieczyszczeń, omawianych w Rozdziale 3.

Kluczem do zrozumienia właściwości wody w różnych stanach termodynamicznych jest bez wątpienia wyjaśnienie roli wiązań wodorowych. Oddziaływania wodorowe decydują również o zachowaniu wody: jako reagenta w reakcjach rodnikowych i hydrolizie, jako katalizatora kwasowo-zasadowego, jako donora atomowego wodoru i wielu innych [10].

2. ROLA WIĄZAŃ WODOROWYCH

Wiązanie wodorowe w wodzie powstaje pomiędzy atomem wodoru jednej cząsteczki, zwanej dalej H-donorem a silnie elektroujemnym atomem tlenu drugiej cząsteczki, czyli H-akceptorem. Pod względem siły oddziaływania wiązanie wodorowe zajmuje miejsce pośrednie pomiędzy oddziaływaniem van der Waalsa, a typowym wiązaniem chemicznym. Obecność dwóch atomów wodoru i wolnej pary elektronowej na atomie tlenu predysponuje cząsteczkę wody do utworzenia czterech wiązań wodorowych. W lodzie każda cząsteczka wody jest tetraedrycznie otoczona czterema innymi cząsteczkami tworząc z nimi liniowe wiązania wodorowe [11]. Po stopieniu tylko część wiązań wodorowych ulega zerwaniu. Aktualnie dobrze ugruntowany jest pogląd, że zmiany właściwości wody są wynikiem przeobrażeń w strukturze sieci wiązań wodorowych [5, 10, 11]. Woda w przeciwieństwie do innych cieczy ma największą gęstość w temperaturze o około 4°C wyższej od temperatury topnienia. Hipotezą tłumaczącą to zjawisko – jak również anomalne zależności ciepła właściwego, współczynnika rozszerzalności termicznej, czy współczynnika ściśliwości obserwowane w doświadczeniach z przechłodzoną wodą - jest współlistnienie cząsteczek wody w dwóch fazach o różnej gęstości, w fazie LDL (ang. *low-density liquid*) z charakterystycznym dla lodu tetraedrycznym uporządkowaniem i w fazie HDL (ang. *high-density liquid*) [12]. Ostatnie doświadczenia z wykorzystaniem techniki SAXS (ang. *small-angle X-ray scattering*) wskazują na współlistnienie obszarów o różnej gęstości nawet w warunkach pokojowych [13]. W temperaturze pokojowej woda jest cieczą silnie asocjującą. Jej cząsteczki połączone wiązaniami wodorowymi tworzą ciągłą przestrzenną sieć, porównywaną z gęstym żelazem. Występowanie pozostałości tetraedrycznego uporządkowania cząsteczek potwierdzają wyniki licznych eksperymentów z rozpraszaniem neutronów i promieni X [14–16]. Pomiary dyfrakcyjne dostarczają informacji o tzw. czynniku struktury, który poprzez transformację Fouriera jest bezpośrednio związany z radialną funkcją rozkładu atomów

w przestrzeni. Należy podkreślić dużą rolę jaką w badaniach właściwości wody odgrywają symulacje komputerowe. Samo rozwikłanie czynnika struktury wymaga zastosowania symulacji MD (ang. *Molecular Dynamics*). Na Rysunku 7 zostały przedstawione radialne funkcje rozkładu tlen–tlen dla wody w warunkach pokojowych oraz dla wody podkrytycznej ($T = 573 \text{ K}$, $p = 10 \text{ MPa}$).

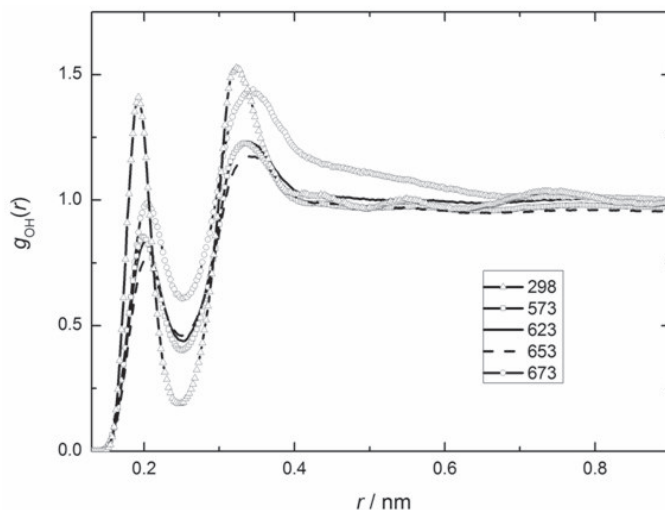


Rysunek 7. Radialne funkcje rozkładu tlen–tlen dla wody w warunkach pokojowych (symbole zamknięte – eksperyment [15], symulacja [17] – linia ciągła) i wody podkrytycznej (symbole otwarte – eksperyment [14], symulacja [17] – linia ciągła)

Figure 7. An oxygen–oxygen radial distribution function for ambient (solid symbols – experiment [15], solid line – simulation [17]) and subcritical water (open symbols – experiment [14], dashed line – simulation [17])

Widoczne dla temperatury 298 K oscylacje funkcji $g_{OO}(r)$ świadczą o pozostałościach charakterystycznego dla heksagonalnej struktury lodu, tetraedycznego uporządkowania cząsteczek. Uporządkowanie to zanika w miarę przesuwania się w kierunku punktu krytycznego. Radialna funkcja rozkładu dla wody podkrytycznej posiada dobrze wykształcone maksimum, natomiast nie wykazuje oscylacji dla $r > 0,4 \text{ nm}$. Prowadzenie eksperymentu w warunkach wysokich ciśnień i temperatur jest trudne, a wyniki są najczęściej obarczone dużym błędem. W takich przypadkach symulacja komputerowa pełni rolę komplementarnego narzędzia badawczego. Wyniki obliczeń komputerowych zależą od modelu opisującego oddziaływania cząsteczek. W przypadku symulacji cieczy silnie asocjujących w wysokich temperaturach bardziej uzasadnione jest stosowanie giętkiego modelu cząsteczki [17, 18]. Model giętki dopuszcza zmianę geometrii cząsteczki, a tym samym lepiej odwzorowuje strukturę i dynamikę sieci wiązań wodorowych, gdy energia termiczna staje się porównywalna z energią drgań wewnątrzcząsteczkowych. Na Rysunku 7 zamieszczono radialne funkcje rozkładu otrzymane na podstawie symulacji komputerowej

z użyciem giętkiego modelu cząsteczki wody [17]. Brak tetraedrycznego uporządkowania dla temperatury 573 K nie oznacza zaniku wiązań wodorowych. Porównanie korelacji przestrzennej pomiędzy tlenem danej cząsteczki i wodorami pozostałych cząsteczek przedstawione na Rysunku 8 dla wybranych stanów termodynamicznych z obszaru podkrytycznego (573 K, 623 K) i nadkrytycznego (653 K, 673 K) pokazuje, że parametry stanu tylko nieznacznie wpływają na położenie pierwszego maksimum. Sąsiedztwo wodorów, w odległości mniejszej niż suma promieni Van der Waalsa atomów tlenu i wodoru (0,27 nm), wskazuje, na istnienie wiązań wodorowych.

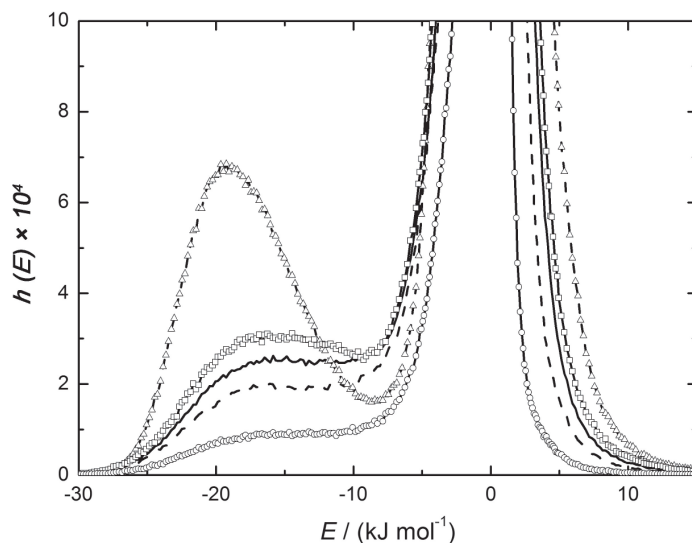


Rysunek 8. Obliczone na podstawie symulacji [19] radialne funkcje rozkładu tlen-wodór $g_{OH}(r)$ dla wody w pięciu stanach termodynamicznych: ST1 (298 K; 0,1 MPa), ST2 (573 K; 10 MPa), ST3 (623 K; 22,5 MPa), ST4 (653 K; 25 MPa), ST5 (673 K; 25 MPa)

Figure 8. The oxygen-hydrogen, g_{OH} , radial distribution functions obtained from the simulations of water in selected thermodynamics states [19]: ST1 (298 K; 0.1 MPa), ST2 (573 K; 10 MPa), ST3 (623 K; 22.5 MPa), ST4 (653 K; 25 MPa), ST5 (673 K; 25 MPa)

Występowanie wiązań wodorowych potwierdzają przedstawione na Rysunku 9 rozkłady energii oddziaływań międzycząsteczkowych.

Dla wody w warunkach pokojowych rozkład ten jest bimodalny z wyraźnym maksimum przy -20 kJ/mol. Przesuwając się w kierunku punktu krytycznego wysokość maksimum stopniowo maleje. W warunkach nadkrytycznych (stany ST4 i ST5) jest zdecydowanie mniej silnych oddziaływań przyciągających, ale nie zanikają one całkowicie. Świadczy o tym wyraźny ogon rozkładu $h(E)$. Nie wszystkie silne oddziaływania przyciągające można jednak utożsamiać z wiązaniami wodorowymi. Jak pokazuje analiza wzajemnej orientacji cząsteczek w wodzie około-krytycznej znaczący odsetek par cząsteczek wykazuje współliniowe i równoległe ustawienie wektora momentu dipolowego [17].

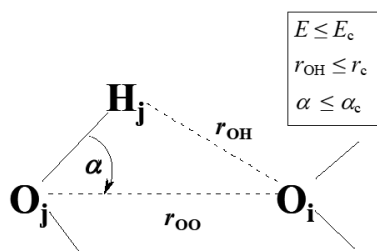


Rysunek 9. Statystyczne rozkłady energii oddziaływań międzycząsteczkowych w wodzie obliczone dla stanów termodynamicznych wyszczególnionych w podpisie do Rysunku 8: ST1 ($-\triangle-$), ST2 ($-\square-$), ST3 ($-$), ST4 ($- - -$), ST5 ($-\circ-$)

Figure 9. Normalized statistical distributions of pair interaction energy in water calculated for the thermodynamic states specified in the caption to Figure 8: ST1 ($-\triangle-$), ST2 ($-\square-$), ST3 ($-$), ST4 ($- - -$), ST5 ($-\circ-$)

Wartości temperatury i gęstości, wyznaczające granicę istnienia wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami wody nie są dokładnie określone [2, 10]. Przykładowo, badania spektroskopowe wskazują na charakterystyczne dla wiązania wodorowego położenia pasm absorpcyjnych około 100 K powyżej temperatury krytycznej [20], zaś eksperymenty z rozpraszaniem neutronów wykazały tworzenie wiązań wodorowych w wodzie nadkrytycznej nawet przy tak małej gęstości jak $200 \text{ kg} \times \text{m}^{-3}$ [21, 22].

Bardziej szczegółowych informacji dostarcza komputerowa analiza topologii sieci wiązań wodorowych. Badania dla wody w wysokich temperaturach wymagają zastosowania złożonego kryterium, uwzględniającego zarówno energię oddziaływania cząsteczek, jak i ich wzajemną odległość oraz orientację (Rys. 10).

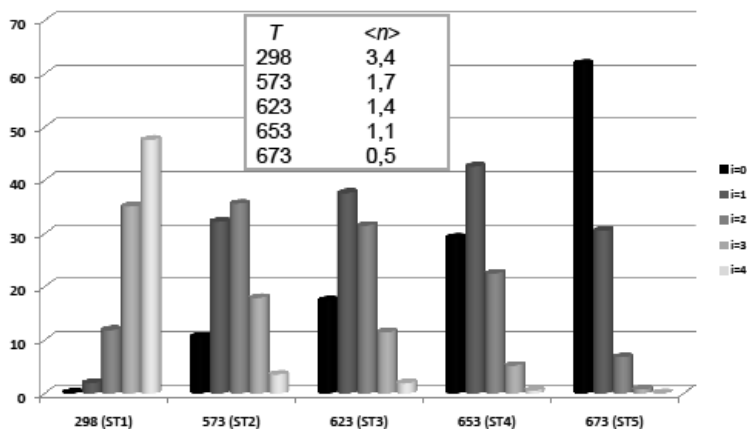


Rysunek 10. Ilustracja rozszerzonego kryterium energetycznego
 Figure 10. Extended energetic criterion for hydrogen bonding

Jak wykazano w pracy [17], kryterium geometryczne określające maksymalną długość wiązania wodorowego r_{OH} nie wyklucza par cząsteczek, których oddziaływania są odpychające. Definicja geometryczna dodatkowo uwzględniająca dopuszczalne odchylenie wiązania wodorowego od liniowości α zasadniczo eliminuje pary o oddziaływaniach odpychających, ale nie wyklucza par, których przyciąganie jest bardzo słabe. Z drugiej strony kryterium energetyczne narzucające warunek minimalnej energii oddziaływania przyciągającego E , nie eliminuje par cząsteczek o niewłaściwej orientacji H-donora względem H-akceptora. Liczba takich par jest tym większa im mniejsza jest gęstość układu [17]. Przyjmując progową energię oddziaływania $E_c = -8$ kJ/mol, maksymalną długość wiązania $r_c = 0,25$ nm oraz dopuszczalne odchylenie od liniowości $\alpha_c = 30^\circ$ wykazano, że dla wody w warunkach okołokrytycznych zarówno kryterium geometryczne jak i energetyczne, przeszacowują liczbę wiązań wodorowych oraz istotnie zawyżają rozmiary skupisk cząsteczek (połączonych w sposób ciągły wiązaniami wodorowymi) [17]. Zastosowanie rozszerzonego kryterium energetycznego prowadzi do rozkładów statystycznych liczby wiązań wodorowych oraz rozmiaru klastrów molekularnych przedstawionych odpowiednio na Rysunkach 11 i 12.

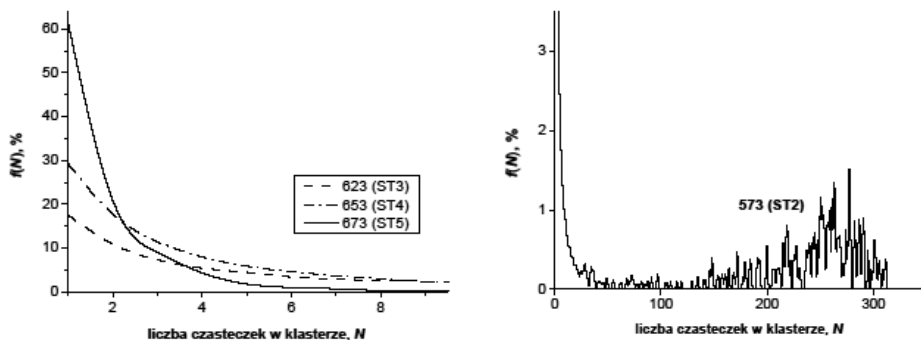
Cząsteczki wody w warunkach pokojowych (ST1) tworzą najczęściej cztery lub trzy wiązania wodorowe, a udział cząsteczek niezwiązanych jest znikomy. Ze wzrostem temperatury i obniżeniem gęstości wody liczba wiązań wodorowych wyraźnie maleje. W warunkach nadkrytycznych wzrasta ilość takich cząsteczek, które nie tworzą wiązań wodorowych ($i = 0$). W temperaturze 673 K i pod ciśnieniem 25 MPa (ST5), gdy gęstość wody wynosi $166 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ udział cząsteczek niezwiązanych wodorowo jest dominujący. Ciekawym wynikiem jest, że pomimo bardzo niskiej gęstości przeszło 30% cząsteczek tworzy jedno lub dwa wiązania wodorowe. Występowanie wiązań wodorowych przy tak niskich gęstościach potwierdzają eksperymenty z rozpraszaniem neutronów [21], promieni X [23] oraz pomiary NMR [22]. Skutkiem oddziaływań wodorowych jest grupowanie się cząsteczek w skończonych obszarach przestrzennych, co tłumaczy duże fluktuacje gęstości charakterystyczne dla stanu nadkrytycznego. Agregację cząsteczek w obszarze nadkrytycznym dobrze ilustruje wzrost wysokości maksimum funkcji rozkładu g_{OH} dla wody w stanie ST5

(Rys. 8). Współistnienie klastrów molekularnych i obszarów pozbawionych cząsteczek wyjaśnia dobrą mieszalność wody nadkrytycznej z gazami.



Rysunek 11. Statystyczne rozkłady liczby wiązań wodorowych ($i = 0, 1, 2, 3, 4$) tworzonych przez cząsteczki wody obliczone dla stanów termodynamicznych wyszczególnionych w podpisie do Rysunku 8. Średnie liczby wiązań wodorowych podane są w tabeli

Figure 11. Percentage contribution of water molecules forming $i = 0, 1, 2, 3, 4$ hydrogen bonds calculated for the thermodynamic states specified in the caption to Figure 8. The average numbers of H-bonds are shown in the Inset



Rysunek 12. Obliczone na podstawie symulacji [19] statystyczne rozkłady liczebności klastrów molekularnych w wodzie pod- i nadkrytycznej

Figure 12. Statistical distribution for engagement of water molecules in H-bonded clusters calculated from MD simulations of water under sub- and subcritical conditions [19]

Badania spektroskopowe, dyfrakcyjne oraz symulacje komputerowe zmierzają do ilościowego powiązania transformacji zachodzących w sieci wiązań wodorowych ze zmianą właściwości makroskopowych. W warunkach pokojowych cząsteczki wody tworzą ciągłą sieć wiązań wodorowych [10, 19, 20]. W obszarach pod- i nadkrytycznym ciągłą sieć zastępują klastry molekularne, których rozmiar bardzo silnie zależy od gęstości i temperatury, co ilustruje Rysunek 12. Ze wzrostem temperatury i obniżen-

niem gęstości zaczynają dominować skupiska zawierające od kilku do kilkudziesięciu cząsteczek. Towarzyszy temu spadek lepkości i polarności wody. W stanie nadkrytycznym ST5 ($T = 673 \text{ K}$, $\rho = 167 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$) średnio co druga cząsteczka tworzy wiązanie wodorowe, zaś klasterzy przyjmują głównie formę rozgałęzionych łańcuchów, zawierających od kilku do kilkunastu cząsteczek [19, 20, 24]. Zarówno lepkość jak i stała dielektryczna wody w tym stanie przyjmują bardzo niskie wartości, odpowiednio $29 \text{ }\mu\text{Pa}\cdot\text{s}$ oraz $2,5 \text{ }\mu\text{Pa}\cdot\text{s}$. Statystyczny rozkład wielkości klasterów molekularnych w danych warunkach termodynamicznych jest ściśle związany ze średnią wartością liczby wiązań wodorowych, $\langle n \rangle$, tworzonych przez pojedynczą cząsteczkę. Okazuje się, że wartość $\langle n \rangle$ oraz obliczona na podstawie rozkładu $f(N)$ liczba klasterów zawierających co najmniej pięć cząsteczek wody wykazują w obszarze około-krytycznym liniową korelację z gęstością, lepkością i statyczną stałą dielektryczną ośrodka [19].

3. PRZEMYSŁOWE ZASTOSOWANIA WODY POD- I NADKRYTYCZNEJ

Woda w wysokich temperaturach i pod wysokimi ciśnieniami wykazuje niezwykle korzystne cechy aplikacyjne. Wysoka dyfuzyjność i duża pojemność cieplna zapewniają szybki transport masy i ciepła. Jednocześnie mieszalność z gazami oraz możliwość kontrolowania polarności, zdolności roztwórczej oraz właściwości kwasowo-zasadowych wyłącznie poprzez zmianę warunków ciśnienia i temperatury, sprzyjają szerokim zastosowaniom technologicznym oraz przemysłowym. Do atrakcyjności wody w dużej mierze przyczynia się, ponadto, jej nietoksyczność i powszechna dostępność w środowisku naturalnym.

Zjawisko dobrej rozpuszczalności gazów w wodzie, w warunkach pod- i nadkrytycznych zostało wykorzystane w technologiach mokrego utleniania i hydrotermicznego spalania. Technologie mokrego utleniania stosowane są na skalę przemysłową do oczyszczania ścieków i półpłynnych odpadów przemysłowych od około pięćdziesięciu lat. Mokre utlenianie (ang. *wet oxidation*) jest szczególnie przydatne, gdy stężenie zanieczyszczeń waha się w granicach od 1,5% do 20% masowych [3]. Są to ścieki zbyt stężone, aby oczyszczać je metodami biologicznymi, a jednocześnie zbyt rozcieńczone, aby uzasadnione było stosowanie metod klasycznego spalania z uwagi na energochłonność procesu wynikającą z konieczności odparowania dużej masy wody. Mokre utlenianie jest procesem spalania w wodzie podkrytycznej, prowadzonym (zależnie od składu ścieków) zazwyczaj pod ciśnieniem 0,5–20 MPa i w temperaturze 393–593 K [3]. Do wodnego roztworu ścieków wtłacza się powietrze lub czysty tlen i podgrzewa do temperatury inicjującej proces utleniania. Proces ten jest samowystarczalny energetycznie, gdyż ciepło spalania wystarcza do utrzymania temperatury w reaktorze. W przypadku ścieków bardziej stężonych pojawia się nadwyżka energetyczna wykorzystywana do produkcji pary technologicznej lub energii elektrycznej. Utrzymanie mieszaniny reakcyjnej w stanie ciekłym, zapobiega utracie ciepła na odparowanie wody. Jednym z produktów pośrednich utlenia-

nia są wolne rodniki, zwiększające efektywność procesu. Końcowymi produktami utleniania zanieczyszczeń organicznych są woda i dwutlenek węgla. Skuteczność metody w odniesieniu do alkoholi wyższych wynosi około 95%, a w stosunku do cyjanków, nityli i pestycydów przewyższa 99% [3]. Wydajność, pracujących obecnie około czterystu przemysłowych instalacji mokrego utleniania, waha się od 2,3 do 25 m³/godz. [3]. Koszty instalacji przemysłowej są porównywalne z kosztami budowy klasycznej spalarni odpadów, lecz koszty eksploatacyjne są bez porównania niższe. Ponadto, w odróżnieniu od klasycznych spalarni, technologie mokrego utleniania są przyjazne dla środowiska, gdyż eliminują emisję toksycznych gazów.

Znacznie nowsza od mokrego utleniania jest technika hydrotermicznego spalania w wodzie nadkrytycznej. Impulsem do rozwoju technologii SCWO (ang. *Supercritical Water Oxidation*) były prace Francka i współpracowników z przełomu lat 1980–90 [4]. W 1988 r. Franck zademonstrował samoczynny zapłon metanu w obecności czystego tlenu w wodzie zawierającej 30% molowych metanu w temperaturze 673 K i pod ciśnieniem 100 MPa. Prowadzenie utleniania w wysokiej temperaturze zapewnia duży stopień mineralizacji. Ponadto technologie SCWO umożliwiają odbiór głównego produktu utleniania, jakim jest dwutlenek węgla, w postaci ciekłej, nie zwiększając efektu cieplarnianego. SCWO oraz mokre utlenianie mogą być wykorzystywane do bezpiecznego spalania substancji wybuchowych, a także niszczenia broni chemicznej, ponieważ woda jest wyjątkowo pojemnym buforem cieplnym, co zapobiega niekontrolowanemu wzrostowi temperatury w procesie. Obie metody jako przyjazne środowisku naturalnemu człowieka są podstawą technologii zielonej chemii.

Stosunkowo nową metodą degradacji i rozkładu związków organicznych jest termohydroliza nadkrytyczna. W odróżnieniu od mokrego i nadkrytycznego utleniania, środowisko procesu jest beztlenowe, dzięki czemu nie występują problemy związane z korozją materiałów konstrukcyjnych. Rozkład związków zachodzi wyłącznie pod wpływem wysokiej temperatury, analogicznie jak w procesie pirolizy. Termohydroliza ma jednak tę przewagę, że środowisko wodne zapobiega niepożądanym procesom kondensacji i polimeryzacji. Wyniki badań termohydrolizy zarówno prostych jak i złożonych związków organicznych są bardzo obiecujące. Hydroliza prowadzona w temperaturze 673 K i pod ciśnieniem 37 MPa, w czasie 10 min zapewnia rozkład celulozy, nylonu, jedwabiu, chitozanu, czy polistyrenu w stopniu przekraczającym 90% [3]. Ponadto metoda ta może być wykorzystywana do odzyskiwania użytecznych związków chemicznych, jak na przykład kwasu tereftalowego stosowanego w produkcji włókien, folii, płyt i butelek plastikowych [1].

Szereg innych zastosowań wody nadkrytycznej obejmuje syntezę organiczną [1, 2], oczyszczanie i ekstrakcję [4], geochemię [20], hodowlę wysokiej jakości kryształów [4], a nawet energetykę jądrową. Obecnie trwają prace nad zastosowaniem wody nadkrytycznej jako chłodziwa i moderatora w reaktorach jądrowych IV generacji. Reaktory SCWR pozwoliłoby zwiększyć wydajność elektrowni jądrowych z 33 do 45%, zmniejszyć ilość odpadów promieniotwórczych, a także ograniczyć problem proliferacji.

PODSUMOWANIE

Zastosowania technologiczne i przemysłowe wody pod- i nadkrytycznej wyprzedziły rozwój badań podstawowych. Przede wszystkim brakuje dokładnych modeli matematycznych opisujących zachodzące procesy. Konstrukcja modelu jest z kolei w dużej mierze związana z opracowaniem układu sprzężonych równań różniczkowych opisujących kinetykę reakcji chemicznych. Na przykład pełne rozwinięcie modelu kinetycznego utleniania metanolu wymaga rozważenia co najmniej stu dwudziestu sześciu reakcji elementarnych [25]. Chociaż reakcje spalania i utleniania w fazie gazowej są stosunkowo dobrze poznane a aktualny przegląd danych kinetycznych i termodynamicznych można znaleźć w pracy [26], to bezpośrednie przeniesienie tych danych na spalanie SCWO nie jest uzasadnione. Powodem jest konieczność uwzględnienia zarówno roli cząsteczek wody jak i niejednorodności strukturalnych rozpuszczalnika, spowodowanych występowaniem klastrów molekularnych omawianych w Rozdziale 2. Pomimo ogromnego postępu badawczego, jaki dokonał się w ostatniej dekadzie [10] rola rozpuszczalnika, pozostaje niewyjaśniona dla szeregu reakcji. W szczególności dotyczy to poznania mechanizmu reakcji rodnikowych w radiolizie wody w wysokich temperaturach [27]. Określenie kinetyki i wydajności reakcji indukowanych promieniowaniem jonizującym w wodzie nadkrytycznej jest ważne dla zastosowania reaktorów jądrowych IV generacji.

Obok poznania mechanizmów reakcji elementarnych rządzących procesami utleniania w wodzie pod- i nadkrytycznej, ważne jest udoskonalenie opisu transportu oraz wymiany masy i ciepła. Innym, niemniej istotnym, kierunkiem badań jest opracowanie i wdrożenie trwałych a zarazem tanich katalizatorów. Zastosowanie nowych katalizatorów pozwoliłoby zredukować rozmiary reaktorów, zwiększyć wydajność procesów technologicznych i obniżyć ich energochłonność. Perspektywy nowych zastosowań wymagają intensywnych badań podstawowych w takich dziedzinach jak termodynamika, kinetyka, kataliza, czy inżynieria materiałowa.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] P.E. Savage, J. Supercrit. Fluids, 2009, **47**, 407
- [2] A. Kruse, E. Dinjus, J. Supercrit. Fluids, 2007, **39**, 362.
- [3] R. Zarzycki (red.), *Zaawansowane utlenianie w wodzie pod- i nadkrytycznej.*, Polska Akademia Nauk, Oddział w Łodzi, Komisja Ochrony Środowiska, Łódź 2002.
- [4] E.U. Franck, *Supercritical Water and Other Fluids – A Historical Perspective*, [w:] *Supercritical Fluids. Fundamentals and Applications*. NATO Science Series, Kluwer Academic Publishers, 2000, **366**, ss. 307–319.
- [5] D.A. Palmer, R. Fernandez-Prini, A. H. Harvey (red.), *Aqueous Systems at Elevated Temperatures and Pressures*, Elsevier Academic 2004, ISBN: 0-12-544461-3.
- [6] W. Wagner, A. Pruss, J. Phys. Chem. Ref. Data, 2002, **31**, 387.
- [7] W.L. Marshall, E.U. Franck, J. Phys. Chem. Ref. Data, 1981, **10**, 295.

- [8] D.P. Fernandez, A.R.H. Goodwin, E.W. Lemmon, J.M. Levelt Sengers, R.C. Williams, *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.* 1997, **26**, 1125.
- [9] R. Fernandez-Prini, J.L. Alvarez, A.H. Harvey, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 2003, **32**, 903.
- [10] N. Akiya, P.E. Savage, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 2725.
- [11] Y. Maréchal, *The Hydrogen Bond and the Water Molecule: The Physics and Chemistry of Water, Aqueous and Bio Media*, Elsevier 2007, ISBN: 0-444-51957-2.
- [12] F. Mallamace, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009, **106**, 15097.
- [13] C. Huang, K.T. Wikfeldt, T. Tokushima, D. Nordlund, Y. Harada, U. Bergmann, M. Niebuhr, T.M. Weiss, Y. Horikawa, M. Leetmaa, M.P. Ljungberg, O. Takahashi, A. Lenz, L. Ojamae, A.P. Lyubartsev, S. Shin, L.G.M. Pettersson, A. Nilsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, **106**, 15214.
- [14] T. Head-Gordon, G. Hura, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 2651.
- [15] A.K. Soper, *Chem. Phys.*, 2000, **258**, 121.
- [16] G. Hura, J.M. Sorenson, *J. Chem. Phys.*, 2000, **113**, 9140.
- [17] D. Swiatla-Wojcik, *Chem. Phys.* 2007, **342**, 260.
- [18] T.I. Mizan, P.E. Savage, R.M. Ziff, *J. Supercrit. Fluids*, 1997, **10**, 119.
- [19] D. Swiatla-Wojcik, A. Pabis, J. Szala, *Centr. Eur. J. Chem.*, 2008, **6**, 555.
- [20] A.G. Kalinichev, *Molecular Simulations of Liquid and Supercritical Water: Thermodynamics, Structure, and Hydrogen Bonding*, [w:] *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, Mineralogical Society of America, Washington, D.C. 2001, **42**, ss. 83–130, ISBN: 0-939950-54-5.
- [21] M.C. Bellissent-Funel, *J. Mol. Liq.*, 2001, **90**, 313.
- [22] N. Matubayasi, C. Wakai, M. Nakahara, *J. Chem. Phys.*, 1997, **107**, 9133.
- [23] T. Yamaguchi, *J. Mol. Liq.*, 1998, **78**, 43.
- [24] R.D. Mountain, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 2109.
- [25] E.E. Brock, P.E. Savage, *AIChE J.*, 1995, **41**, 1874.
- [26] D.L. Baulch, C.T. Bowman, C.J. Cobos, R.A. Cox, Th. Just, J.A. Kerr, M.J. Pilling, D. Stocker, J. Troe, W. Tsang, R.W. Walker, J. Warnatz, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 2005, **34**, 757.
- [27] G.V. Buxton, *High temperature water radiolysis*, [w:] *Studies in Physical and Theoretical Chemistry*, Elsevier 2001, **87**, ss. 145–162, ISBN: 0-444-82902-4.

Praca wpłynęła do Redakcji 12 stycznia 2010

OZNACZANIE SIARKOWODORU W PRÓBKACH BIOLOGICZNYCH

DETERMINATION OF HYDROGEN SULFIDE IN BIOLOGICAL SAMPLES

Grażyna Chwatko

*Zakład Chemii Środowiska Katedry Technologii Chemicznej
i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki,
ul. Pomorska 163, 90-236 Łódź
e-mail: gchwatko@uni.lodz.pl*

Abstract

Wstęp

1. Siarkowodor w organizmach żywych
 - 1.1. Różne formy siarki oznaczane w postaci siarkowodoru
 - 1.2. Źródła siarkowodoru w organizmach żywych
 - 1.3. Rola siarkowodoru
2. Przygotowanie próbek biologicznych do oznaczania siarkowodoru
 - 2.1. Pobieranie i przechowywanie próbek
 - 2.2. Homogenizacja
 - 2.3. Upraszczenie matrycy
 - 2.4. Derywatyżacja
 - 2.5. Wytrącanie białek
3. Analiza końcowa
 - 3.1. Spektrofotometria
 - 3.2. Chromatografia cieczowa
 - 3.3. Chromatografia gazowa
 - 3.4. Metody elektroanalityczne

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr Grażyna Chwatko od 1996 roku jest zatrudniona w Katedrze Technologii Chemicznej i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, gdzie pracuje obecnie na stanowisku adiunkta. Pacę doktorską pt „Wyznaczanie statusu redox tioli w osoczu krwi ludzkiej metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej” obroniła w roku 2002. Roczny staż podoktorski, związany z badaniem biochemicznych aspektów aterogennego działania homocysteiny, odbyła w New Jersey Medical School, International Center for Public Health, Newark, USA. Jej zainteresowania naukowe obejmują opracowywanie

nowych metod wykrywania i oznaczania związków siarki w próbkach biologicznych oraz zastosowanie tych metod do monitorowania przemian metabolicznych w organizmach, zarówno w stanach fizjologicznych jak i patologicznych.

ABSTRACT

Hydrogen sulfide is a well known toxic gas that has recently been synthesized from the amino acids by the use of two enzymes (Fig. 1): cystathionine- β -synthase and cystathionine- γ -lyase [1–3, 16, 17]. Hydrogen sulfide is a signaling molecule of the inflammatory and nervous systems, and in particular the cardiovascular system where it regulates vascular tone, cardiac work, and exerts cardioprotection [2, 3, 16, 17, 16–21, 29]. The endogenous metabolism and physiological functions of H₂S position this gas well in the novel family of gasotransmitters together with nitric oxide and carbon monoxide.

This review summarizes the methods of hydrogen sulfide determination in biological samples. Biological tissue preparation procedures can include different steps: homogenization [7, 9, 10, 12, 19, 23–25, 29, 32–35], H₂S release from tissues [9–14, 29], derivatization (Scheme 1–3) [1, 5, 6, 8, 11, 12, 23–25, 29], and deproteination [23–25, 30, 31, 33, 42, 43]. Finally analysis is possible by various methods, including spectrophotometry [6, 8, 11, 23–25, 34], high-performance liquid chromatography [6, 12–14, 29, 31, 41], gas chromatography [9–11, 27, 29, 32], potentiometry [22, 35, 36, 45] and polarography [19, 30]. However, there is much doubt about the reliability of the assay methods used. Determination of hydrogen sulfide is often hindered by numerous artifacts, as: the instability of sulfide, its high volatility, its great susceptibility to oxidation, its adherence to various materials (e.g. glass). This might lead to artificially elevated or lowered levels and explains the large discrepancy among the various reports.

Keywords: hydrogen sulfide, sulfane sulfur, determination, biological sample

Słowa kluczowe: siarkowodór, siarka sulfanowa, oznaczanie, próbka biologiczna

WSTĘP

Siarkowodór jest bezbarwnym gazem cięższym od powietrza, o charakterystycznym ostrym zapachu, który jest wyczuwalny w powietrzu, w stężeniu 0,01 ppm. Od lat jest znany jako toksyczny gaz, zanieczyszczający środowisko, a jednocześnie jako leczniczy składnik wód źródlanych. Terapeutyczne czy toksyczne jego działanie zależy od stężenia w jakim on występuje. Jeśli człowiek jest narażony na działanie H_2S , którego stężenie w powietrzu przekracza 700 ppm, wówczas dochodzi do utraty przytomności, porażenia układu oddechowego i śmierci [1]. Natomiast w stężeniu od 300 do 700 ppm siarkowodór może powodować utratę przytomności, a czasem śmierć, gdy ekspozycja na H_2S jest dłuższa niż 30 min. Do podrażnienia układu oddechowego dochodzi podczas wdychania powietrza zawierającego siarkowodór, w stężeniu od 200 do 300 ppm, w czasie dłuższym niż 1 godzina. W niskich stężeniach, w jakich występuje H_2S w wodach źródlanych, ma terapeutyczne działanie, które wspomaga leczenie chorób pourazowych narządów ruchu, chorób skóry, miażdżycy, nadciśnienia tętniczego, przewlekłych chorób narządu rodnego, przewlekłych zatruc metalami ciężkimi, zwyrodnienia stawów, czy reumatyzmu.

Ostatnimi czasy wzrosło zainteresowanie siarkowodorem i jego rolą jaką pełni w procesach fizjologicznych oraz patologicznych [2, 3]. Od lat znanych jest wiele metod oznaczania siarkowodoru i siarki labilnej w próbkach środowiskowych, a w tym biologicznych, które zostały opisane we wcześniejszych pracach przeglądowych [4–6]. Niniejsze omówienie porusza problemy, które towarzyszą oznaczeniu siarkowodoru w złożonych matrycach jakimi są próbki biologiczne. Opisany poniżej materiał oparty jest na pracach publikowanych w ostatnim dziesięcioleciu.

1. SIARKOWODÓR W ORGANIZMACH ŻYWYCH

Siarka należy do pierwiastków aktywnych biologicznie i chemicznie. W organizmach żywych może ona występować w związkach organicznych i nieorganicznych na pięciu różnych stopniach utlenienia: -2 , 0 , 2 , 4 , 6 . Większość związków siarki obecna w tkankach zwierząt występuje na stopniach utlenienia -2 (siarczki, tiole) i 6 (siarczany(VI), kwasy sulfonowe).

1.1. RÓŻNE FORMY SIARKI OZNACZANE W POSTACI SIARKOWODORU

W literaturze istnieje niejasność dotycząca form w jakich siarka występuje w próbkach biologicznych. W związku z tym należy wyjaśnić i ujednoczyć nazwy używane do określenia różnych form siarki.

Wolny siarkowodór

Siarkowodór dobrze rozpuszcza się w wodzie, a jego roztwór wodny posiada pH lekko kwaśne, gdyż H_2S ulega dwustopniowej dysocjacji do jonów: H^+ oraz HS^- i S^{2-} . W soli fizjologicznej (pH 7,4), w temperaturze $37^\circ C$, mniej niż $1/5$ siarkowodoru występuje w formie niezdisocjowanej, a pozostałe $4/5$ stanowią głównie jony wodorosiarczkowe ($pK_{a1} = 6,98$, w temp. $25^\circ C$) z niewielką domieszką jonów siarczkowych ($pK_{a2} = 19 \pm 2$) [1, 7]. W związku z tym, w płynach fizjologicznych jak i homogenatach tkanek, występują głównie jony wodorosiarczkowe i siarczkowe, a mniej niż 20% to siarkowodór. Wobec tego często używana w publikacjach nazwa siarkowodór w rzeczywistości odnosi się do sumy wodorosiarczku, siarczku i siarkowodoru.

Kwasowo labilna siarka

Określenie kwasowo labilna siarka (ang. *acid-labile sulfur*) dotyczy związków zawierających siarkę, która jest z nich uwalniana w postaci H_2S pod wpływem kwasów [6–8]. Ta forma siarki występuje głównie w centrach żelazowo-siarkowych białek zawartych w mitochondriach, chociaż nie cała kwasowo labilna siarka jest zamknięta w klasternych żelazowo-siarkowych [6]. Wydaje się, że niektóre metody opisujące oznaczanie siarczków w tkankach ssaków w rzeczywistości odnoszą się do oznaczania sumy siarkowodoru i siarki kwasowo labilnej [9–14].

Siarka związana

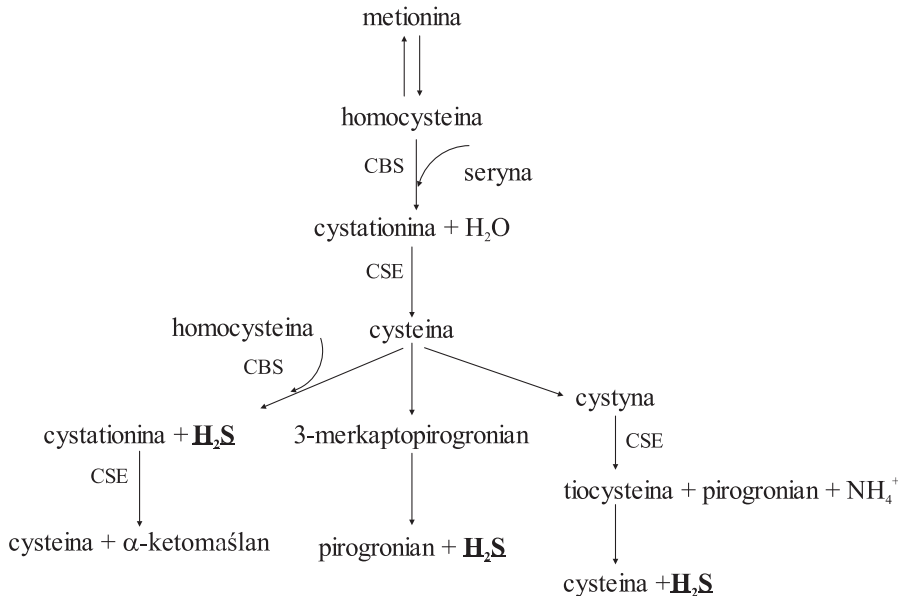
Pojęcie siarki związanej dotyczy związków zawierających siarkę, która jest z nich uwalniana w postaci siarkowodoru w wyniku działania reduktorów [6, 7, 15]. W procedurach analitycznych do oznaczania siarki związanej najczęściej wykorzystywany był jako reduktor ditiotreitól, stąd w literaturze pojawia się określenie tej grupy związków jako ditiotreitoloowo labilnych siarczków (ang. *dithiothreitol-labile sulfide*) [8]. Inne określenia, które używane są zamiennie w piśmiennictwie to: siarka związana z proteinami (ang. *protein-bound sulfur*, *protein-associated sulfur*), czy siarczki związane z tkankami (ang. *tissue-bound sulfide*) [6]. Siarka związana występuje głównie w cytozolu [7].

Wspomniane powyżej formy, kwasowo labilnej siarki i siarki związanej, należą do związków zawierających siarkę sulfanową i nie należy pojęć tych używać zamiennie. Związki z siarką sulfanową to takie, które zawierają labilny atom siarki dwuwiązalnej, który połączony jest kowalencyjnie z innym atomem siarki [6]. Atom ten łatwo przechodzi na różne akceptory (np. CN^- , SO_3^{2-} , $R-SO_2-H$) i często nazywany jest siarką cyjanolizującą [15]. Przykładami związków z siarką sulfanową są: nadsiarczki (np. tiocysteina), wielosiarczki (np. tiocystyna), tiosiarczany, tiosulfo-

niany (np. tiotauryna), politioniany (np. czterotionian), siarka elementarna oraz disiarczki zawierające w swojej budowie wiązanie podwójne (np. disiarczek allilu) [6, 15].

1.2. •RÓDŁA SIARKOWODORU W ORGANIZMACH ŻYWYCH

Siarkowódor występujący w organizmach żywych może być pochodzenia egzogenego. Może także powstawać jako produkt uboczny w przemianach aminokwasów siarkowych. Siarkowódor zawarty w środowisku jest wchłaniany głównie poprzez drogi oddechowe oraz skórę, skąd przedostaje się do krwiobiegu. W produkcji większości siarkowodoru uczestniczą dwa enzymy: γ -liaza cystationiny (CSE, EC 4.4.1.1) i β -syntaza cystationiny (CBS, EC 4.2.1.22), których kofaktorem jest witamina B₆ (fosforan pirydoksalu) [1–3, 16, 17]. Enzymy te są rozpowszechnione w komórkach i tkankach ssaków, jak również u wielu bezkręgowców i bakterii. U ssaków duża ilość CBS występuje w mózgu, podczas gdy aktywność CSE jest wyższa w tkankach obwodowych szczególnie: wątrobie, nerkach czy naczyniach krwionośnych. Do tej pory uważano, że enzymy te (zarówno CBS jak i CSE) katalizują przemianę cysteiny do mleczanu, amoniaku i siarczanów. Ponadto CBS syntetyzuje cystationinę z homocysteiny i seryny, a CSE rozkłada cystationinę do cysteiny i α -ketomaślanu [18].



Rysunek 1. Schemat metabolizmu związków siarki prowadzącego do powstania siarkowodoru w organizmie, CSE – γ -liaza cystationiny, CBS – β -syntaza cystationiny

Figure 1. Scheme of metabolism of sulfur compounds leading to formation of hydrogen sulfide in organism, CSE – cystathionine γ -liase, CBS – cystathionine β -synthase

Substratami do wytwarzania H_2S są aminokwasy siarkowe: cysteina i homocysteina (Rys. 1). Synteza siarkowodoru z udziałem CSE odbywa się dwuetapowo. Najpierw CSE katalizuje reakcję przemiany disiarczku cysteiny do: tiocysteiny, pirogronianu i amoniaku. Następnie tiocysteina ulega nieenzymatycznej reakcji rozkładu do cysteiny i siarkowodoru [17], chociaż istnieją doniesienia, że w reakcji tej uczestniczy również CSE [16]. CBS natomiast jest katalizatorem w reakcji kondensacji cysteiny i homocysteiny do cystationiny, gdzie produktem ubocznym jest H_2S . Uważa się, że CSE jest głównym enzymem odpowiedzialnym za syntezę H_2S w układzie krążenia, podczas gdy CBS pełni tę rolę w mózgu. Inną drogą syntezy siarkowodoru, *in vitro*, jest reakcja desulfuracji 3-merkaptopirogronianu z udziałem siarkotransferazy 3-merkaptopirogronianu (EC 2.8.1.2.) [16]. Udział tej reakcji w syntezie siarkowodoru w tkankach ssaków nie jest do końca wyjaśniony.

Jak opisano w literaturze [19], siarkowodór powstaje u ssaków w wielu tkankach: mózgu, nerkach, wątrobie, sercu, aortie oraz płucach. Przypuszcza się, że siarkowodór produkowany w reakcjach enzymatycznych może być od razu uwalniany lub zatrzymywany w komórkach, po związaniu z innymi związkami i z opóźnieniem uwalniany w odpowiedzi na sygnały fizjologiczne. Zidentyfikowano dwie formy w jakich magazynowany jest siarkowodór, są to: kwasowo labilna siarka i siarka związana. Ostatnie badania, przeprowadzone na homogenatach mózgu, wątroby i serca pokazują, że siarkowodór produkowany przy udziale enzymów, może być magazynowany w tkankach, w postaci siarki związanej, a nie kwasowo labilnej [7].

1.3. ROLA SIARKOWODORU

Siarkowodór oraz jego znaczenie dla organizmów żywych znalazły się w centrum zainteresowania badaczy na całym świecie. W wielu pracach opisana jest jego rola jako nowego, biologicznie aktywnego mediatora w układzie nerwowym i krążenia, obok CO i NO [17, 20, 21]. NO był pierwszym mediatorem opisanym w latach 80. ubiegłego wieku. Bierze on udział w regulacji procesów, takich jak napięcie naczyń krwionośnych, neurotransmisja czy obrona przed patogennymi drobnoustrojami. Jako drugi, gazowy mediator odkryto CO, zwany czadem. CO, analogicznie jak NO, rozszerza naczynia krwionośne, hamuje migrację i proliferację komórek mięśni gładkich naczyń, a ponadto reguluje transport jonów w kanalikach nerkowych [17, 20]. Podobnie jak CO i NO, siarkowodór między innymi poszerza naczynia krwionośne, przez co chwilowo obniża ciśnienie tętnicze i żyłne [3, 17, 21]. U dzieci z samoistnym nadciśnieniem zaobserwowano, że stężenie siarkowodoru jest niższe w porównaniu do grupy kontrolnej dzieci [22]. Nie tylko naczynia krwionośne są rozluźniane pod wpływem H_2S , ale również obserwowane jest jego relaksacyjne działanie, *in vitro*, na preparaty mięśni gładkich układu żołądkowo-jelitowego oraz dróg oddechowych [2, 21]. Ponadto H_2S osłabia skurcze mięśnia sercowego, dzięki czemu może osłaniać serce przed uszkodzeniami wywołanymi podwią-

zaniem tętnicy wieńcowej czy niedokrwieniem. W badaniach *in vitro* wykazano, że siarkowódor hamuje agregację płytek krwi człowieka [2]. W wielu pracach wykazano, że siarkowódor aktywuje kanały potasowe K_{ATP} w naczyniach krwionośnych, mięśniu sercowym, β -komórkach wątroby, mięśniach gładkich okrężnicy oraz neuronach [2, 17, 21].

W centralnym systemie nerwowym siarkowódor aktywuje receptory kwasu *N*-metylo-*D*-asparaginowego. Ponadto reguluje funkcję zarówno neurocytów jak i astrocytów [2, 16, 17]. Chroni on neurony przed neurotoksycznym działaniem innych związków i stresem oksydacyjnym. To ochronne działanie polega na zmiataniu reaktywnych form tlenu i azotu oraz stymulacji syntezy cysteiny i γ -glutamylcysteiny – prekursorów glutationu, który jest ważnym antyoksydantem w mózgu [16, 17].

Zmiany endogennego stężenia siarkowodoru obserwowane są w różnych chorobach [2, 3, 10, 16, 17, 21–25]. Zwiększone stężenie H_2S towarzyszy między innymi zespołowi Downa, wstrząsowi septycznemu, zapaleniu okrężnicy, cukrzycy, przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc; zmniejszone zaś: chorobie Alzheimera, niedoborowi CBS, nadciśnieniu tętniczemu, marskości wątroby czy stresowi oksydacyjnemu występującemu w rozwoju niedotlenienia w nadciśnieniu płucnym.

2. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK BIOLOGICZNYCH DO OZNACZANIA SIARKOWODORU

W analizie chemicznej, aby zagwarantować wiarygodność uzyskanego wyniku, należy zwrócić uwagę na wszystkie etapy, z jakich składa się proces analityczny. Do etapów tych należą: pobieranie i przechowywanie próbki, przygotowanie próbki do analizy, pomiar i kalibracja metody oraz obróbka danych. Właściwe pobieranie i przygotowanie próbek do końcowej analizy okazuje się jednym z trudniejszych i czasochłonnych etapów procesu analitycznego. Szacuje się, że zabiera on najwięcej czasu, to jest 67% całkowitego czasu analizy, podczas gdy pomiar i obróbka danych pochłaniają, odpowiednio, 6% i 27%. Ponadto, etap pobierania i przygotowania próbki stanowi największe źródło błędów, które wynosi 60% [26].

2.1. POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

Siarkowódor należy do związków reaktywnych i w organizmach żywych może reagować z wieloma związkami, takimi jak nadtlarki i ponadtlenki, a ponadto z metalami występującymi w centrach aktywnych białek i enzymów. W związku z tym należy szczególnie ostrożnie postępować z próbkami biologicznymi, w których będzie oznaczana zawartość H_2S . Powszechnie wiadomo, że obniżenie temperatury spowalnia lub hamuje zachodzące reakcje chemiczne. W związku z tym próbki biologiczne, natychmiast po pobraniu, powinny być schładzane poprzez umieszcze-

nie ich na lodzie [19, 27] i jak najszybciej poddane analizie na zawartość H_2S . W przypadku, kiedy analiza nie może być wykonana niezwłocznie, próbki po pobraniu powinny być zamrożone. W niektórych pracach wykorzystano szybkie zamrażanie, poprzez umieszczenie preparatów w ciekłym azocie [27, 24], a następnie przechowywanie ich w temp. $-70^{\circ}C$ [24, 28]. Zdarza się, że próbki są przechowywane w $-20^{\circ}C$ [12, 28], czy $-30^{\circ}C$ [29]. W literaturze brak doniesień na temat wpływu temperatury mrożenia i czasu przechowywania próbki na zawartość siarkowodoru.

Stężenie niezabezpieczonego siarkowodoru w próbkach biologicznych zmniejsza się gwałtownie. Przeprowadzone badania [30] na pełnej krwi pstrąga, myszy, szczura, świni i krowy wykazały szybki zanik H_2S dodanego do krwi. Czas połowicznego zaniku dodanego siarkowodoru, w stężeniu $10 \mu\text{mol/l}$, w krwi pstrąga, świni i krowy wynosił odpowiednio: $12,7 \pm 3,2$, $76,0 \pm 12,9$, $51,3 \pm 13,3$ s. W przypadku szczurów wartości te różniły się w zależności od gatunku i wynosiły: $130,5 \pm 22,8$ i $151,1 \pm 8,2$ s. Inne badania [7] przeprowadzone *in vitro* pokazały, że H_2S dodany do próbek homogenatów (8 mg białka/ml) mózgu, wątroby i serca szczura oraz roztworu surowicy płodu wołowego (8 mg białka/ml), bardzo szybko reaguje z białkami. W homogenacie wątroby cały H_2S ($3,33 \mu\text{mol/l}$) jest wiązany prawie natychmiast, natomiast w homogenatach serca i mózgu odpowiednio po 10 i 30 min. Najwolniej reakcja ta zachodzi w roztworze surowicy płodu wołowego i po 30 min. ok. 60% wolego H_2S pozostaje w surowicy. Zanik siarkowodoru, jak również metanotiolu, dodanych do homogenatu błony śluzowej jelita szczura, w stężeniu 40 ppm, następuje po 60 min [27].

Sposobem pozwalającym na zabezpieczenie przed niepożądanymi reakcjami zachodzącymi w czasie przechowywania jest przeprowadzenie siarkowodoru w stabilną pochodną. Do tego celu wykorzystane są często sole cynku lub kadmu [5, 12, 23], które wytrącają siarczki w postaci nierozpuszczalnych soli ZnS lub CdS . Dodanie octanu cynku do homogenatów kału umożliwia przechowywanie tych próbek, bez zmian stężenia siarczków, przez okres 6 miesięcy, w temp. $4^{\circ}C$ [12]. W innym przypadku próbki biologiczne poddano reakcji derywatywacji z monobromobimaniem, a uzyskane roztwory, zawierające pochodną siarczków, przechowywano w temp. $-80^{\circ}C$ [31].

2.2. HOMOGENIZACJA

Panuje przekonanie, że utrudnienia w analizie próbek biologicznych rosną wraz ze zmniejszaniem się stopnia płynności analizowanego materiału. To oznacza, że najłatwiej analizuje się tkanki płynne, rozpoczynając od płynu mózgowo-rdzeniowego, poprzez łyż, pot, ślinę, moczu, żółć, osocze, a na pełnej krwi kończąc. Więcej trudności w analizie sprawiają tkanki stałe, które można uszeregować według rosnącej gęstości, począwszy od kału, mózgu, serca, nerek, wątroby, płuc, mięśni, a na kościach kończąc.

Siarkowodor najczęściej jest oznaczany w osoczu, krwi oraz w tkankach stałych takich jak: mózg, serce, płuca, wątroba, nerki i kał. Tkanki stałe przed analizą na zawartość siarkowodoru poddawane są homogenizacji, która prowadzi do rozdrobnienia i ujednorodnienia próbki. Najczęściej homogenizacja prowadzona jest w lodowatym buforze fosforanowym o różnym pH: 5,7 [32], 6,8 [24, 33], 7,4 [12, 25, 34], 8,0 [23], lub roztworze wodorotlenku sodu o stężeniu 10 mmol/L [9, 10]. Do homogenizacji tkanek używano również buforu boranowego o pH 9,0 [7], 0,9% roztworu NaCl [29], soli fizjologicznej buforowanej fosforanami [19], czy lodowatego odczynnika usuwającego białko [35]. Stosowanie do homogenizacji buforów o zbyt niskim lub wysokim pH może prowadzić do zafałszowania uzyskanych wyników. W środowisku kwaśnym wzrasta stężenie cząsteczek niezdysocjowanego siarkowodoru, który może ulatniać się z próbek, a ponadto może dochodzić do uwalniania dodatkowych cząsteczek H_2S głównie z centrów żelazowo-siarkowych białek czy enzymów, frakcji siarki kwasowo labilnej. Natomiast zastosowanie zbyt wysokiego pH może powodować utlenianie jonów HS^- i S^{2-} do $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_6^{2-}$, SO_3^{2-} , a ostatecznie do SO_4^{2-} . Aby zapobiegać reakcjom utleniania, próbki można przetrzymywać pod gazem obojętnym z dodatkiem odczynnika chelatującego ślady metali ciężkich, katalizujących procesy utleniania [1]. W celu zatrzymania reakcji utleniania do próbek dodawano antyutleniaczy [5, 22, 30, 36].

2.3. UPRASZCZANIE MATRYCY

Próbki biologiczne należą do najbardziej złożonych spośród próbek będących przedmiotem zainteresowania chemika analityka. Ich matryce składają się z dużej liczby składników o różnym stężeniu. Obiektowi analitycznemu o stężeniu śladowym lub ultraśladowym towarzyszą często substancje o podobnych właściwościach fizykochemicznych i dużym stężeniu. Komponenty matrycy mogą reagować między sobą oraz z obiektem analitycznym, co w konsekwencji prowadzi do błędnych wyników. W związku z powyższym próbki muszą być często poddawane operacjom wstępnym, polegającym na upraszczaniu, czy wydzielaniu składnika z matrycy.

Siarkowodor jest lotnym gazem, w związku z tym, do wyodrębniania go z próbek biologicznych, stosowana jest często ekstrakcja gaz–ciecz, wykorzystująca zjawisko podziału lotnych związków pomiędzy fazę gazową i ciekłą. Podczas oznaczania siarkowodoru lub kwasowo labilnej siarki w tkankach szczura [29], przez naczynie zawierające homogenaty tkanek przepuszczany był azot, który następnie wprowadzano do naczynia zawierającego wodorotlenek sodu o stężeniu 0,1 mol/l. Do homogenatów, w których oznaczana była kwasowo labilna siarka, przed ekstrakcją dodawano 50% kwas fosforowy(V). Ekstrakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 20 min, a uzyskany roztwór siarczku sodu był poddawany dalszej procedurze analitycznej. Inną techniką, stosowaną do wydzielania siarkowodoru, opartą na ekstrakcji gazem, jest analiza fazy nadpowierzchniowej (ang. *headspace analysis*). Polega ona na badaniu par będących w równowadze termodynamicznej z roztwo-

rem czy ciałem stałym. Próbki zawierające siarczki umieszcza się w szczelnie zamkniętych naczyniach i dodaje kwas trichlorooctowy [9, 10] bądź fosforowy(V) [29]. Tak przygotowane roztwory podaje się inkubacji w temperaturze 37°C przez 0,5 godz. [9, 10], albo 40°C przez 1 godz. [29]. Dodanie kwasu bezpośrednio do homogenatu tkanek [9, 10], którego celem jest przeprowadzenie siarczków w lotny siarkowodor, powoduje dodatkowo uwalnianie H₂S z frakcji kwasowo labilnej siarki. W związku z tym uzyskane zawartości są sumą wolnego siarkowodoru oraz kwasowo labilnej siarki.

Poza ekstrakcją gaz–ciecz do wydzielania siarkowodoru stosowana jest mikrodestylacja [12, 13]. Zbudowany przez badaczy zestaw do mikrodestylacji składał się z połączonych ze sobą dwóch naczyń. Do pierwszego wprowadzono badaną próbkę, a do drugiego wodorotlenek sodu o stężeniu 1 mol/l, w którym absorbowany był H₂S uwolniony z próbki. Do naczynia z próbką dodano stężony HCl i ogrzewano w łaźni wodnej w temperaturze 50°C, a cały układ przedmuchiwało strumieniem azotu. Proces mikrodestylacji prowadzono przez 3 godz., a uzyskany roztwór siarczku sodu analizowano techniką chromatografii jonowej [12, 13]. Zbadany odzysk metody dla siarczków dodanych do homogenatu kału oraz pełnej krwi, mieścił się odpowiednio w przedziałach 92–108 oraz 81–102% [12].

Innym sposobem wydzielenia H₂S z matrycy jest wykorzystanie mikrodyfuzji prowadzonej w naczyniu Conway'a, które składa się z umieszczonych współśrodkowo komór. Do komory wewnętrznej wprowadza się roztwór wodorotlenku sodu, w którym absorbowany jest siarkowodor, a do zewnętrznej próbkę zmieszaną z kwasem siarkowym(VI). Proces mikrodyfuzji w przypadku czerwonych komórek krwi człowieka [14] przebiegał w temperaturze pokojowej, przez 1 godz., podczas gdy homogenaty wątroby, płuc, nerek oraz mięśni uda szczura [11] podawano mikrodyfuzji w temp. 37°C przez 1,5 godz. Podobnie jak w przypadku mikrodestylacji czy analizy fazy nadpowierzchniowej, dodanie kwasu do próbki biologicznej może zafałszować wynik poprzez dodatkowo uwalnianie H₂S z frakcji kwasowo labilnej siarki.

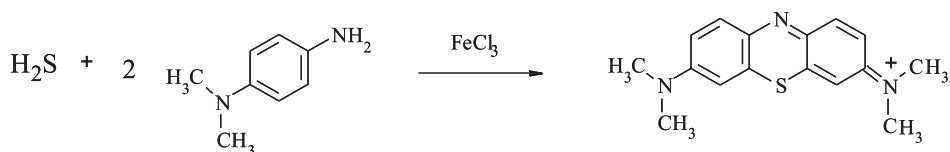
Skuteczna metoda separacji siarkowodoru z homogenatu tkanek polegała na zastosowaniu sproszkowanego srebra, na którym adsorbowany był H₂S w postaci Ag₂S [7]. Reakcję prowadzono w środowisku alkalicznym, w temperaturze 37°C, przez 2 godz. W metodzie tej zastosowano Triton X-100 w celu usunięcia białek zaadsorbowanych na cząstkach srebra. Następnie siarczek srebra rozkładany był do siarkowodoru poprzez dodanie tiomocznika i kwasu siarkowego(VI) do cząstek wolnych od białka. Metoda ta pozwala na wykluczenie często popełnianego błędu polegającego na równoczesnym wydzielaniu z homogenatów siarkowodoru i frakcji kwasowo labilnej siarki.

2.4. DERYWATYZACJA

Stężenie siarkowodoru oraz siarczków w próbkach biologicznych najczęściej jest oznaczane z wykorzystaniem spektrofotometrów. Wodne roztwory siarkowo-

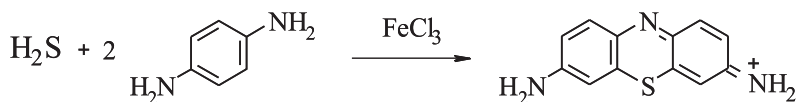
doru o pH z przedziału 3–5,5 praktycznie nie absorbują promieniowania UV. Natomiast widmo absorpcji alkalicznego roztworu siarczków, w którym obecne są jony wodorosiarczkowe (pH 8–10), posiada maksimum przy 230 nm [37]. W tym zakresie promieniowania UV mogą absorbować inne związki obecne w próbkach biologicznych, wobec tego bezpośrednie oznaczanie siarczków metodą spektrofotometryczną może być stosowane tylko do prostych roztworów wodnych [37]. W przypadku złożonych próbek biologicznych, w oznaczaniu siarczków wykorzystuje się reakcję derywatywacji. Derywatywacja polega na reakcji chemicznej analitu z odpowiednim odczynnikiem, w wyniku której substancja będąca przedmiotem analizy zyskuje niezbędne dla danej metody właściwości. Modyfikacja analitu jest stosowana, gdy istnieje niekompatybilność substancji analizowanej ze stosowanym detektorem, niemożność rozdzielania substancji w swej pierwotnej postaci, czy konieczność zwiększenia zakresu liniowości metody [38].

W ostatnim dziesięcioleciu najczęściej stosowanym odczynnikiem derywatyującym do oznaczania siarkowodoru w próbkach biologicznych jest 4-amino-*N,N*-dimetyloanilina [1, 5, 6, 8, 11, 23–25, 34, 39]. Reaguje on z siarczkami w stosunku molowym 2 : 1, w obecności jonów żelaza(III), co ilustruje Schemat 1. Powstający w reakcji błękit metylenowy absorbuje promieniowanie z zakresu widzialnego (maksimum absorpcji ok. 670 nm). Otrzymana pochodna siarczków jest stabilna i jej stężenie w próbce utrzymuje się na poziomie 95% przez cztery dni [6].



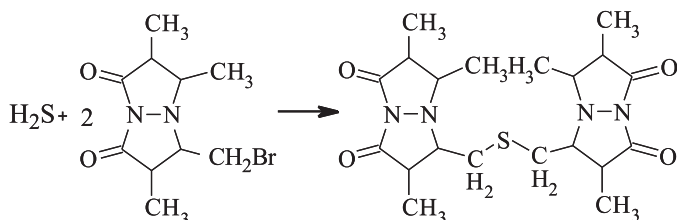
Schemat 1
Scheme 1

W podobny sposób, w obecności jonów żelaza(III), reaguje z siarczkami 1,4-diaminobenzen (Schemat 2). W wyniku reakcji powstaje tionina, której stężenie może być oznaczane spektrofotometrycznie przy długości fali 600 nm, bądź spektrofluorymetrycznie, po separacji HPLC, przy fali wzbudzenia 600 nm i emisji 623 nm [6, 14]. Reakcja derywatywacji siarczków przy pomocy 1,4-diaminobenzenu przebiega z największą wydajnością, wynoszącą 60%, w pH poniżej 1, w ciągu 10 min., a powstająca pochodna – tionina – jest stabilna co najmniej przez tydzień [14]. Stosowanie kwaśnego środowiska reakcji wiąże się z jednej strony z niebezpieczeństwem utraty lotnego siarkowodoru, a z drugiej może prowadzić do uwalniania dodatkowych cząsteczek H_2S z białek (tzw. kwasowo labilnej siarki), w próbkach biologicznych.



Schemat 2
Scheme 2

Do oznaczania zawartości siarczków w próbkach biologicznych czy środowiskowych również znalazł zastosowanie monobromobiman, który reaguje selektywnie z siarczkiem (Schemat 3), tiolami, siarczanami(IV) i tiosiarczanami [31, 40]. Reakcja siarczka z monobromobimananem w próbkach biologicznych prowadzona jest w środowisku alkalicznym (pH = 8), w temperaturze pokojowej, w ciemności, w ciągu 1 godz. [41]. W przypadku próbek środowiskowych czas derywatywacji wynosi 30 min. [40]. W wyniku przeprowadzonej w ten sposób reakcji powstaje fluoryzująca pochodna, której stężenie jest oznaczane, po separacji chromatograficznej, z wykorzystaniem detektora fluorescencyjnego, przy falach wzbudzenia i emisji odpowiednio 390 i 480 nm [31], czy 380 i 480 nm [40], bądź 396 i 476 nm [41]. Wadą monobromobimananu jest to, że sam odczynnik także fluoryzuje i jego pik jest widoczny na chromatogramie [31]. Odczynnik ten głównie był stosowany do oznaczania siarczka uwolnionych z próbki za pomocą obniżenia pH [31] bądź ditiotreitolu [41].



Schemat 3
Scheme 3

2.5. WYTRĄCANIE BIAŁEK

Próbki zawierające białka, w większości przypadków, powinny być ich pozbawione przed końcową analizą. Wprowadzenie białek, np. do systemu HPLC, powoduje szybki spadek sprawności kolumny i wzrost oporu, który powoduje podwyższenie ciśnienia fazy ruchomej.

Popularną metodą oddzielenia białek od analitu jest ich wytrącanie, przy zastosowaniu odpowiednich odczynników lub temperatury i następnie sączenie bądź wirowanie. Najczęściej białka są wytrącane przy użyciu roztworów kwasów, rozpuszczalników organicznych czy soli [42, 43]. Mechanizm wytrącania białka jest różny w zależności od zastosowanych odczynników. W roztworach silnie kwaśnych, poni-

żej punktu izoelektrycznego, białka posiadają netto ładunek dodatni i tworzą nierozpuszczalne sole z kwasami takimi jak trichlorooctowy czy chlorowy(VII). Wytrącanie białka poprzez dodanie soli (wysalanie) polega na powstrzymaniu hydratacji białka na korzyść hydratacji jonów zawartych w soli. Powoduje to usunięcie wody z powierzchni hydrofobowych białek, następstwem czego jest wzrost oddziaływań pomiędzy grupami hydrofobowymi białek, co prowadzi do ich agregacji i wytrącania. Dodanie rozpuszczalnika organicznego mieszalnego z wodą (aceton, acetonitryl, czy metanol) obniża stałą dielektryczną roztworu białka, co zwiększa przyciąganie pomiędzy naładowanymi cząsteczkami i ułatwia elektrostatyczne oddziaływania białka. Ponadto rozpuszczalnik organiczny wypiera przyłączone cząsteczki wody z fragmentów hydrofobowych białka, ułatwiając jego agregację i wytrącanie. Przy wytrącaniu białek należy rozważyć możliwość współwytrącania analitu i wpływu środowiska na jego trwałość. W przypadku stosowania rozpuszczalnika organicznego, ważne jest aby rozpuszczalnik ten bardzo dobrze rozpuszczał analit, gdyż niektóre związki mogą się adsorbować na wytrączonych białkach.

W metodach stosowanych do oznaczania siarkowodoru w próbkach biologicznych, do wytrącania protein, najczęściej wykorzystuje się kwas trichlorooctowy [23–25, 30, 33], bądź acetonitryl [31].

3. ANALIZA KOŃCOWA

Ze względu na właściwości fizykochemiczne siarkowodoru, a przede wszystkim dużą jego reaktywność oraz złożoność matrycy biologicznej, oznaczanie jego zawartości w próbkach biologicznych nie jest łatwym zadaniem. Do jego oznaczania w próbkach biologicznych najczęściej stosowane są metody opierające się na technikach takich jak spektrofotometria, chromatografia czy potencjometria. W literaturze postulowane są niezwykle wysokie jego stężenia, które w osoczu (lub surowicy) krwi zdrowego człowieka wynoszą od ok. 1 $\mu\text{mol/l}$ [6] do ponad 80 $\mu\text{mol/l}$ [3, 22], a u pięciu osób z szokiem septycznym średnia zawartość wynosiła 150 $\mu\text{mol/l}$ [34]. Liczby te sugerują, że ciało „zalone” jest siarkowodorem. Należy tu wspomnieć, że jeśli w laboratorium przygotowuje się roztwór standardowy siarczku sodu czy wodorosiarczku sodu o stężeniu porównywalnym do postulowanego w literaturze jako fizjologiczne, to roztwory te posiadają charakterystyczny ostry zapach, który nie towarzyszy świeżemu osoczu czy homogenatom tkanek. Może to oznaczać, że we wspomnianych metodach analitycznych jako siarkowodor oznaczane są też inne formy siarki.

3.1. SPEKTROFOTOMETRIA

Spektrofotometria w zakresie nadfioletu i promieniowania widzialnego jest jedną z najstarszych metod instrumentalnych w analizie chemicznej. Metoda spektrofotometria

metrycznego oznaczania siarkowodoru z wykorzystaniem 4-amino-*N,N*-dimetylo-aniliny (Schemat 1) jako odczynnika derywatyzującego (opisanego w sekcji 2.4.), znana w literaturze jako metoda błękitu metylenowego, znajduje szerokie zastosowanie do oznaczania stężenia H_2S w tkankach pobranych od człowieka [6, 8, 34] i zwierząt [6, 11, 23–25, 34], czy w hodowlach komórek [33]. Oznaczone endogenne zawartości siarkowodoru tą metodą, w zależności od rodzaju próbki biologicznej, wynosiły: tkanka korowa szczura 11 nmol/g [23], osocze szczura $299,6 \pm 12,4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ [24], komórki trzustki myszy $10,5 \pm 0,8 \text{ } \mu\text{mol/l}$ homogenatu [25], osocze myszy $34,1 \pm 0,7 \text{ } \mu\text{mol/l}$ [34].

W metodach spektrofotometrycznych charakter zależności między wielkością mierzoną (absorbancją) a stężeniem znany jest na podstawie prawa Lamberta-Beera, opisującego liniową zależność absorbancji od stężenia. Jednakże wykorzystanie tej zależności w praktyce napotyka na pewne ograniczenia. Roztwory błękitu metylenowego spełniają prawo Lamberta-Beera przy bardzo dużym rozcieńczeniu, to jest gdy stężenie jest niższe od $1 \text{ } \mu\text{mol/l}$. W wyższym stężeniu i w obecności dużej ilości anionów tworzone są dimery i trimery błękitu metylenowego, które absorbują promieniowanie odpowiednio przy 610 i 595 nm. Jeśli stężenie błękitu metylenowego wynosi $100 \text{ } \mu\text{mol/l}$, to tylko 55% jego występuje w formie monomeru [1]. W związku z tym, jeśli pracuje się z próbkami w których stężenie siarczków jest większe od $10 \text{ } \mu\text{mol/l}$, to absorbancja roztworu rośnie wraz z rozcieńczeniem próbki, gdyż rozcieńczenie prowadzi do wzrostu stężenia monomeru a spadku dimeru. Nieuwzględnienie tego faktu w badaniach prowadzonych z wykorzystaniem metody błękitu metylenowego może powodować duże błędy w oznaczeniach stężenia siarkowodoru.

3.2. CHROMATOGRAFIA CIECZOWA

Do oznaczania siarkowodoru w próbkach biologicznych znalazła zastosowanie technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w połączeniu z fluorescencyjnym bądź elektrochemicznym sposobem detekcji [6, 12–14, 29, 31, 41].

Detektory fluorescencyjne są bardzo czułe i selektywne w stosunku do analitów wykazujących fluorescencję. Siarczki i siarkowódór nie wykazują fluorescencji, dlatego poddawane są reakcji derywatywacji z monobromobimanem (Schemat 3) bądź 1,4-diaminobenzenem (Schemat 2), co opisano w sekcji 2.4. Powstała pochodna siarczku z monobromobimanem jest separowana, od innych składników próbki, na kolumnach niepolarnych w odwróconym układzie faz [31, 41]. Opisana w literaturze metoda oznaczania całkowitego stężenia siarczków w krwi i płynie z jamy wieloszczetów (*Riftia Pachyptila*) charakteryzuje się dużą czułością, granica wykrywalności wyznaczona dla roztworów standardowych jest równa $0,4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ [31]. Powtarzalność i odtwarzalność metody, wyrażona względnym odchyleniem standardowym, wynosi odpowiednio 0,5% i 5,0%. Uzyskano liniową zależność wskaźników detektora od stężenia siarczków dla dwóch zakresów: 0–150 i 150–800 $\mu\text{mol/l}$.

Stężenia siarczków uwolnionych w niskim pH, w próbkach krwi i płynie z jamy wynosiły odpowiednio $354 \pm 23 \mu\text{mol/l}$ i $73 \pm 58 \mu\text{mol/l}$. Metoda ta pozwala na równoczesne oznaczanie, obok siarkowodoru, tiosiarczanów, cysteiny i glutationu. W przypadku oznaczania siarki związanej w surowicy krwi człowieka próbki poddawane były redukcji z ditiotreitolem, przepływowej dializie, derywatywacji z monobromobimananem i analizie HPLC [41]. Czulość metody pozwala na oznaczenie siarczków związanych w stężeniu $0,5 \mu\text{mol/l}$. Stężenie siarczków uwolnionych ditiotreitolem w surowicy wynosiło $1,3 \pm 0,6 \mu\text{mol/l}$. Jeśli próbki surowicy nie były zredukowane ditiotreitolem, to nie wykryto w nich siarczków. Metodą tą równocześnie można oznaczać tiosiarczany i siarczany(IV). Technika chromatografii par jonowych (ang. *ion pair chromatography*) została zastosowana do oznaczania stężenia siarczków w krwinkach czerwonych [14]. Pochodna siarczków z 1,4-diaminobenzenem, tionina, była separowana od pozostałych składników próbki na kolumnie C-8, a odczynnikiem tworzącym pary jonowe był dodecylosiarczan sodu. Stężenia H_2S w upakowanych komórkach czerwonych krwi, dla dziesięciu zdrowych osób, mieściły się w przedziale $0,123\text{--}0,189 \mu\text{mol/l}$. Opisana metoda jest czuła i precyzyjna, granica wykrywalności wynosi $1,5 \text{ nmol/l}$ a względne odchylenie standardowe (RSD) nie przekracza 9%. Wadą tej metody jest niski odzysk siarczków dodanych do czerwonych komórek krwi, wynoszący 54,1–60,5%.

Detektory elektrochemiczne stosowane w HPLC umożliwiają bezpośrednie oznaczanie siarczków bez konieczności przeprowadzania reakcji derywatywacji. Najczęściej stosowane jest połączenie detekcji elektrochemicznej z chromatografią jonową [12, 13, 29]. W celu oznaczenia stężenia siarczków w kale oraz pełnej krwi człowieka, próbki po mikrodestylacji (sekcja 2.3.) były separowane na kolumnie jonitowej, a sygnał rejestrowany za pomocą detektora elektrochemicznego z pracującą elektrodą srebrową [12]. Opisana metoda jest czuła i precyzyjna, granica wykrywalności wynosi $2,5 \mu\text{mol/l}$, a RSD 3,9%. Krzywa kalibracyjna ma charakter liniowy w zakresie stężeń $10\text{--}1000 \mu\text{mol/l}$. Stężenia siarczków w kale 15 ochotników, w zależności od ilości spożytego mięsa, rosło od 164 nmol/g do 754 nmol/g mokrej masy. W pełnej krwi nie zaobserwowano takiej zależności i stężenie siarczków mieściło się w przedziale $25\text{--}47 \mu\text{mol/l}$. Wadą tej metody jest osadzanie siarczku srebra na powierzchni elektrody pracującej, w związku z tym elektroda była czyszczona codziennie, po wykonaniu 80 analiz. Opisana metoda została również zastosowana do badania wpływu metali i azotanów na stężenie siarkowodoru [13]. Połączenie chromatografii jonowej z detekcją konduktometryczną zastosował Ubuka [29] do oznaczania siarkowodoru i kwasowo labilnej siarki w homogenatach serca i wątroby szczura. Siarkowódór był oznaczany po utlenieniu do siarczanów(VI) nadtlenkiem wodoru w środowisku alkalicznym. Metoda pozwala na wykrycie 20 pmol siarczanów(VI). Charakter liniowy krzywej kalibracyjnej był sprawdzony dla zakresu $0,3\text{--}10 \text{ nmol}$. W badanych próbkach wątroby i serca nie znaleziono wolnego siarkowodoru. Metoda pozwala na równoczesne oznaczanie tiosiarczanów.

3.3. CHROMATOGRAFIA GAZOWA

W chromatografii gazowej (GC) najbardziej rozpowszechnionym detektorem jest detektor płomieniowo-jonizacyjny. Do oznaczania siarkowodoru w próbkach biologicznych techniką GC najczęściej stosowane są dwie odmiany tego detektora: detektor płomieniowo-fotometryczny, który jest selektywny względem związków fosforu i siarki oraz detektor siarkowy chemiluminescencyjny, który służy do wykrywania bardzo małych ilości związków siarki. Połączenie chromatografu gazowego z detektorem siarkowym chemiluminescencyjnym zastosowano do oznaczania siarkowodoru w homogenatach wątroby i mózgu myszy [32] oraz śledzenia metabolizmu siarkowodoru i metanotolu w błonie śluzowej jelita ślepego [27]. W obu przypadkach autorzy wykorzystują kolumnę pakowaną i azot jako gaz nośny. Zastosowanie opisanych w artykule warunków chromatograficznych [32] pozwala na wykrycie 1 ppb H_2S w pikie. Analizie chromatograficznej poddawany był gaz pobrany z tkanek homogenatu. W homogenatach wątroby i mózgu ośmiu myszy stężenie siarkowodoru wynosiło odpowiednio $17 \pm 2,6$ nmol/l i $14 \pm 3,0$ nmol/l. Natomiast detektor płomieniowo-fotometryczny został użyty do oznaczenia H_2S i kwasowo labilnej siarki w homogenatach serca i wątroby szczura [29]. Liniowość krzywej kalibracyjnej była sprawdzona dla zakresu 10–100 nmol siarczku sodu dodanego do próbki przed jej ekstrakcją gaz–ciecz. Odzysk metody obliczony dla różnych stężeń siarczku sodu dodanego do homogenatu tkanek wynosi $103,2 \pm 6,5\%$. W badanych próbach wątroby i serca nie znaleziono wolnego siarkowodoru, zaś stężenie kwasowo labilnej siarki wynosiło odpowiednio $112,2 \pm 23,0$ i $274,1 \pm 34,6$ nmol/g mokrej tkanki. Metodę opisaną w 1977 do oznaczania związków zawierających siarkę w powietrzu miejskim [44], stosującą detektor płomieniowo-fotometryczny, zastosowano do wyznaczenia stężenia H_2S w homogenatach mózgu myszy [9] i człowieka [10]. W próbkach mózgu, pobranych podczas sekcji od osób bez i z chorobą Alzheimera, średnie stężenia siarkowodoru wynosiły odpowiednio $0,49 \pm 0,07$ i $0,22 \pm 0,05$ nmol/mg białka [10]. W mózgach myszy nie wytwarzających CBS nie stwierdzono obecności H_2S , podczas gdy w mózgu dzikich myszy stężenie H_2S było równe $16,0 \pm 0,32$ nmol/mg białka [9].

Połączenia chromatografu gazowego z detektorem termokonduktometrycznym użyto do wyznaczenia rozmieszczenia siarkowodoru w organach szczurów odurzonych siarkowodorem [11]. Metoda charakteryzuje się dobrą powtarzalnością, wyrażoną jako względne odchylenie standardowe, wynoszącą 5,84%. Krzywą kalibracyjną sporządzono dla zakresu 0,22–5 mg/10 ml H_2S .

3.4. METODY ELEKTROANALITYCZNE

Wśród metod elektroanalitycznych, stosowanych do oznaczania siarkowodoru w próbkach biologicznych, najbardziej rozpowszechnioną jest metoda potencjometryczna. Wykorzystuje ona zależność między stężeniem oznaczanego jonu w roz-

tworze (siarczków) a potencjałem elektrycznym odpowiedniej elektrody. Do oznaczania H_2S rozpuszczonego w roztworach wodnych stosuje się elektrodę jonoselektywną wrażliwą na siarczki. Posiada ona stałą membranę wykonaną z monokryształu siarczku srebra. Dobre przewodnictwo i bardzo mała rozpuszczalność siarczku srebra sprawiają, że elektroda ta jest jedną z najlepszych elektrod wskaźnikowych. Jest ona czuła na anion siarczkowy i kation srebra w zakresie stężeń $1-10^{-20}$ mol/l, nie jest wrażliwa na obecność innych powszechnie występujących anionów, za wyjątkiem jonów rtęci(II). Metodę potencjometryczną zastosowano do oznaczania zawartości siarkowodoru w osoczu [22, 45] i surowicy [36] oraz do badania produkcji H_2S przez komórki wątroby [35]. Próbkę przed pomiarem alkalizowano i mieszano z buforem zawierającym antyutleniacze [22, 35, 36]. Dodanie wodorotlenku sodu czy potasu do próbek powoduje przesunięcie stałej dysocjacji H_2S i HS^- w kierunku jonów siarczkowych. Stężenie siarkowodoru obliczano na podstawie krzywej kalibracyjnej sporządzonej dla standardowych roztworów siarczków. W osoczu krwi dzieci zdrowych i z samoistnym nadciśnieniem stężenie H_2S wynosiło $65,7 \pm 5,5$ i $51,9 \pm 6,0$ $\mu\text{mol/l}$ [22]. Stężenia siarkowodoru w surowicy osób zdrowych i z obturacyjną chorobą płuc mieściło się odpowiednio w zakresach $33,0-37,9$ $\mu\text{mol/l}$ i $28,1-51,1$ $\mu\text{mol/l}$ [36]. Wadą metody potencjometrycznej jest osadzanie się na elektrodzie siarczkowej substancji zawartych w próbkach biologicznych.

Obok metody potencjometrycznej, stosowanej do oznaczaniu siarkowodoru w próbkach biologicznych, znalazła zastosowanie metoda polarograficzna [19, 30]. Opracowana metoda oznaczania siarkowodoru w homogenatach tkanek, wykorzystująca czujnik polarograficzny PHSS (ang. *Polarographic Hydrogen Sulfide Sensor*) jest czuła i precyzyjna. Limit detekcji określono na 10 nmol/l, a dokładność metody, wyznaczona przy stężeniu siarkowodoru 20 $\mu\text{mol/l}$, wynosiła $\pm 3\%$ [19]. Działanie PHSS nie jest zakłócanie obecnością licznych soli i związków biologicznych w badanych roztworach, dzięki zastosowaniu specjalnej polimerowej membrany przepuszczalnej tylko dla siarkowodoru. Praca czujnika nie jest zakłócana przez obecność tlenu, tlenku azotu(II), nadtlenu wodoru, a także siarczanów(IV) bądź (VI) sodu, oraz innych związków zawierających siarkę takich jak cysteina, glutation, cystyna, czy homocysteina. Jedynie obecność cyjanku potasu i acetonu w badanej próbce może powodować zakłócenie mierzonego sygnału. Metoda polarograficzna została zastosowana do śledzenia metabolizmu siarkowodoru w homogenatach tkanek szczura [19] i pstrąga [30].

PODSUMOWANIE

Ze względu na dużą złożoność próbki biologicznej i właściwości fizykochemiczne siarkowodoru, oznaczanie jego stężenia jest procesem wieloetapowym, przez co niełatwym. Wpływ na wyniki oznaczeń ma niestabilność siarczków, ich lotność, podatność na utlenianie, adhezja na powierzchni szkła, błędne uwalnianie siarko-

wodoru pod wpływem różnych reagentów. Te zjawiska mogą prowadzić do zaniżenia lub podwyższenia zawartości siarkowodoru w badanych próbkach.

Spektrofotometryczna metoda oznaczania siarczków, zwana metodą błękitu metylenowego, posiada prostą procedurę przygotowania próbek i nie wymaga skomplikowanej aparatury do wykonania oznaczeń. Jednak stosowanie tej metody do próbek biologicznych daje wyniki obarczone błędem, gdyż dodawane do próbek odczynniki (4-amino-*N,N*-dimetyloanilina, czy FeCl_3) rozpuszczone są w HCl. Dodanie kwasu do próbek biologicznych będzie powodowało uwalnianie siarkowodoru ze związków zawierających w swojej budowie siarkę kwasowo labilną. Tym samym błędem obarczone będą również metody HPLC i GC, jeśli na etapie przygotowania próbek, podczas upraszczania matrycy, zastosowane zostaną procedury mikrodestylacji czy ekstrakcji, wykorzystujące odczynniki zawierające kwasy. W przypadku metody potencjometrycznej badane próbki mieszane są z wodorotlenkiem sodu o stężeniu 0,1 mol/l, co może powodować łatwe utlenianie siarczków.

Większość opisanych w literaturze metod nie różnicuje wolnego siarkowodoru, kwasowo labilnej siarki i siarki związanej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.N. Hughes, M.N. Centelles, K.P. Moore, *Free Radical. Bio. Med.*, 2009, **47**, 1346.
- [2] L. Li, P.K. Moore, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2008, **29**, 84.
- [3] M. Whiteman, P.K. Moore, *J. Cell. Mol. Med.*, 2009, **13**, 488.
- [4] L. Ferrer, M. Miró, J.M. Estela, V. Cerdá, *Trends Anal. Chem.*, 2007, **26**, 413.
- [5] N.S. Lawrence, J. Davis, R.G. Compton, *Talanta*, 2000, **52**, 771.
- [6] T. Ubuka, *J. Chromatogr. B*, 2002, **781**, 227.
- [7] M. Ishigami, K. Hiraki, K. Umemura, Y. Ogasawara, K. Ishii, H. Kiura, *Antioxid. Redox. Signal.*, 2009, **11**, 205.
- [8] A. Tangermana, *J. Chromatogr. B*, 2009, **877**, 3366.
- [9] K. Eto, M. Ogasawara, K. Umemura, Y. Nagai, H. Kimura, *J. Neurosci.*, 2002, **22**, 3386.
- [10] K. Eto, T. Asada, K. Arima, T. Makifichi, H. Kimura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, **293**, 1485.
- [11] R. Wachowiak, J. Tobolski, B. Miśkowiak, *Problems Forensic Scienc.*, 2000, **43**, 275.
- [12] C.J. Richardson, E.A.M. Magee, J.H. Cummings, *Clin. Chim. Acta*, 2000, **293**, 115.
- [13] T. Mitsui, L.M. Edmond, E.A. Magee, J.H. Cummings, *Clin. Chim. Acta*, 2003, **335**, 131.
- [14] Y. Ogasawara, K. Ishii, T. Togawa, S. Tanabe, *Analyst*, 1991, **116**, 1359.
- [15] L. Włodek, M. Iciek, *Cysteina. Metabolizm, biologiczna rola i przyczyny toksyczności*, [w:] *Biotiole w warunkach fizjologicznych, patologicznych i w terapii*, L. Włodek, red., Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, 2003.
- [16] K. Qu, S.W. Lee, J.S. Bian, C.M. Low, P.T.H. Wong, *Neurochem. Int.*, 2008, **52**, 155.
- [17] E. Łowicka, J. Bełtowski, *Pharmacol. Rep.*, 2007, **59**, 4.
- [18] J.D. Finkelstein, *Eur. J. Pediatr.*, 1998, **157**, S40.
- [19] J.E. Doeller, T.S. Isbell, G. Benavides, J. Koenitzer, H. Patel, R.P. Patel, J.R. Lancaster, V.M. Darley-Usmar, D.W. Kraus, *Anal. Biochem.*, 2005, **341**, 40.
- [20] C.W. Leffler, H. Parfenova, J.H. Jaggar, R. Wang, *J. Appl. Physiol.*, 2006, **100**, 1065.
- [21] J. Bełtowski, *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004, **58**, 285.

- [22] L. Chen, S. Ingrid, Y.G. Ding, Y. Liu, J.G. Qi, C.S. Tang, J.B. Du, *Clin. Med. J.*, 2007, **120**, 389.
- [23] K. Qu, C.P.L.H. Chen, B. Halliwell, P.K. Moore, P.T.H. Wong, *Stroke*, 2006, **37**, 889.
- [24] H. Wei, C. Zhang, H. Jin, C. Tang, J. Du, *Acta Pharmacol. Sin.*, 2008, **29**, 670.
- [25] R. Tamizhselvi, P.K. Moore, M. Bhatia, *J. Cell. Mol. Med.*, 2007, **11**, 315.
- [26] A. Hulanicki, *Współczesna chemia analityczna*, PWN, Warszawa 2001.
- [27] M.D. Levitt, J. Furne, J. Springfield, F. Suarez, E. DeMaster, *J Clin. Invest.*, 1999, **104**, 1107.
- [28] A. Tangerman, G. Bongaerts, R. Agbeko, B. Semmekrot, R. Severijnen, *J Clin. Pathol*, 2002, **55**, 631.
- [29] T. Ubuka, T. Abe, R. Kajikawa, K. Morino, *J. Chromatogr. B*, 2001, **757**, 31.
- [30] N.L. Whitfield, E.L. Kreimier, F.C. Verdial, N. Skovgaard, K.R. Olson, *Am. J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2008, **294**, R1930.
- [31] C. Gru, P.M. Sarradin, H. Legoff, S. Narcon, J.C. Caprais, F.H. Lallier, *Analyst*, 1998, **123**, 1289.
- [32] J. Furne, A. Saeed, M.D. Levitt, *Am. J. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2008, **295**, R1479.
- [33] G. Yang, W. Yang, L. Wu, R. Wang, *J. Biol. Chem.*, 2007, **282**, 16567.
- [34] L. Li, M. Bhatia, Y.Z. Zhu, Y.C. Zhu, R.D. Ramnath, Z.J. Wang, F.B.M. Anuar, M. Whiteman, M. Salto-Tellez, P.K. Moore, *FASEB*, 2005, **19**, 1196.
- [35] E. Distrutti, A. Mencarelli, L. Santucci, B. Renga, S. Orlandi, A. Donini, V. Shah, S. Fiorucci, *Hepatology*, 2008, **47**, 659.
- [36] Y.H. Chen, W.Z. Yao, B. Geng, Y.L. Ding, M. Lu, M.W. Zhao, C.S. Tang, *Chest*, 2005, **128**, 3205.
- [37] E.A. Guenther, K.S. Johnson, K.H. Coale, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 3481.
- [38] E. Bald, *Acta Univ. Lodz., Folia Chim*, 2004, **13**, 179.
- [39] J.M. Small, H. Hintelmann, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **387**, 2881.
- [40] T.J. Hurse, W.P.P. Abeydeera, *J. Chromatogr. A*, 2002, **942**, 201.
- [41] T. Togawa, M. Ogawa, Y. Ogasawara, K. Kawanabe, S. Tanabe, *Chem. Pharm. Bull.*, 1992, **40**, 3000.
- [42] C. Polson, P. Sarkar, B. Inledon, V. Raguvaran, R. Grant, *J. Chromatogr. B*, 2003, **785**, 263.
- [43] Z.K. Shihabi, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.*, 2008, **31**, 3159.
- [44] Y. Hoshika, Y. Iida, *J. Chromatogr. A*, 1977, **134**, 423.
- [45] L. Chang, B. Geng, F. Yu, J. Zhao, H. Jiang, J. Du, C. Tang, *Amino Acids*, 2008, **34**, 573.

Praca wpłynęła do Redakcji 10 lutego 2010

**RELACJA POMIĘDZY WIĄZANIEM
WODOROWYM WSPOMAGANYM REZONANSEM
A AROMATYCZNOŚCIĄ**

INTERPLAY BETWEEN RESONANCE-ASSISTED
HYDROGEN BOND AND AROMATICITY

Marcin Palusiak

*Katedra Krystalografii i Krystalochemii,
Wydział Chemii Uniwersytetu Łódzkiego,
ul. Tamka 12, 91-403 Łódź,
e-mail: marcinp@uni.lodz.pl*

Abstract

1. Wiązanie wodorowe wspomagane rezonansem
2. Sekstet Clara i struktury Clara
3. Motyw wiązania wodorowego wspomaganego rezonansem w pochodnych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr Marcin Palusiak. ukończył Technikum Chemiczne w Łodzi, a następnie w roku 2001 studia chemiczne na Wydziale Chemii i Fizyki Uniwersytetu Łódzkiego, tam też rozpoczął pracę jako asystent w ówczesnej Katedrze Krystalografii (obecnie Katedra Krystalografii i Krystalochemii). W cztery lata później obronił pracę doktorską, której promotorem był prof. dr hab. Sławomir J. Grabowski. Obecnie pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Krystalografii i Krystalochemii. Przygotował rozprawę habilitacyjną pt. *Efekty π -elektronowe i ich rola w oddziaływaniach wewnątrzcząsteczkowych w cząsteczkach*

związków organicznych i metaloorganicznych (na etapie recenzji od stycznia 2010). Odbywał staże naukowe w kilku renomowanych (krajowych i zagranicznych) ośrodkach badawczych, m.in.: na Uniwersytecie Warszawskim, Uniwersytecie w Gironie, Uniwersytecie w Ratyźbonie, Uniwersytecie w Amsterdamie (VU). Jego zainteresowania naukowe skupiają się wokół tematyki związanej z naturą wiązania chemicznego, słabymi oddziaływaniami wewnątrz i międzycząsteczkowymi, analizą topologiczną rozkładu gęstości elektronowej, efektami π -elektronowymi oraz aromatycznością. W swoich badaniach stosuje metody obliczeniowe bazujące na teorii kwantowo-chemicznej oraz techniki dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego w kryształach związków organicznych i metaloorganicznych. Jest autorem lub współautorem ponad czterdziestu publikacji naukowych o zasięgu międzynarodowym oraz licznych wystąpień konferencyjnych w kraju i za granicą.

ABSTRACT

Among the so called non-covalent interactions the hydrogen bond (H-bond) is probably the most frequently and the most thoroughly investigated. This is due to the fact that H-bond plays an essential role in many physical, chemical and biochemical processes. The strongest H-bonds are those assisted with additional effects, as for instance the resonance assisted H-bonds (RAHBs). The concept of RAHB was first proposed by Gilli and co-workers in 1989, and with the time it has become one of the most thoroughly investigated aspects from the field of structural chemistry. Originally, the definition of RAHB was directly connected with the resonance effect acting in RAHB motif (either intra- or intermolecular). Many scientists were exploring the phenomena of the RAHB. Thus, some controversies appeared in connection with the extra stabilization of the RAHB if comparing with its “*non-resonance-assisted*” counterparts. Some authors criticized the original explanation introduced by Gilli et al. and proposed alternative mechanism responsible for the relatively stronger H-bonding in the RAHB motifs. Since the resonance effect accompanying the formation of H-bridge in RAHBs is in fact a π -electron effect, it may interact with other π -electron effects acting in specific molecules, e.g. with substituent effect or aromatic π -electron delocalization. In this way the mutual interaction between different π -electron effects may occur, which may influence many physical and chemical properties of molecular systems under consideration, as for instance the strength of RAHB, local aromaticity, proton transfer barrier and many others.

In this paper a short review on the current state of knowledge on RAHB will be presented. The special attention will be paid onto the interrelation between RAHB and local aromaticity in derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons.

Keywords: resonance-assisted hydrogen bond, π -electron effect, aromaticity, aromatic hydrocarbons

Słowa kluczowe: wiązanie wodorowe wspomagane rezonansem, efekt π -elektronowy, aromatyczność, węglowodory aromatyczne

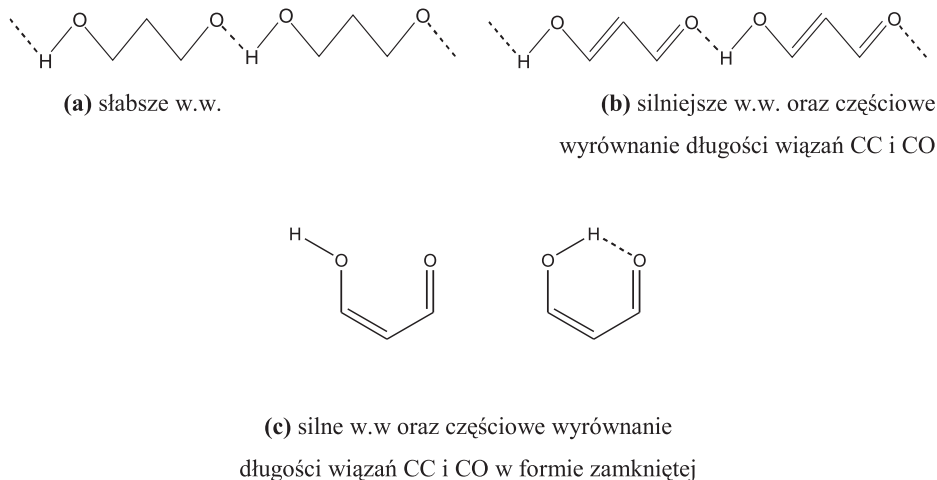
wspomnieć, że również w przypadku oddziaływania van der Waalsa powszechnie postrzeganych jako oddziaływania bezkierunkowe zaobserwowany był ich ukierunkowany charakter [21]. Kierunkowość wiązania wodorowego wpływa istotnie na sposób rozmieszczenia cząsteczek w kryształach [22, 23] oraz na budowę makromolekuł (np. strukturę drugorzędową białek) [9, 24, 25].

Istnieje szereg kryteriów umożliwiających oszacowanie mocy wiązania wodorowego. Prawdopodobnie najczęściej stosowane z uwagi na ich powszechną dostępność są kryteria geometryczne [26]. Jest ogólnie wiadomym, że im krótszy kontakt $H...A$, tym silniejsze wiązanie wodorowe. Często stosowanym kryterium jest odległość $D...A$, która przy uwzględnieniu wartości kąta $D-H...A$, jest związana z mocą wiązania wodorowego, podobnie jak odległość $H...A$. To ostatnie kryterium jest szczególnie powszechne w krystalograficznych badaniach rentgenowskich z uwagi na ograniczoną możliwość wyznaczenia dokładnego położenia atomów wodorowych. Jak powszechnie wiadomo, atom wodoru formalnie posiada tylko jeden elektron, nie posiada natomiast wewnętrznych powłok elektronowych. Ponadto, elektron pochodzący od atomu wodoru zazwyczaj jest zaangażowany w tworzenie wiązania kowalencyjnego. W rezultacie gęstość elektronowa pochodząca od atomu wodoru jest relatywnie niewielka, a jej maksimum jest przesunięte względem jądra atomu wodoru w kierunku atomu związanego kowalencyjnie z atomem wodoru. Z drugiej strony dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego zachodzi w wyniku interakcji z elektronami. Stąd właśnie wyznaczenie dokładnego położenia atomu wodorowego jest trudne w oparciu o metody rentgenografii strukturalnej.

Jak już wcześniej wspomniano, liniowa geometria mostka wodorowego jest najkorzystniejsza, stąd najsilniejsze wiązania wodorowe zazwyczaj charakteryzują się właśnie liniową geometrią. Wykazano również, że w przypadku niektórych układów protono-donorowych (najczęściej grupy O-H) utworzeniu wiązania wodorowego towarzyszy wydłużenie wiązania D-H [26]. To ostatnie zjawisko pozwala na stosowanie kryteriów spektroskopowych, bowiem wydłużenie danego wiązania donorowego, np. O-H, w widmie IR skutkuje przesunięciem drgania charakterystycznego w kierunku fal czerwonych – mówi się o tzw. *red-shifting hydrogen bonds*. Znane są też wiązania wodorowe, w których przesunięcie drgania charakterystycznego zachodzi w kierunku przeciwnym (są to tzw. *blue-shifting hydrogen bonds*) zwane też niewłaściwymi wiązaniami wodorowymi – *improper hydrogen bonds*) [27–29]. Metody chemii kwantowej pozwalają na bezpośrednie wyznaczenie mocy wiązania wodorowego w oparciu o parametry energetyczne układów oddziałujących poprzez to wiązanie. W tym przypadku najczęściej stosuje się podejście bazujące na metodzie supermolekularnej [30]. W przypadku wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych istnieją ograniczenia wynikające z trudności w zdefiniowaniu podukładów. W takim przypadku, o ile to możliwe, najczęściej dokonuje się porównania parametrów energetycznych izomerów konformacyjnych, różniących się obecnością bądź brakiem wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego – podejście to, będzie bliżej omówione w dalszej części pracy. Skutecznym narzędziem do oceny

mocy wiązania wodorowego jest również analiza własności funkcji gęstości elektronowej w oparciu o teorię kwantową o nazwie „Atomy w cząsteczkach” (ang. *Atoms-in-molecules Quantum Theory*, AIMQT) [31, 32]. Metoda AIMQT pozwala na: oszacowanie mocy wiązania wodorowego lub dowolnego innego wiązania chemicznego w oparciu o lokalne właściwości funkcji gęstości elektronowej, mierzone w charakterystycznych dla rozpatrywanego oddziaływania ekstremach funkcji; a także na skuteczne szacowanie mocy wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, w przypadku których nie jest możliwe zastosowanie metody supermolekularnej.

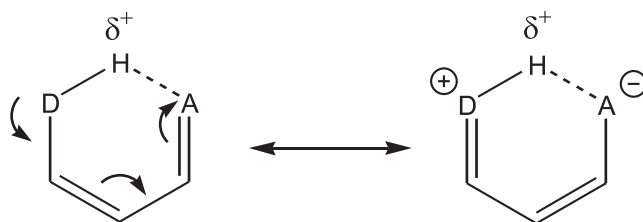
Najsilniejsze wiązania wodorowe, a więc te które mają największy wpływ na oddziałujące cząsteczki, to wiązania wodorowe wspomagane dodatkowymi efektami. Jednym z rodzajów takich oddziaływań są wiązania wodorowe wspomagane rezonansem (ang. *resonance-assisted hydrogen bonds*, RAHB). Po raz pierwszy koncepcja RAHB została zaproponowana przez Gastone Gilli i jego współpracowników w 1989 roku [33] – zauważyli oni, że w motywach cząsteczkowych, dla których układ donorowy i akceptorowy protonu powiązane są sekwencją wiązań umożliwiających sprzężenie π -elektronowe (w efekcie rezonansowym), wiązania wodorowe są względnie silniejsze od tych w których takie sprzężenie nie może wystąpić. Ponadto zauważyli, że w przypadku tego typu motywów cząsteczkowych utworzeniu wiązania wodorowego towarzyszy skrócenie wiązań formalnie pojedynczych oraz wydłużenie wiązań formalnie podwójnych. Schemat 2 przedstawia cząsteczkowe motywy wiązań wodorowych, w których występują zjawiska zaobserwowane przez Gilliego i in. [33].



Schemat 2. Przykładowe struktury cząsteczkowe rozpatrywane przez Gilliego i in. (ww. oznacza wiązanie wodorowe)

Scheme 2. Example molecular structures considered by Gilli et al.

Zgodnie z założeniami koncepcji RAHB oddziaływanie to jest dodatkowo stabilizowane przez udział odpowiedniej struktury rezonansowej. Pierwowzorem dla wewnątrzcząsteczkowego oddziaływania typu RAHB jest cząsteczka aldehydu malonowego, która może występować w formie *quasi*-pierścienia utworzonego poprzez mostek wodorowy (Schemat 2c) – tworzeniu wiązania wodorowego towarzyszy skrócenie wiązań C-O, C-C oraz wydłużenie wiązań C=O, C=C. Łatwo zauważyć, że sekwencja wiązań formalnie pojedynczych i podwójnych pozwala w tym przypadku na sprzężanie π -elektronowe donora i akceptora protonu. Można to przedstawić za pomocą udziału struktury rezonansowej pokazanej na Schemacie 3.



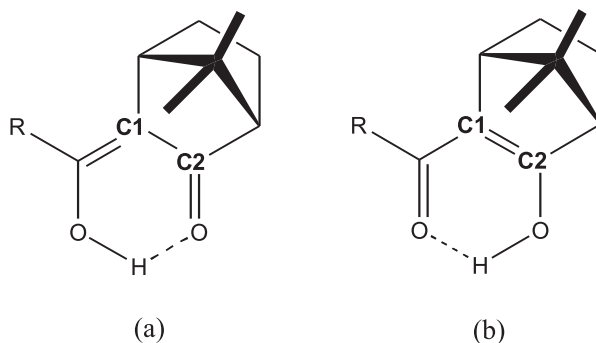
Schemat 3. Efekt rezonansowy w aldehydzie malonowym
Scheme 3. Resonance effect in malonaldehyde

Jak widać na Schemacie 3 udział formy rezonansowej z rozdzielonym ładunkiem będzie przyczyniał się do obniżenia ładunku cząstkowego we fragmencie donorowym protonu, zwiększając jego właściwości elektrono-akceptorowe. W wyniku tego atom **D** będzie silniej ściągał ładunek z przyłączonego atomu wodoru, skutecznie odsłaniając proton, a tym samym zwiększając cząstkowy ładunek dodatni na atomie wodoru. Jednocześnie udział tej formy rezonansowej będzie zwiększał nadmiar ładunku ujemnego na akceptorze protonu **A**, zwiększając jego właściwości protonoakceptorowe. Taki mechanizm wspomaganie wiązania wodorowego rezonansem można również zastosować w przypadku oddziaływania międzycząsteczkowego (Schemat 2b).

Chociaż w oryginalnej koncepcji RAHB Gilli i in. wskazali, iż wiązania wodorowe tego typu mogą być oddziaływaniami zarówno między- jak i wewnątrzcząsteczkowymi to jednak w dalszym etapie badań skupili swoją uwagę głównie na oddziaływaniach wewnątrzcząsteczkowych [34–39]. Od czasu wprowadzenia pojęcia RAHB jest ono jednym z częściej analizowanych zagadnień chemii strukturalnej. Warto również dodać, że RAHB często rozpatrywane jest w kontekście przeniesienia protonu w mostku wodorowym. Ma to związek z tym, że wiązania wodorowe tego typu najczęściej charakteryzują się niską barierą przeniesienia protonu. [8, 40]

W roku 1997 ukazała się publikacja [41], w której Ramos i in. zaproponowali alternatywne wyjaśnienie wzmocnienia wiązania wodorowego Gilliego i in. [33]. Zgodnie z tym alternatywnym wyjaśnieniem wzmocnienie oddziaływania w analogach aldehydu malonowego jest raczej efektem geometrycznym, nie zaś efektem

związanym z udziałem form rezonansowych, sprzyjającym wystąpieniu wiązania wodorowego (Schemat 4).



Schemat 4. Układy cząsteczkowe badane w pracy [41]
Scheme 4. Molecular motifs investigated in ref. [41]

Zgodnie z argumentacją Ramosa i in. [41] odległość między atomami węgla **C1** i **C2** (Schemat 4) jest większa w układzie cząsteczkowym (a), w porównaniu z układem cząsteczkowym (b) – jak uzasadniają, jest to bezpośrednio związane z naprężeniem występującym w pierścieniu węglowym, które w rezultacie prowadzi do wydłużenia wiązania **C1-C2**. W konsekwencji odległość w mostku wodorowym dla układu (b) (Schemat 4) jest większa od tej w układzie (a) – prowadzi to do różnic w mocy wiązania wodorowego. Na tej podstawie ci sami autorzy postulują, że silniejsze wiązanie wodorowe w układzie (a), to efekt mniejszej odległości w mostku wodorowym, będącej wynikiem relatywnie krótszego wiązania **C1-C2**. W dalszym etapie prac rozwinęto koncepcję alternatywną do tezapropozowanej przez Gilliego i in. [33], argumentując, że wzmocnienie wiązania wodorowego w układach typu RAHB jest związane z efektem σ -elektronowym, głównie geometrycznym, nie zaś efektem π -elektronowym, związanym z delokalizacją (rezonans) w odpowiednich motywach pierścieniowych [42–44]. Łatwo dostrzec tu analogię do sporu o pochodzenie innego, istotnego z punktu widzenia chemii, zjawiska, tj. aromatyczności. (Zainteresowanym zjawiskiem aromatyczności gorąco polecam tematyczne wydanie *Chemical Reviews* oraz dwa artykuły, które ukazały się w języku polskim w *Wiadomościach Chemicznych* [45]). Od wielu lat na łamach pism specjalistycznych prowadzona jest dyskusja, w której część specjalistów opowiada się za aromatycznością, jako efektem π -elektronowym, związanym z delokalizacją wiązań typu π , natomiast inna część specjalistów kontrargumentuje postulując, że wyrównanie wiązań np. w układach benzenoidowych jest efektem wpływu wiązań typu σ [46, 47]. Należy jednak podkreślić, że krytyka koncepcji Gilliego i in. [33] została zbudowana na bazie analizy jedynie wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, w przypadku których zawsze kontrowersyjne jest określenie mocy oddziaływania (wspomniany wcześniej problem z definicją oddziałujących podukładów). Przenie-

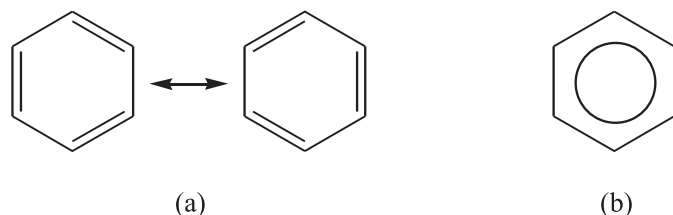
sienie argumentacji przeciwników koncepcji RAHB na grunt oddziaływań międzycząsteczkowych zakończyłoby się niepowodzeniem – bowiem jak wyjaśnić silniejsze wiązanie wodorowe w układach pokazanych na Schemacie 2b względem tych ze Schematu 2a, jeśli nie udziałem odpowiednich struktur rezonansowych z rozdzielonym ładunkiem. W przypadku oddziaływań międzycząsteczkowych nie może wystąpić wymuszone przez efekty σ -elektronowe skrócenie odległości H...A. W ciągu ostatnich lat pojawiło się wiele prac (niektóre dyskutowane w dalszej części tego artykułu), w których wykazywana jest ścisła relacja pomiędzy mocą wiązania wodorowego typu RAHB, a strukturą π -elektronową układów [40, 48–65].

Należałoby nadmienić, że charakter wiązania **C1-C2** przedstawionego na Schemacie 4 ma faktycznie istotne znaczenie dla mocy RAHB, jednak rola ta raczej sprowadza się do udziału elektronów π w tym wiązaniu i możliwości ich zaangażowania w efekt rezonansu zachodzący w motywie RAHB, co wykazano na podstawie analizy prądów kołowych generowanych w modelowych układach pochodnych *o*-hydroksy-zasad Schiffa [66].

Warto też wspomnieć, że dokonano szczegółowej analizy efektu podstawnikowego w aldehydzie malonowym i dowiedziono, że *quasi*-pierścien, powstały w wyniku wystąpienia wewnątrzcząsteczkowego RAHB posiada niektóre właściwości zbliżone do typowego pierścienia aromatycznego. Udowodniono również, że stopień delokalizacji elektronów π w *quasi*-pierścieniu można szacować za pomocą indeksów aromatyczności pierwotnie zdefiniowanych na potrzeby analizy układów aromatycznych. Ponadto stwierdzono, że efekt delokalizacji w tym pierścieniu jest powiązany z barierą przeniesienia protonu w mostku wodorowym [55].

2. SEKSTET CLARA I STRUKTURY CLARA

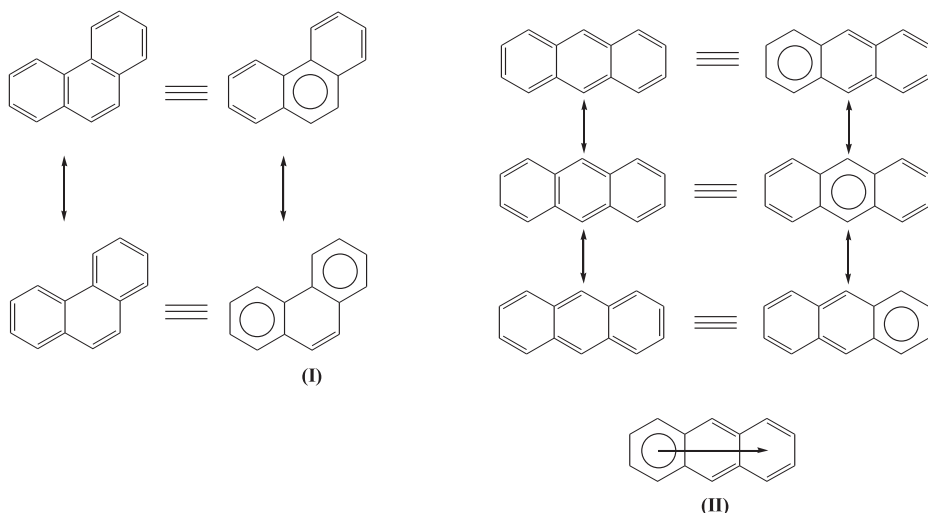
W 1970 roku Erwin Clar przedstawił oryginalny sposób spojrzenia na strukturę π -elektronową w aromatycznych układach benzenoidowych [67]. Otóż zaproponował on, żeby sześć elektronów π w pierścieniu np. benzenowym potraktować nie jako trzy *zdelokalizowane* wiązania podwójne, ale jako sekstet elektronów π *zlokalizowany* w danym pierścieniu. W przypadku pojedynczego pierścienia benzenowego różnica w podejściu wydaje się być jedynie formalna, polegająca na zastąpieniu opisu bazującego na dwóch równoważnych strukturach Kekulégo, opisem za pomocą pojedynczej struktury typu Clara (Schemat 5). Zasadnicza różnica pomiędzy zapisem Kekulégo i Clara pojawia się dopiero w przypadku układów wielopierścieniowych.



Schemat 5. Struktury rezonansowe benzenu zgodne z zapisem Kekulégo (a), oraz odpowiadająca im struktura Clara (b)

Scheme 5. Resonance structures of benzene according to Kekulé (a), and Clar (b), concept

Ponadto Clar zaproponował, że spośród wszystkich możliwych struktur rezonansowych, największy udział mają te, charakteryzujące się największą ilością pierścieni ze zlokalizowanym sekstem elektronów π . Struktury takie nazywa się strukturami Clara. Na Schemacie 6 przedstawione są wybrane struktury rezonansowe fenantrenu i antracenu oraz odpowiadające im struktury zgodnie z koncepcją Clara. Zgodnie z założeniami Clara w przypadku fenantrenu największy udział powinna mieć struktura **(I)**, ponieważ posiada ona maksymalną ilość pierścieni ze zlokalizowanym sekstem. W przypadku antracenu wzajemne rozmieszczenie pierścieni benzenowych pozwala na jednoczesne wystąpienie tylko jednego pierścienia ze zlokalizowanym sekstem, zatem każda z trzech struktur antracenu przedstawionych na Schemacie 6 powinna być równocenna (w tym przypadku mówi się o migrującym sekście Clara – patrz struktura **(II)** na Schemacie 6).



Schemat 6. Struktury rezonansowe fenantrenu i antracenu w ujęciu Kekulégo i Clara

Scheme 6. Resonance structures of phenanthrene and anthracene, according to Kekulé and Clar concept

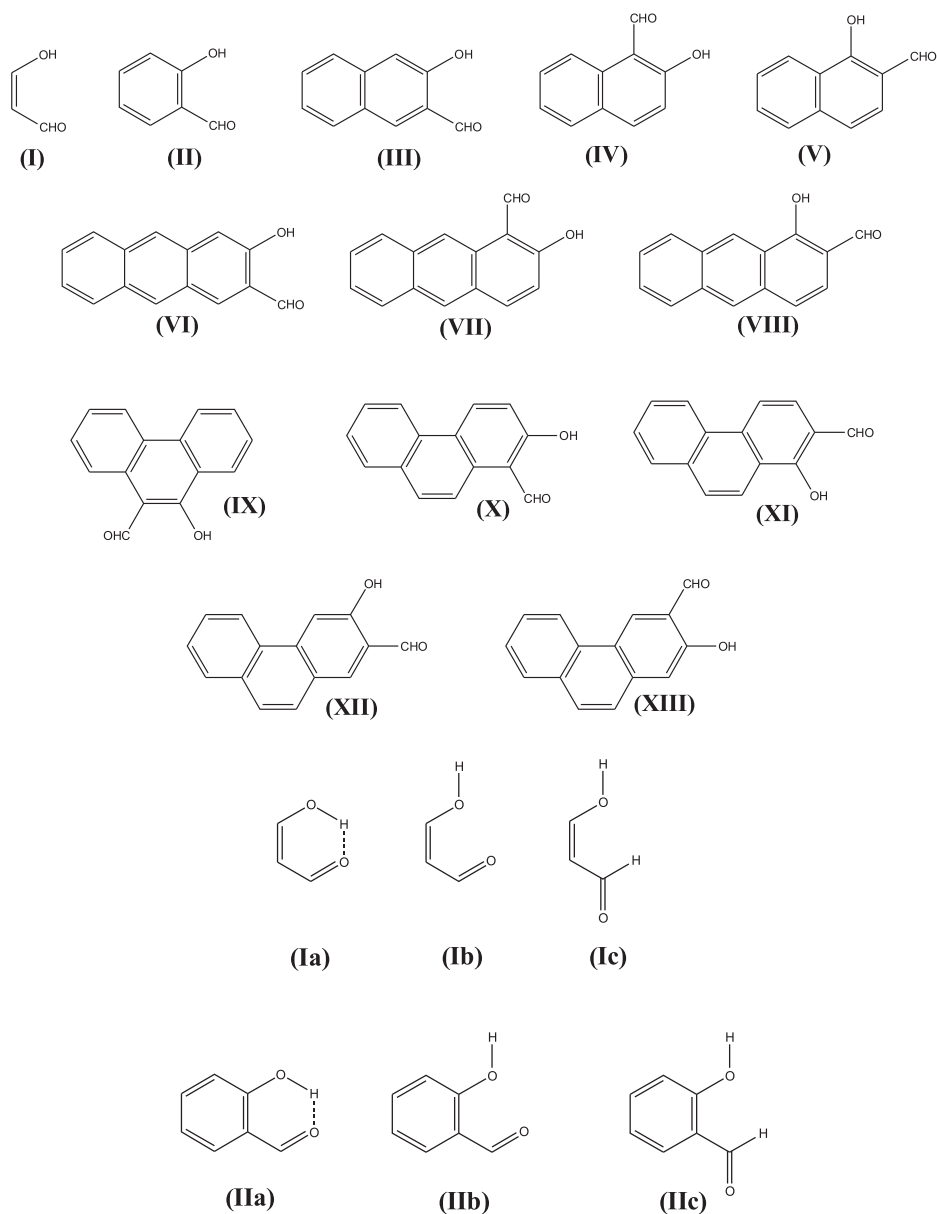
Przeprowadzono analizę lokalnej aromaticzności mierzonej za pomocą szeregu odpowiednich indeksów bazujących na parametrach geometrycznych (HOMA) [68, 69], magnetycznych (NICS) [70] oraz na dystrybucji gęstości elektronowej (PDI, FLU) [71, 72] i wykazano, że w wielopierścieniowych węglowodorach aromaticznych charakter aromaticzny indywidualnych pierścieni jest w ścisłej relacji z udziałem struktur typu Clara [73, 74]. Dowiedziono na przykład, że w przypadku fenantrenu pierścienie zewnętrzne wykazują zdecydowanie większą aromaticzność od pierścienia wewnętrznego, natomiast w antracenie wszystkie trzy pierścienie charakteryzują się zbliżonym stopniem delokalizacji. W ten sposób potwierdzono słuszność koncepcji Clara w oparciu o zaawansowane metody obliczeniowe oraz zestaw indeksów aromaticzności, bazujących na różnych właściwościach charakteryzujących układy aromaticzne.

Podążając za koncepcją Clara w wielopierścieniowych węglowodorach aromaticznych można wyróżnić cztery typy pierścieni benzenowych:

- Pierścienie ze zlokalizowanym sekstetem Clara, np. zewnętrzne pierścienie w fenantrenie (szczególny przypadek takiego pierścienia występuje w benzenie). Pierścienie te z reguły najwyraźniej wykazują aromaticzny charakter.
- Pierścienie z migrującym sekstetem Clara, np. pierścienie w antracenie (lub innych acenach). Charakteryzują się relatywnie mniejszą aromaticznością od pierścieni ze zlokalizowanym sekstetem Clara. W przypadku układów takich jak antracen można powiedzieć, że mierząc lokalną aromaticzność obserwuje się superpozycję równocennych struktur z sekstetem migrującym z pierścienia do pierścienia.
- Pierścień ze zlokalizowanym wiązaniem podwójnym, np. wewnętrzny pierścień w fenantrenie. Pierścienie te wykazują charakter słabo aromaticzny, a jedno z wiązań CC przejawia cechy wiązania podwójnego.
- Pusty pierścień Clara, który zgodnie z koncepcją Clara może wystąpić np. w cząsteczce trifenylu. Pierścień taki wykazuje charakter słabo aromaticzny.

3. MOTYW WIĄZANIA WODOROWEGO WSPOMAGANEGO REZONANSEM W POCHODNYCH WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH

Zarówno RAHB jak i aromaticzność to pojęcia ściśle powiązane z efektami π -elektronowymi. Stąd pojawiła się potrzeba przeanalizowania układów, w których obecne byłyby te dwa efekty. Przeprowadzono analizę pochodnych wielopierścieniowych węglowodorów aromaticznych, w których istniała możliwość wystąpienia wewnątrzcząsteczkowego RAHB [63]. Przy użyciu metod kwantowo-chemicznych bazujących na Teorii Funkcjonału Gęstości wykonano serię obliczeń dla układów modelowych stosując funkcjonał hybrydowy B3LYP [75–78] oraz zestaw baz 6-311+G(d,p) [79, 80]. Badane układy przedstawiono na Schemacie 7.



Schemat 7. Struktury analizowanych w pracy [63] pochodnych węglowodorów aromatycznych oraz uwzględnionych konformerów

Scheme 7. Molecular structures of aromatic hydrocarbons derivatives and their conformers investigated in ref. [63]

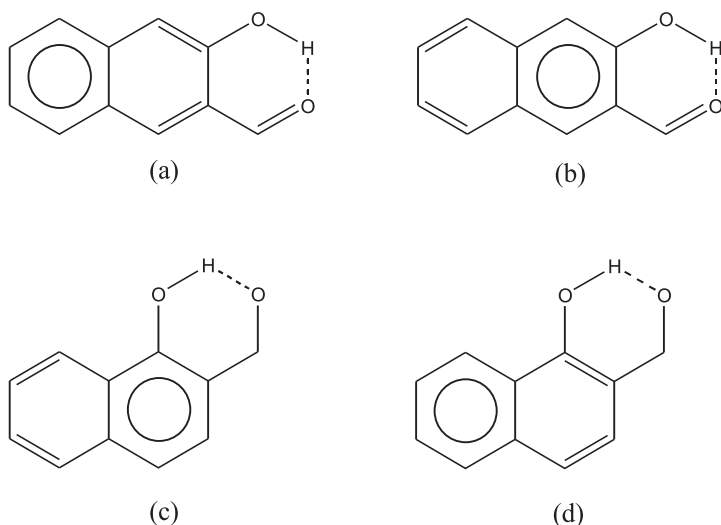
W omawianych badaniach struktura I, pełniła funkcję układu referencyjnego – w tym przypadku nie może być bowiem mowy o interakcji pomiędzy efektem rezo-

nansowym, charakterystycznym dla motywu RAHB, i efektem delokalizacji we fragmencie aromatycznym, który nie występuje w **I**.

Energię badanego wiązania wodorowego wyznaczono jako różnicę energii między formami tautomerycznymi (**a**) i (**b**) (Schemat 7). Należy wyraźnie podkreślić, że w tym przypadku wyznaczona w ten sposób energia nie jest faktyczną energią oddziaływania między dwoma fragmentami badanych cząsteczek – powinno się ją interpretować, jako bilans energetyczny (w tym przypadku zysk energetyczny), wynikający z utworzenia wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego. Jest to bilans uwzględniający również zmiany energii towarzyszące występującym w badanych układach efektem π -elektronowym (zmiany lokalnej aromatyczności oraz częściowe wyrównanie długości wiązań w motywie RAHB powstałym w wyniku zamknięcia się *quasi*-pierścienia). Badania uzupełniono analizą rozkładu gęstości elektronowej, stosując analizę topologiczną gęstości elektronowej, bazującą na teorii kwantowej R.W.F. Badera, *Atomy w Cząsteczkach* [31, 32].

Do oszacowania lokalnej aromatyczności posłużono się szeregiem indeksów aromatyczności, tj.: geometrycznym indeksem HOMA [68, 69], magnetycznym indeksem NICS [70] oraz indeksami bazującymi na dystrybucji gęstości elektronowej (PDI, FLU) [71, 72].

Uzyskane dane pozwoliły stwierdzić, że badane układy można podzielić na dwie podgrupy. W pierwszej podgrupie (układy **II**, **III**, **VI**, **XII**, **XIII**) stabilizacja układu wynikająca z utworzenia RAHB jest mniejsza, niż w przypadku układu **I**. W drugiej podgrupie (układy **IV**, **V**, **VII**, **VIII**, **IX**, **X**, **XI**) zysk energetyczny towarzyszący utworzeniu RAHB jest większy niż w **I**. Jak się okazuje, taki podział w oparciu o opisany wcześniej parametr energetyczny można ściśle powiązać z interakcją pomiędzy efektami π -elektronowymi występującymi w badanych układach. Do wyjaśnienia tej zależności można posłużyć się przykładem dwóch pochodnych naftalenu, pochodną **III** należącą do pierwszej podgrupy i pochodną **IV** należącą do drugiej podgrupy. Jak wiadomo, w naftalenie występują dwa pierścienie benzenowe. Zgodnie z koncepcją Clara w przypadku niepodstawionego naftalenu każdy z pierścieni to pierścien z migrującym sekstetem Clara. Zatem pierścienie w naftalenie powinny charakteryzować się podobnym stopniem delokalizacji, odpowiadającym aromatyczności obniżonej względem aromatyczności np. benzenu. (Tak faktycznie jest – wskazują na to również wartości indeksów aromatyczności [57, 63, 73, 74, 81]). Jednak w przypadku układów **III** i **IV** uzyskane dane pozwoliły stwierdzić, że lokalna aromatyczność pierścieni benzenowych jest różna w zależności od rodzaju podstawienia, lub inaczej, w zależności od położenia *quasi*-pierścienia. Na Schemacie 8 przedstawiono obydwie sytuacje topologiczne z uwzględnieniem odpowiednich struktur rezonansowych zgodnych z koncepcją Clara.



Schemat 8. Struktury rezonansowe badanej pochodnej naftalenu przedstawione zgodnie z koncepcją Clara
Scheme 8. Resonance structures of the naphthalene derivative under discussion shown according to the Clar's concept

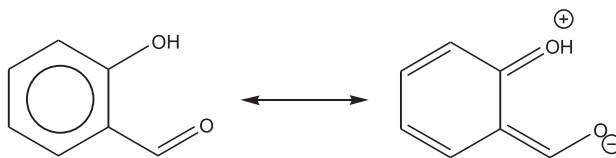
W przypadku układu **III** aromatyczność obydwu pierścieni we fragmencie węglowodorowym jest relatywnie zbliżona. Zatem w tym przypadku sytuacja przypomina tą występującą w niepodstawionym naftaleni. W przypadku układu **IV** zaobserwowano wyraźnie większą aromatyczność pierścienia niepodstawionego z jednoczesnym obniżeniem aromatyczności pierścienia podstawionego. Taka obserwacja sugerowałaby, że o ile w przypadku układu **III** żadna z dwóch struktur rezonansowych **a** i **b** ze Schematu 8 nie jest preferowana, o tyle w przypadku układu **IV** struktura **d** jest dodatkowo stabilizowana obecnością *quasi*-pierścienia. Aby wyjaśnić zaobserwowane zjawisko, należy dokładnie przyjrzeć się występującym w badanych układach efektom π -elektronowym.

Można wyróżnić trzy indywidualne efekty tego typu:

- (i) efekt delokalizacji elektronów π , zachodzący we fragmencie benzenoidowym i prowadzący do charakterystycznej dla układów aromatycznych dodatkowej stabilizacji związanej z aromatycznością,
- (ii) efekt rezonansowy, towarzyszący utworzeniu RAHB – efekt ten jest zauważalny poprzez częściowe wyrównanie wiązań formalnie pojedynczych i podwójnych w sekwencji wiązań kowalencyjnych łączących grupę donorową i akceptorową. Efekt ten po raz pierwszy zaobserwowany był przez Gilliego i in. [33],
- (iii) efekt podstawnikowy, związany z komunikacją π -elektronową pomiędzy grupą hydroksylową (elektrono-donorową w efekcie mezomerycznym) oraz grupą karbonylową (elektrono-akceptorową w efekcie mezomerycznym) – obydwie te grupy w badanych układach rozmieszczone są względem

siebie w położeniu *orto*, co będzie umożliwiło efektywną komunikację π -elektronową poprzez strukturę π -elektronową podstawionego pierścienia benzenowego.

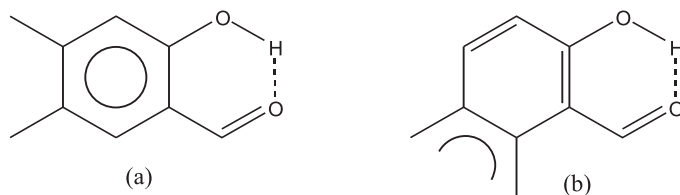
Łatwo przewidzieć, że efekt (ii) oraz (iii) będą wzajemnie kooperowały (co stanowi podstawowe założenie teorii wiązania wodorowego wspomaganego rezonansem) oraz że będą konkurowały z efektem (i). Jest to związane z udziałem struktury rezonansowej z rozdzielonym ładunkiem formalnym, zlokalizowanym na atomie donorowym i akceptorowym w mostku RAHB. Efekt ten będzie angażował elektrony π formalnie należące do sekstetu Clara, w wyniku tego obniżając aromaticzność podstawionego pierścienia (Schemat 9).



Schemat 9. Efekt rezonansowy w *o*-hydroksybenzaldehydzie
Scheme 9. Resonance effect in *o*-hydroxybenzaldehyde

Wracając do układów **III** i **IV** pokazanych na Schemacie 8 można zauważyć, że w przypadku układu **III** elektrony π zaangażowane w efekt rezonansowy (ii) oraz podstawnikowy (iii) mogą pochodzić jedynie ze zlokalizowanego sekstetu Clara. Zatem z jednej strony struktura **b** (Schemat 8) będzie preferowana z uwagi na możliwość wystąpienia efektu rezonansowego w motywie RAHB (w strukturze **a** formalnie pojedyncze wiązanie CC łączące podstawione atomy węgla uniemożliwia sprzężanie π -elektronowe podstawników), a z drugiej strony aromaticzność podstawionego pierścienia będzie obniżona z uwagi na zaburzenie lokalizacji sekstetu Clara w tym pierścieniu. W układzie **IV** (Schemat 8) sytuacja jest zdecydowanie odmienna. W tym przypadku preferowana będzie struktura **d** (Schemat 8), bowiem w przypadku tej struktury występuje zlokalizowany (i niezaangażowany w dodatkowe efekty) sekstet Clara w pierścieniu niepodstawionym oraz para elektronów π na wiązaniu CC (formalnie podwójnym), która będzie zdecydowanie bardziej dostępna w efekcie rezonansowym zachodzącym w *quasi*-pierścieniu. W ten sposób obecność *quasi*-pierścienia w układach **III** i **IV** przyczynia się do wyraźnych zmian w rozkładzie lokalnej aromaticzności. Wnioski dotyczące tych dwóch pochodnych naftalenu mogą być przeniesione bezpośrednio na pozostałe układy, tj. **II-XIII**. Położenie *quasi*-pierścienia wpływa również na moc RAHB, o czym wspomniano wcześniej. W oparciu o uzyskane dane można stwierdzić, że silniejsze wiązania wodorowe względem układu referencyjnego, czyli struktury **I** przedstawianej na Schemacie 7 występują w przypadku podstawienia przedstawionego na Schemacie 10b. W strukturze przedstawionej na Schemacie 10b elektrony π są w większym stopniu dostępne w efekcie rezonansowym (ii) wspomagającym wiązanie wodorowe, niż

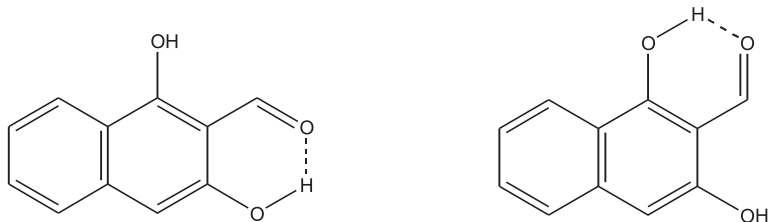
ma to miejsce w strukturze ze Schematu 10a. W tym ostatnim udział elektronów π w efekcie rezonansowym (ii) konkuruje z efektem uwarunkowanym utworzeniem aromatycznego sekstetu Clara.



Schemat 10. Dwie sytuacje topologiczne, różne z punktu widzenia koncepcji Clara, występujące w omawianej serii badanych układów

Scheme 10. Two considered topological situations different from the point of view of the Clar's concept

Jak wcześniej wspomniano, w badanych pochodnych węglowodorów aromatycznych występują trzy efekty π -elektronowe: (i) – efekt delokalizacji, (ii) – efekt rezonansowy oraz (iii) – efekt podstawnikowy. Efekty (ii) oraz (iii) wzajemnie kooperują, działając niejako w tym samym kierunku, tj. uczestnicząc w przeniesieniu ładunku od grupy hydroksylowej do grupy karbonylowej. Z drugiej strony celem podjętych badań było określenie zależności pomiędzy efektem (i) oraz (ii). Zatem obecność efektu (iii), maskującego efekt (ii), utrudnia interpretację studiowanych zależności. Dlatego też podjęto próbę przeprowadzenia badań dla układów, w których efekt (iii) można byłoby wyłączyć z prowadzonych rozważań [82]. Oczywiście nie jest możliwe bezpośrednie wyeliminowanie tego efektu z rozważanych układów, przy jednoczesnym zachowaniu ich cech szczególnych, koniecznych do wystąpienia RAHB. Można jednak dobrać obiekt badań tak, aby efekt ten nie maskował efektu (ii). Na Schemacie 11 przedstawiono pochodną naftalenu podstawioną w tak szczególny sposób, że w zależności od położenia atomu tlenu grupy karbonylowej (położenie to można zmieniać poprzez obrót wokół wiązania C-C(O)) można uzyskać izomer odpowiadający strukturze **b** bądź **d** ze Schematu 8.

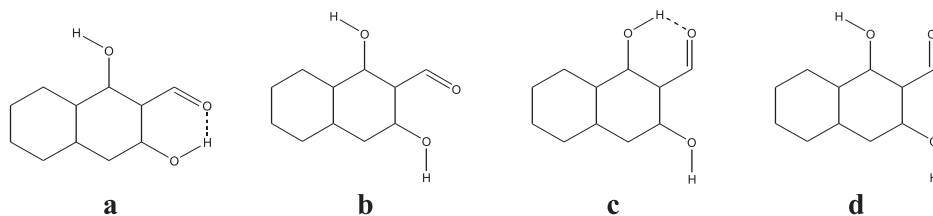


Schemat 11. Rozpatrywane układy na przykładzie dwóch form konformacyjnych pochodnej naftalenu

Scheme 11. Two conformational forms of naphthalene as example structures representing systems under discussion

Jednocześnie efekt (iii) w obydwu konformerach przedstawionych na Schemacie 11 powinien być taki sam, gdyż podstawniki w tym przypadku nie zmieniają swojego położenia bez względu na konformację. Przeprowadzono szczegółową analizę dla serii wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (począwszy od benzenu, poprzez naftalen aż do antracenu i fenantrenu) podstawionych w sposób przedstawiony na Schemacie 11.

Dla każdego przypadku przeanalizowano cztery możliwe konformery pokazane na przykładzie pochodnej naftalenu (Schemat 12).



Schemat 12. Izomery konformacyjne analizowane w cytowanej pracy [82], przedstawione na przykładzie pochodnej naftalenu. Dla przejrzystości rysunku pominięto oznaczenie wiązań wielokrotnych we fragmencie aromatycznym

Scheme 12. Four conformers of naphthalene as example structures investigated in ref. [82]. The multiple bonds in aromatic moiety were omitted for clarity

Zauważono, że różnice w lokalnej aromaticzności pierścieni benzenoidowych w izomerach konformacyjnych **b** i **d** (Schemat 12) są praktycznie znikome. Świadczy to o tym, że faktycznie efekt (iii) w badanych układach jest stały. Zatem wszelkie zmiany w rozkładzie stopnia delokalizacji w układach typu **a** i **c** (Schemat 12) będą związane z utworzeniem RAHB. W ten sposób uzyskano możliwość bezpośredniego poznania relacji pomiędzy aromaticznością i efektem rezonansowym w motywie RAHB.

Uzyskane dane dowiodły, że najkorzystniejszą energetycznie formą są struktury typu **c** (Schemat 12). Ponadto w strukturach tych występowało stosunkowo silniejsze wiązanie wodorowe w porównaniu z obecnym w strukturach typu **a**. Obserwacje te są w ścisłej zgodzie z wcześniejszymi spostrzeżeniami poczynionymi dla serii układów przedstawionych na Schemacie 7. Zauważono również wyraźną relację pomiędzy topologią badanych układów a lokalną aromaticznością, charakteryzującą indywidualne pierścienie benzenoidowe. Relację tę można opisać w oparciu o przykład dwóch pochodnych naftalenu przedstawionych na Schemacie 12 **a** i **c**. Okazuje się, że *quasi*-pierścień utworzony w wyniku wystąpienia RAHB może w pewnym stopniu wywierać taki wpływ na fragment węglowodorowy badanych układów cząsteczkowych, jak typowy pierścień benzenowy. Zgodnie z koncepcją Clara zewnętrzne pierścienie fenantrenu wykazują wyraźnie bardziej aromaticzny charakter od pierścienia wewnętrznego, co ma związek z udziałem odpowiedniej struktury Clara. Dla antracenu wszystkie trzy pierścienie przejawiają podobną aro-

matyczność, co jest spowodowane udziałem struktury z migrującym sekstetem Clara (patrz Rozdział 2.) W przypadku form **a** i **c** ze Schematu 12, przedstawiona sytuacja wydaje się być analogiczna do tej, występującej w fenantrenie i antracenie. Topologia cząsteczki (w sensie wzajemnego rozmieszczenia pierścieni składających się na omawianą cząsteczkę) w formie tautomerycznej **a** odpowiada topologii antracenu. W związku z tym żaden z pierścieni benzenoidowych nie jest wyraźnie bardziej aromatyczny. Ponadto *quasi*-pierścień wykazuje również relatywnie mniejszy stopień delokalizacji. W przypadku formy tautomerycznej **c** topologia odpowiada tej występującej w fenantrenie. Stąd obserwuje się wyraźnie bardziej aromatyczny charakter niepodstawionego pierścienia (topologicznie odpowiadającego zewnętrznemu pierścieniowi fenantrenu) oraz mniej aromatyczny charakter pierścienia podstawionego (topologicznie odpowiadającego wewnętrznemu pierścieniowi fenantrenu). Co istotne, również *quasi*-pierścień wykazuje w tym przypadku bardziej zdelekalizowany charakter, gdyż w sensie topologicznym odpowiada on zewnętrznemu pierścieniowi fenantrenu. Towarzyszy temu silniejsze wiązanie wodorowe w przypadku formy tautomerycznej **c**, co należy wiązać z silniejszym efektem rezonansowym (delokalizacja wiązań formalnie podwójnych w *quasi*-pierścieniu) zgodnie z koncepcją RAHB Gilliego i in. [33].

Zależność między topologią rozpatrywanych układów a lokalną aromatycznością zaobserwowano również w serii pochodnych węglowodorowych, w których proton w mostku wodorowym był zastąpiony kationem litowym [62]. W tego typu układach relacja między topologią cząsteczki i lokalną aromatycznością okazała się nawet bardziej wyraźna niż w przypadku analogów z RAHB. Jest to wywołane większym stopniem delokalizacji w sekwencji wiązań OCCCO. Warto również wspomnieć inną interesującą koncepcję (alternatywną dla koncepcji RAHB), która niedawno ukazała się drukiem [83]. W pracy tej autorzy zaproponowali oryginalne spojrzenie na RAHB w ujęciu teorii efektu podstawnikowego (będącego efektem π -elektronowym). Zgodnie z tą propozycją utworzenie wiązania wodorowego w cząsteczce np. *o*-hydroksybenzonaldehydu (aldehydu salicylowego) prowadzi do wzmocnienia właściwości π -elektronodonorowych grupy hydroksylowej oraz do wzmocnienia właściwości π -elektronoakceptorowych grupy karbonylowej. W wyniku tego można zaobserwować względnie bardziej efektywną komunikację π -elektronową między podstawnikami w przypadku formy tautomerycznej z zamkniętym *quasi*-pierścieniem. Innymi słowy autorzy zaproponowali alternatywne spojrzenie na RAHB, w którym to wiązanie wodorowe wspomaga efekt rezonansowy (w odróżnieniu od oryginalnej koncepcji Gilliego [33], w której było na odwrót).

PODSUMOWANIE

Przedstawione w pracy zależności między mocą wiązania wodorowego wspomaganego rezonansem, efektem delokalizacji w motywie cząsteczkowym RAHB

oraz lokalną aromaticznością, wskazują na ścisłą relację między tymi trzema efektami. Taka ścisła relacja sugeruje „ π -elektronowe” pochodzenie relatywnie większej stabilności mostków wodorowych klasyfikowanych jako RAHB w porównaniu z wiązaniami wodorowymi, w których efekt rezonansu nie występuje. Wniosek ten, będąc w zgodzie z zaproponowaną w latach 80. oryginalną koncepcją wiązania wodorowego wspomaganego rezonansem, osłabia argumentację przeciwników tej koncepcji. Chociaż oddziaływania o charakterze RAHB stały się jednym z częściej analizowanych zagadnień szeroko pojętej chemii strukturalnej, to nadal jest to temat intensywnie eksplorowany przez liczną grupę badaczy. Warto również zwrócić uwagę na fakt, że choć najczęściej analizowanym przypadkiem wiązania wodorowego wspomaganego rezonansem jest przypadek oddziaływania wewnątrzcząsteczkowego, to oryginalna koncepcja tego typu oddziaływań uwzględnia również oddziaływania międzycząsteczkowe. Ostatecznie można podkreślić istotny wpływ efektów π -elektronowych na szereg właściwości fizykochemicznych cząsteczek chemicznych. Poznanie mechanizmów rządzących tymi efektami pozwoli na zrozumienie wielu zjawisk związanych ze stabilnością termodynamiczną i kinetyczną licznej grupy związków chemicznych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G.A. Jeffrey, *An introduction to hydrogen bonding*, Oxford University Press, Oxford, 1997.
- [2] G.R. Desiraju, *Crystal Engineering: The Design of Organic Solids*, Elsevier, Amsterdam, 1989.
- [3] G.R. Desiraju, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 565.
- [4] T. Steiner, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 2002, **41**, 48.
- [5] A.D. Buckingham, *The Hydrogen Bond: An Electrostatic Interaction*, [w:] *Theoretical Treatments of Hydrogen Bonding*, ed. D. Hadzi, John Wiley & Sons, New York, 1997.
- [6] P. Schuster, *Energy surfaces for hydrogen bonded systems*, [w:] *The Hydrogen Bond*, eds P. Schuster, G. Zundel, C. Sandorfy, North-Holland, Amsterdam, 1976.
- [7] G. Gilli, P. Gilli *The Nature of the Hydrogen Bond Outline of a Comprehensive Hydrogen Bond Theory*, Oxford University Press, Oxford, 2009.
- [8] L. Sobczyk, *Wiad. Chem.*, 2001, **55**, 593
- [9] G.R. Desiraju, T. Steiner, *The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology*, Oxford University Press/International Union of Crystallography, Oxford, 1999.
- [10] S.J. Grabowski, *J. Phys. Chem. A*, 2001, **105**, 10739.
- [11] Y. Gu, T. Kar, S. Scheiner, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 9411.
- [12] W.G. Read, W.H. Flygare, *J. Chem. Phys.*, 1982, **76**, 2238.
- [13] M.J. Frisch, J.A. Pople, J.E. Del Bene, *J. Chem. Phys.*, 1983, **78**, 4063.
- [14] M. Nishio, Y. Umezawa, M. Hirota, Y. Takeuchi, *Tetrahedron*, 1995, **51**, 8701.
- [15] E.A. Meyer, R.K. Castellano, F. Diederich, *Angew. Chem. Int.*, 2003, **42**, 1210.
- [16] M.P. Brown, R.W. Heseltine, *Chem. Commun.*, 1968, **23**, 1551.
- [17] R.H. Crabtree, P.E.M. Siegbahn, O. Eisenstein, A.L. Rheingold, T.F. Koetzle, *Acc. Chem. Res.*, 1996, **29**, 348.
- [18] S.J. Grabowski, *Chem. Phys. Lett.*, 2000, **327**, 203.
- [19] S.J. Grabowski, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **312**, 542.

- [20] F. Fuster, B. Silvi, S. Berski, Z. Latajka, *J. Mol. Struct.*, 2000, **555**, 75.
- [21] G.V. Gibbs, A.F. Wallace, D.F. Cox, P.M. Dove, R.T. Downs, N.L. Ross, K.M. Rosso, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 736.
- [22] K. Woźniak, T.M. Krygowski, *Long Range Consequences of H-Bonding*, [w:] *Organic Crystal Chemistry*, eds T. Jones, J. Garbarczyk, Oxford University Press, Oxford, 1994.
- [23] T.M. Krygowski, K. Woźniak. *Wiad. Chem.*, 1992, **46**, 43.
- [24] G.A. Jeffrey, W. Saenger, *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1991.
- [25] S. Sheiner, *Contribution of C-H...X hydrogen bonds to biomolecular structure*, [w:] *Hydrogen Bonding – New Insights*, ed. S.J. Grabowski, Springer, Dordrecht, 2006.
- [26] S.J. Grabowski, *Monatshefte für Chemie*, 2002, **133**, 1373.
- [27] M. Jabłoński, A.J. Sadlej, *Polish J. Chem.*, 2007, **81**, 767.
- [28] M. Jabłoński, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 2007, **820**, 118.
- [29] J. Jorly, D.J. Eluvathingal, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 4620.
- [30] L. Piela, *Idee chemii kwantowej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2005.
- [31] R.F.W. Bader, *Atoms in Molecules. A Quantum Theory*, Clarendon Press, Oxford, 1994.
- [32] P. Popelier, *Atoms in Molecules. An introduction*, Prentice Hall, Harlow, 2000.
- [33] G. Gilli, F. Belluci, V. Ferretti, V. Bertolasi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 1023.
- [34] V. Bertolasi, P. Gilli, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 4917.
- [35] P. Gilli, V. Bertolasi, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 909.
- [36] P. Gilli, V. Bertolasi, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 10405.
- [37] P. Gilli, V. Bertolasi, L. Pretto, A. Lyeka, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 13554.
- [38] P. Gilli, V. Bertolasi, L. Pretto, V. Ferretti, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 3845.
- [39] P. Gilli, V. Bertolasi, L. Pretto, L. Antonov, G. Gilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 4943.
- [40] L. Sobczyk, S.J. Grabowski, T.M. Krygowski, *Chem. Rev.*, 2005, **105**, 3513.
- [41] M. Ramos, I. Alkorta, J. Elguero, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 1403.
- [42] P. Sanz, O. Mó, M. Yáñez, J. Elguero, *Chem. Phys. Chem.*, 2007, **8**, 1950.
- [43] P. Sanz, O. Mó, M. Yáñez, J. Elguero, *J. Phys. Chem. A*, 2007, **11**, 3585.
- [44] P. Sanz, O. Mó, M. Yáñez, J. Elguero, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 4225.
- [45] (a) *Chem. Rev.*, 2005, vol. **105**, iss.10.
(b) M.K. Cyrański, T.M. Krygowski, *Wiad. Chem.*, 2000, **54**, 357..
(c) M.K. Cyrański, T.M. Krygowski, *Wiad. Chem.*, 2000, **54**, 533.
- [46] K. Jug, A. Koster, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 6772.
- [47] S. Shaik, A. Shurki, D. Danovich, P.C. Hiberty, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 1997, **398–399**, 155.
- [48] R. Dobosz, R. Gawinecki, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 2010, **940**, 119.
- [49] A. Filarowski, I. Majerz, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 3119.
- [50] H. Houjou, T. Motoyama, S. Banno, I. Yoshikawa, K. Araki, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 520.
- [51] P. Lenain, M. Mandado, R.A. Mosquera, P. Bultinck, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 10689.
- [52] M. Kluba, P. Lipkowski, A. Filarowski, *Chem. Phys. Lett.*, 2008, **463**, 426.
- [53] A. Filarowski, A. Kochel, M. Kluba, F.S. Kamounah, *J. Phys. Org. Chem.*, 2008, **21**, 939.
- [54] Y.H. Mariam, R.N. Musin, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 134.
- [55] M. Palusiak, S. Simon, M. Solà, *Chem. Phys.*, 2007, **342**, 43.
- [56] S.J. Grabowski, M. Palusiak, A.T. Dubis, A. Pfitzner, M. Zabel, *J. Mol. Struct.*, 2007, **844–845**, 173.
- [57] M. Palusiak, T.M. Krygowski, *Chem. Eur. J.*, 2007, **13**, 7996.
- [58] J.N. Woodford, *J. Phys. Chem. A*, 2007, **111**, 8519.
- [59] R. Gawinecki, A. Kuczek, E. Kolehmainen, B. Osmiałowski, T.M. Krygowski, R. Kauppinen, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 5598.

- [60] S.J. Grabowski, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 2007, **811**, 61.
- [61] S.E. Blanco, F.H. Ferretti, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 2577.
- [62] T.M. Krygowski, J.E. Zachara, B. Ośmiałowski, R. Gawinecki, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 7678.
- [63] M. Palusiak, S. Simon, M. Solà, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 5241.
- [64] A.J. Rybarczyk-Pirek, A.T. Dubis, S.J. Grabowski, J. Nawrot-Modranka, *Chem. Phys.*, 2006, **320**, 247.
- [65] A.J. Rybarczyk-Pirek, S.J. Grabowski, M. Małecka, J. Nawrot-Modranka *J. Phys. Chem. A*, 2002, **106**, 11956.
- [66] T.M. Krygowski, J.E. Zachara-Horeglad, M. Palusiak, S. Pelloni, P. Lazzeretti, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 2138.
- [67] E. Clar, *The Aromatic Sextet*, Wiley, New York, 1972.
- [68] J. Kruszewski, T. M. Krygowski, *Tetrahedron Lett.*, 1972, 3839.
- [69] T.M. Krygowski, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1993, **33**, 70.
- [70] P.v.R. Schleyer, C. Maerker, A. Dransfeld, H. Jiao, N.J.R. van Eikema Hommes, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 6317.
- [71] J. Poater, X. Fradera, M. Duran, M. Solà, *Chem. Eur. J.* 2003, **9**, 400.
- [72] E. Matito, M. Duran, M. Solà, *J. Chem. Phys.*, 2005, **122**, 14109; erratum *J. Chem. Phys.*, 2006, **125**, 059901.
- [73] G. Portella, J. Poater, M. Solà, *J. Phys. Org. Chem.*, 2005, **18**, 785.
- [74] G. Portella, J. Poater, J.M. Bofill, P. Alemany, M. Solà, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 2509; erratum *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 4560.
- [75] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648.
- [76] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Phys. Rev. B*, 1988, **37**, 785.
- [77] P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski, M.J. Frisch, *J. Phys. Chem.*, 1994, **98**, 11623.
- [78] B. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, H. Preuss, *Chem. Phys. Lett.*, 1989, **157**, 200.
- [79] R. Krishnan, J.S. Binkley, R. Seeger, J.A. Pople, *J. Chem. Phys.*, 1980, **72**, 650.
- [80] A.D. McLean, G.S. Chandler, *J. Chem. Phys.*, 1980, **72**, 5639.
- [81] F. Feixas, E. Matito, M. Solà, J. Poater, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 13231.
- [82] M. Palusiak, S. Simon, M. Solà, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 2059.
- [83] T.M. Krygowski, J.E. Zachara-Horeglad, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 2010.

Praca wpłynęła do Redakcji 27 stycznia 2010

**ARCHITEKTURY SUPRAMOLEKULARNE
JAKO WYNIK SAMOORGANIZACJI
W KOMPLEKSACH JONÓW METALI
d- I f- ELEKTRONOWYCH**

**THE SUPRAMOLECULAR ARCHITECTURES
AS A RESULT OF SELF-ASSEMBLY
IN COMPLEXES OF *d-* AND *f-*METAL IONS**

Violetta Patroniak

*Wydział Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza,
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
e-mail: violapat@amu.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

Architektury supramolekularne

1. Kompleksy z $(N_2)_2$ -donorowym ligandem typu bipyridyny
2. Kompleksy z $(N_xO)_n$ -donorowymi ligandami typu terpirydyny
 - 2.1. Kompleksy Fe(II), Co(II) i Zn(II) z $(N_2O)_2$ -donorowymi ligandami typu terpirydyny
 - 2.2. Kompleks polimeryczny Mn(II) z $(N_2O)_2$ -donorowym ligandem amidowym typu terpirydyny
 - 2.3. Kompleksy kratkowe Cu(I) i Ag(I) z $(N_2O)_2$ -donorowym ligandem amidowym typu terpirydyny
 - 2.4. Kompleksy jonów lantanowców z $(N_2O)_2$ -donorowym ligandem amidowym typu terpirydyny
 - 2.5. Kompleksy z N_2O -donorowymi ligandami HL^4 i HL^5 typu zasad Schiffa
 - 2.6. Heterordzeniowe kompleksy z N_2O -donorowym ligandem typu zasad Schiffa
 - 2.7. Kompleksy z $(N_2O)_2$ -donorowymi ligandami typu terpirydyny
3. Kompleksy z N_4 -donorowym ligandem typu tetrapirydyny
4. Kompleksy z N_4O_2 -donorowym ligandem estrowym

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr hab. Violetta Patroniak jest profesorem w Zakładzie Chemii Bionieorganicznej na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu. Zajmuje się syntezą i charakterystyką związków kompleksowych *d*- i *f*-elektronowych jonów metali. Była stypendystką rządu włoskiego w 1999 roku, na Uniwersytecie w Katanii gdzie przebywała przez trzy miesiące w laboratorium prof. Paolo Finocchiaro. Jako stypendystka NATO, jeden rok (2001) spędziła pracując pod kierunkiem prof. Jean-Marie Lehna w ISIS-ULP w Strasburgu we Francji. Po powrocie z Francji kontynuowała pracę nad rozprawą habilitacyjną w ramach kierowanego

przez nią grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, pt. „*Nowe supramolekularne kompleksy kratkowe (grid-type complexes) d- i f-elektronowych jonów metali*”, którego konsultantem naukowym był prof. Jean-Marie Lehn. Syntezą nowych kompleksów supramolekularnych metodą templatową z ligandami typu zasad Schiffa zajmuje się w ramach badań prowadzonych w projektach badawczych prof. Wandy Radeckiej-Paryzek. Badania nad syntezą i charakterystyką homo- i heterodzeniowych kompleksów supramolekularnych pierwiastków przejściowych prowadzi w ramach projektu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, pt. „*Nowe architektury supramolekularne jako wynik samoorganizacji kompleksów jonów metali d- i f-elektronowych*”.

ABSTRACT

The use of transition metal complexes of bridging multidentate ligands to construct predictable, self-assembled small inorganic systems and multi-dimensional infinite networks is an area of chemistry which has received ever-increasing attention over the recent years. Self-organization occurs usually from a mixture of components (organic ligands, salt crystals, and sometimes solvent molecules). The products exhibit a notable thermodynamic and kinetic stability and their components should contain all the information necessary for a correct assembly to occur [1–6]. Self-assembly has recently been studied in many types of organic and inorganic systems. This latter approach has proven particularly successful for the generation of a wide spectrum of architectural topologies such as for example, helicates [7–11], rotaxanes [12, 13], clusters [14–16], ladders [17–19], cages [20–22], grids [23–25] and molecular wheels [26–28], etc., based on ligand design and an application of suitable coordination geometries for the assembling system. The structure of supramolecular complexes depends strongly on the ligand substituent, the ligand conformation, the metal ion, the counterion, the solvent, and the reaction conditions [29–37]. Such compounds may exhibit novel physical and chemical properties with a potential use in supramolecular engineering, nanotechnology, biomedical inorganic chemistry, biological catalysis, and in the area of sensors [38–46].

The review has been prepared on the results of my own studies in the field [47–59] and focused on structural diversity and characterization of supramolecular complexes. The architectures of these compounds generated by self-assembly of polypyridyl ligands with *d*- and *f*-metal ions are fascinating and attractive because of their unusual properties and prospective implementation in many application [60–74].

Keywords: supramolecular chemistry, coordination chemistry, self-assembly, *d*- and *f*-metal ions

Słowa kluczowe: chemia supramolekularna, chemia koordynacyjna, samoorganizacja, *d*- i *f*-elektronowe jony metali

WPROWADZENIE

Inorganic self-assembly, czyli samoorganizację związków nieorganicznych można zdefiniować jako bezpośrednie i spontaniczne tworzenie superstruktur z mieszaniny substratów, jakimi zazwyczaj są organiczne ligandy, sole metali i czasami cząsteczki rozpuszczalnika. Samoorganizacja wieloskładnikowych superstruktur wymaga dobrania związków spełniających trzy najważniejsze kryteria: rozpoznanie (wiązanie i selekcja), orientacja przestrzenna liganda (liczba i rodzaj miejsc wiążących) i komplementarność (dopasowanie steryczne). W procesie tym najważniejsze jest zaprojektowanie liganda i wybranie jonu metalu o odpowiednich właściwościach koordynacyjnych. Jon metalu powinien wykazywać preferencję do danego rodzaju geometrii strukturalnej, posiadać odpowiedni rozmiar i różnorodne właściwości fizykochemiczne. Powstały w wyniku tego typu reakcji produkt charakteryzuje się znakomitą trwałością termodynamiczną i kinetyczną [1–6]. Opisano już wiele rodzajów tego typu związków: helikaty [7–11], rotaksany [12, 13], klastery [14–16], kompleksy drabinowe [17–19], klatkowe [20–22], kratkowe [23–26] oraz kołowe [27, 28]. Supramolekularna architektura powstających związków jest przewidywalna dzięki opracowanym, specjalnym algorytmom koordynacyjnym. Na strukturę otrzymanych związków kompleksowych wpływ mają takie czynniki jak rodzaj rozpuszczalnika [29], stężenie jonów metalu [30, 31] czy rodzaj przeciwjonów [32–34]. Stopień sprotonowania grup funkcyjnych liganda również determinuje geometrię powstających kompleksów [35–37]. Udokumentowane zastosowanie agregatów supramolekularnych znajdują ich właściwości katalityczne [38, 39], selektywne [40, 41] czy luminescencyjne [42–46]. Niniejsza praca powstała w oparciu o wyniki badań własnych [47–59].

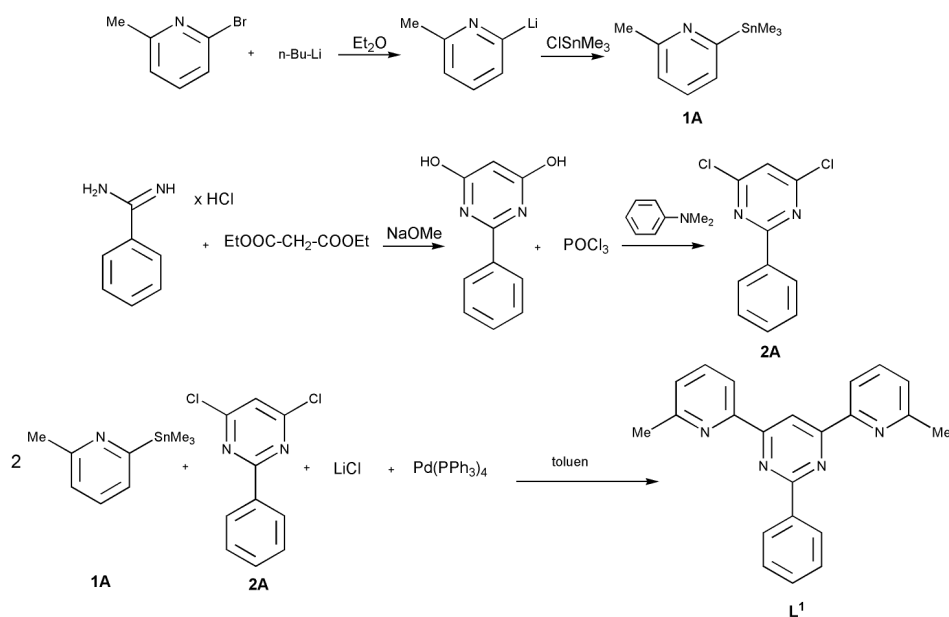
ARCHITEKTURY SUPRAMOLEKULARNE

Wiele różnych architektur supramolekularnych powstaje jako wynik samoorganizacji jonów metali *d*- i *f*-elektronowych z nowymi wielokoordynacyjnymi ligandami typu bipyridyny, terpirydyny, tetrapirydyny zawierającymi w swej budowie jednostki pirydyny, pirymidyny i grupy karbonylowe. Charakterystykę kompleksów supramolekularnych można przeprowadzić za pomocą analizy strukturalnej, jednakże otrzymanie kryształu nie należy do najprostszych eksperymentów, dlatego wykorzystuje się inne nowoczesne techniki badań tych związków. Najprostszą metodą jest identyfikacja kompleksów poprzez spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Na obecność protonów w pobliżu jonu metalu wskazują silne przesunięcia sygnałów w widmie kompleksu w porównaniu z widmem wolnego liganda. Widma ^1H NMR kompleksów paramagnetycznych jonów metali wykazują silnie przesunięte ostre piki, których liczba informuje o symetrii liganda. Ponadto do charakterystyki tego typu kompleksów stosowane są również metody spektroskopii masowej takie jak: FAB (ang. *fast atom bombardment*), ESI-MS (ang.

electrospray ionisation) oraz MALDI-TOF (ang. *matrix assisted laser desorption ionisation – time of flight*).

1. KOMPLEKSY Z (N₂)₂-DONOROWYM LIGANDEM TYPU BIPYRIDYNY

Zsyntezowano kompleksy kratkowe typu [2x2] z jonami metali wykazującymi preferencje do tetraedycznej geometrii koordynacyjnej [47]. Zaprojektowano ligand L¹ C₂₂H₁₈N₄ zawierający dwie dwukoordynacyjne podjednostki, który otrzymano według Schematu 1:

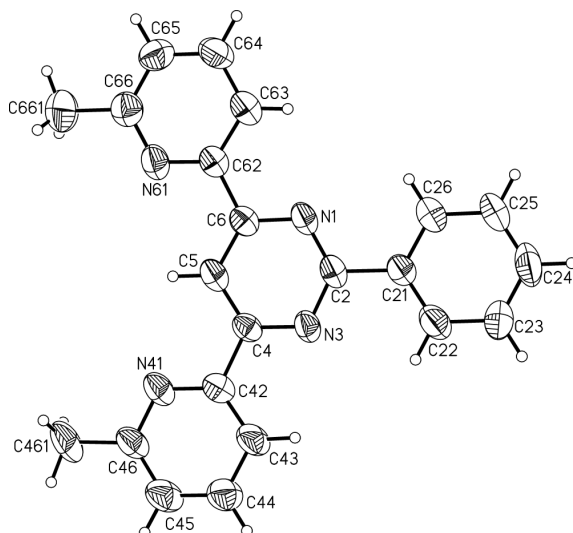


Schemat 1. Reakcje otrzymywania 4,6-bis(6-metylo-2-pirydylo)-2-fenylopirymidyny L¹ [47]

Scheme 1. Reaction scheme for the synthesis of the ligand L¹ [47]

Substratem niezbędnym do syntezy liganda jest 2-metylo-6-trimetylostannylo-pirydyna **1A**, którą otrzymano z 2-bromo-6-metylopirydydy poprzez reakcję substytucji atomu bromu z chlorkiem trimetylocyni(IV) [60, 61]. Pierwszym etapem otrzymania 4,6-dihydroksy-2-fenylopirymidyny była synteza metanolanu sodu, a następnie dodanie do niego chlorowodoru benzamidyny i malonianu dietylu w etanolu. Do *N,N'*-dimetyloaniliny dodawano trichlorek fosforu, a następnie uprzednio otrzymaną 4,6-dihydroksy-2-fenylopirymidynę. W ten sposób uzyskano 4,6-dichloro-2-fenylopirymidynę **2A** [62]. Wykorzystując metodę Stilla [63], przeprowadzono reakcję 2-metylo-6-trimetylostannylo-pirydydy **1A** z 4,6-dichloro-2-fenylopirymidyną

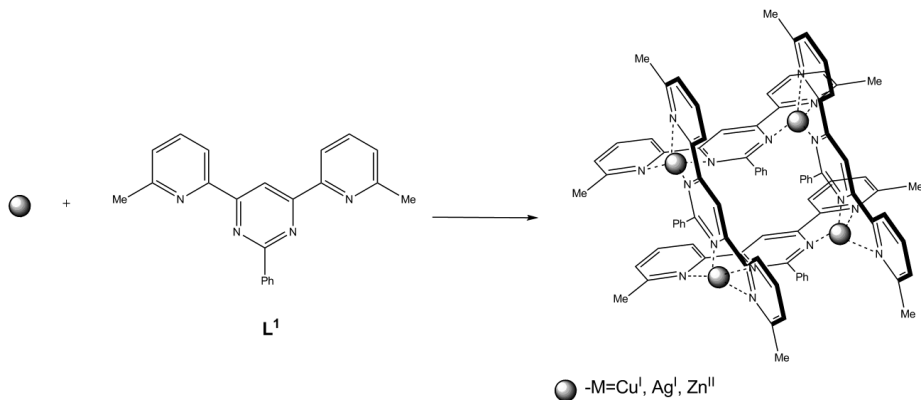
2A w toluenie, stosując katalizator palladowy otrzymano zaprojektowany ligand, który scharakteryzowano za pomocą spektroskopii NMR (^1H , ^{13}C), FAB-MS, UV-Vis, luminescencyjnej oraz rozwiązano jego strukturę rentgenograficznie (Rys. 1):



Rysunek 1. Struktura krystaliczna liganda $\text{L}^1\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4$ [47]

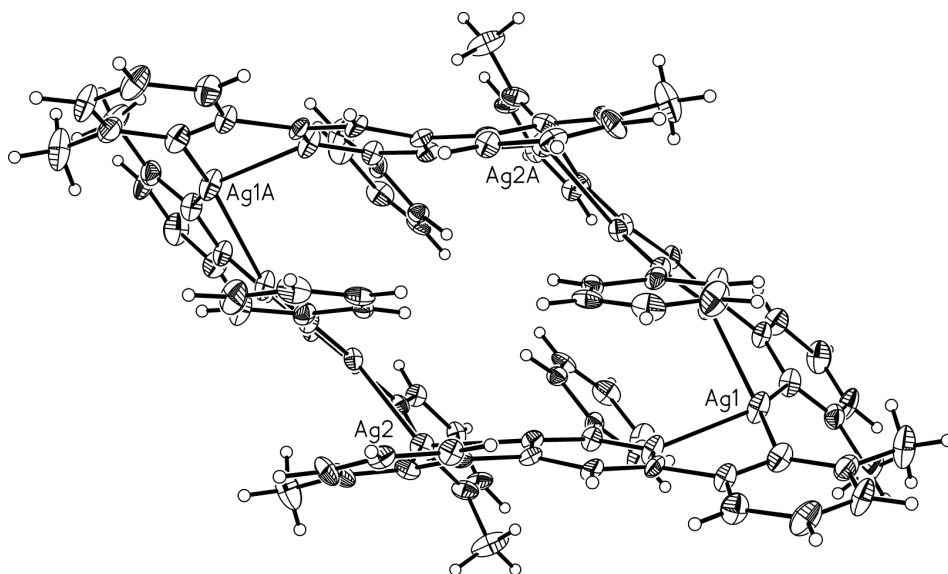
Figure 1. Crystal structure of ligand $\text{L}^1\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4$ [47]

W wyniku bezpośredniej reakcji liganda z jonami $\text{Ag}(\text{I})$, $\text{Cu}(\text{I})$ i $\text{Zn}(\text{II})$, dążącymi do uzyskania tetraedycznej geometrii koordynacyjnej, otrzymano kompleksy kratkowe (Schemat 2), których istnienie potwierdziły zarówno widma ^1H NMR jak i widma masowe uzyskane techniką ESI-MS, a także rozwiązana rentgenograficznie struktura kompleksu srebra (Rys. 2).



Schemat 2. Reakcja tworzenia kompleksów kratkowych $\text{Cu}(\text{I})$, $\text{Ag}(\text{I})$ i $\text{Zn}(\text{II})$ typu $[2 \times 2]$ [47]

Scheme 2. Reaction scheme for the assembly of the $[2 \times 2]$ grid complexes of $\text{Cu}(\text{I})$, $\text{Ag}(\text{I})$ and $\text{Zn}(\text{II})$ [47]



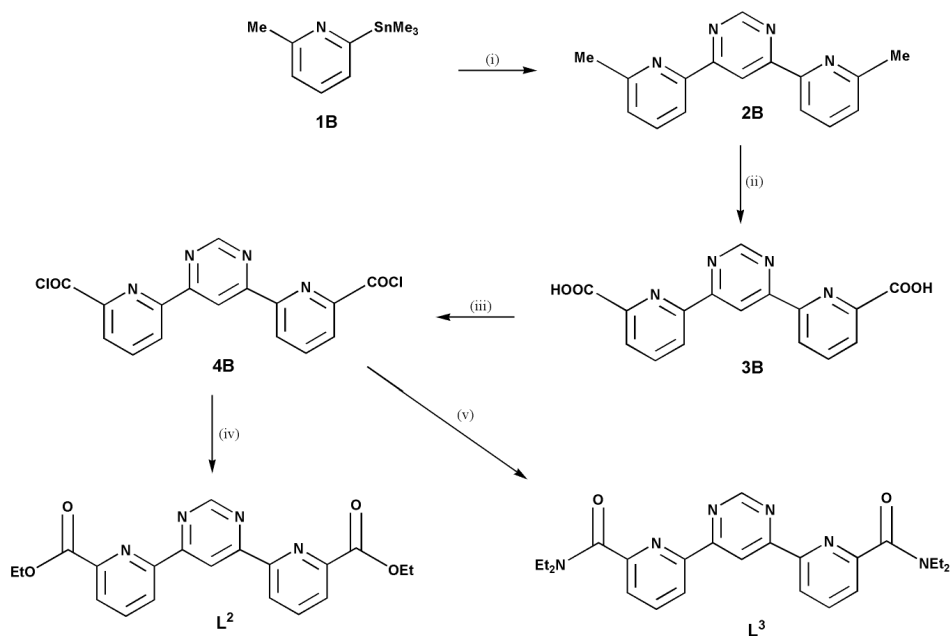
Rysunek 2. Struktura krystaliczna kompleksu kratkowego typu [2x2] z jonami Ag(I) [47]
 Figure 2. Crystal structure of the [2x2] grid complexes of Ag(I) [47]

2. KOMPLEKSY Z $(N_xO)_n$ -DONOROWYMI LIGANDAMI TYPU TERPIRYDYNY

2.1. KOMPLEKSY Fe(II), Co(II) I Zn(II) Z $(N_xO)_2$ -DONOROWYMI LIGANDAMI TYPU TERPIRYDYNY

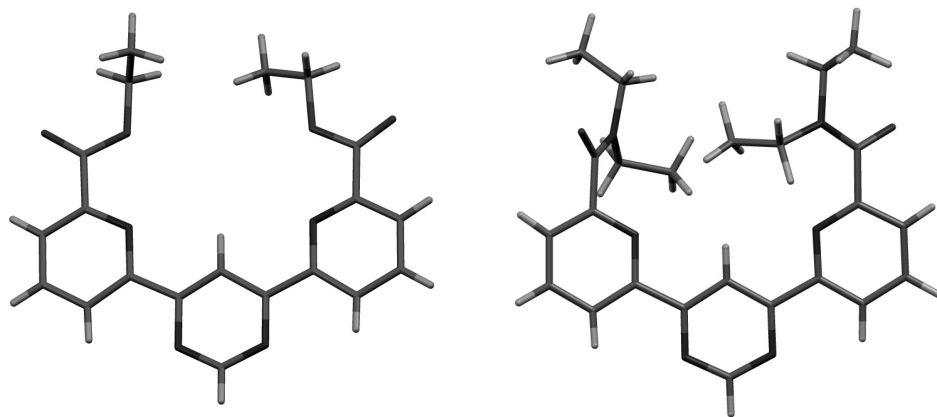
Następnymi zaprojektowanymi ligandami były dwa nowe sześciokoordynacyjne ligandy typu terpirydyny, posiadające w swej budowie jednostki pirydyny, pirymidyny i grupy karbonylowe. Wykonano wieloetapową syntezę dwóch takich ligandów: estrowego L^2 i amidowego L^3 według przedstawionego Schematu 3 [48].

Wykorzystując metodę Stilla [63] przeprowadzono reakcję 2-metylo-6-trimetylostannylopirydyny **1B** z 4,6-dichloropirymidyną w toluenie, stosując katalizator palladowy i otrzymano związek **2B**. Metylowe grupy **2B** zostały utlenione CrO_3 w stężonym kwasie siarkowym(VI) do kwasu dikarboksylowego **3B**. Związek **3B** w reakcji z wrzącym chlorkiem tionylu przekształcał się w dichlorek kwasowy **4B**, na który natychmiast działało EtOH lub dietyloaminą w THF i uzyskiwano odpowiednio ligand L^2 lub L^3 . Charakterystyki poszczególnych związków dokonano za pomocą metod spektroskopowych, takich jak NMR, IR, MS oraz analizy elementarnej, ponadto rozwiązano struktury krystaliczne ligandów (Rys. 3). Nieskoordynowane ligandy istnieją w konformacji *E*.



Schemat 3. Synteza ligandów: estrowego L^2 i amidowego L^3 : i) 4,6-dichloro-pyrimidyna, LiCl, Pd(PPh₃)₄, toluen, ii) H₂SO₄, CrO₃, iii) SOCl₂, iv) EtOH, v) Et₂NH, THF [48]

Scheme 3. Reaction scheme for the synthesis of the ligands L^2 and L^3 : i) 4,6-dichloro-pyrimidine, LiCl, Pd(PPh₃)₄, toluene, ii) H₂SO₄, CrO₃, iii) SOCl₂, iv) EtOH, v) Et₂NH, THF [48]

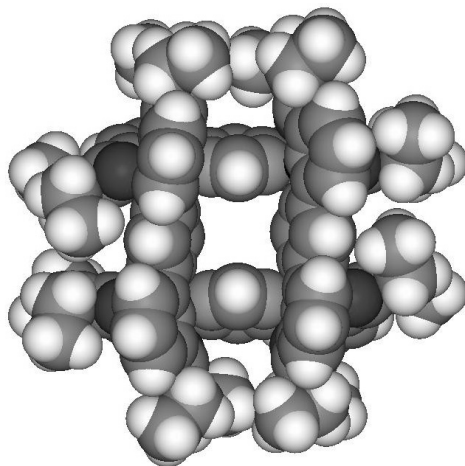


Rysunek 3. Struktury krystaliczne ligandów: estrowego L^2 i amidowego L^3 [48]

Figure 3. Single-crystal X-ray structures of ligands L^2 and L^3 [48]

Zaprojektowane i otrzymane ligandy mają dwie niezwykle *N,N,O* trójkleszczowe podjednostki, idealne do kompleksowania jonów metali z preferencjami do oktaedrycznej geometrii koordynacyjnej. W wyniku reakcji tych ligandów otrzymano krat-

kowe związki kompleksowe z jonami Fe(II), Co(II) i Zn(II). Analiza rentgenowska kompleksów cynku i kobaltu wykazała wokół tych jonów geometrię oktaedryczną (Rys. 4).



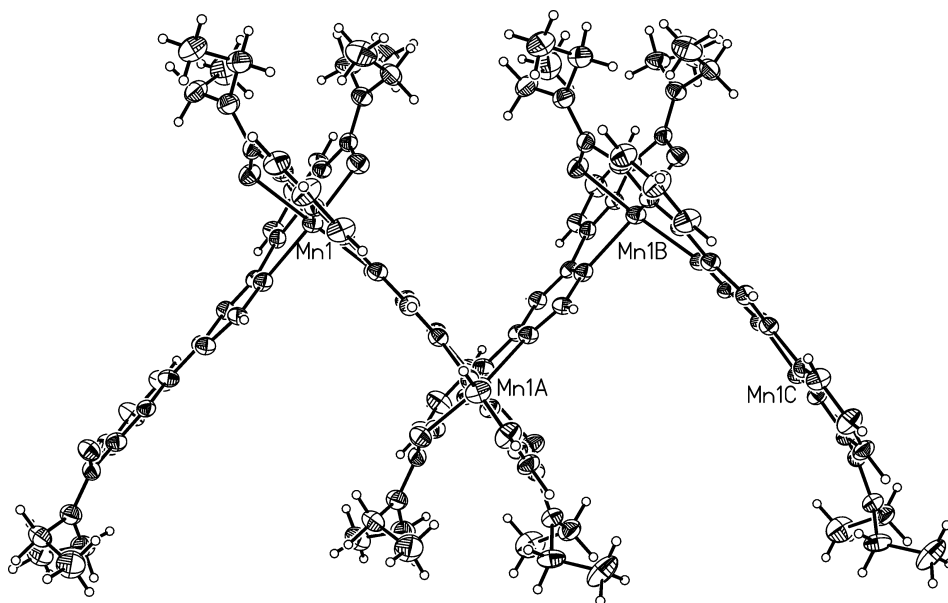
Rysunek 4 Struktura krystaliczna kompleksu kratkowego typu [2x2] z jonami Co(II) [48]

Figure 4. Crystal structure of [2x2] grid-type complex of Co(II) and schematic representation of the self-assembly [48]

Zaobserwowano interesujące właściwości luminescencyjne kompleksu cynku. Widmo UV-VIS kompleksu kratkowego cynku(II) w acetonitrylu przedstawia pasmo absorpcji z maksimum około 300 nm. Kompleks wykazuje intensywną emisję z maksimum przy 372 nm podczas wzbudzenia go długością fali $\lambda = 270$ nm (w temp. pok.). Luminescencja tego kompleksu jest wynikiem przejścia ze wzbudzonego stanu singletowego liganda [64]. Kompleks żelaza(II) ma właściwości paramagnetyczne, nietypowe dla kompleksów tego jonu, występującego z ligandem nie posiadającym podstawników fenylowych [48].

2.2. KOMPLEKS POLIMERYCZNY Mn(II) Z $(N_2O)_2$ -DONOROWYM LIGANDEM AMIDOWYM TYPU TERPIRYDYN

W wyniku równomolowej reakcji $Mn(ClO_4)_2$ i liganda amidowego L^3 powstał nowy polimeryczny zygzakowaty kompleks (Rys. 5) [49]. Każdy jon metalu w utworzonym łańcuchu ma lekko zniekształconą oktaedryczną strukturę, którą tworzą N_2O -atomy donorowe z dwóch skoordynowanych z nim ligandów. Analiza widma 1H NMR wskazuje na paramagnetyczne właściwości kompleksu. Obecność na widmie ESI-MS sygnałów przy $m/z = 586 [MnL(ClO_4)]^+$, $460 [MnL_2]^{2+}$, $433 [L]^+$, $244 [MnL]^{2+}$ wskazuje na istnienie w roztworze kilku mniejszych oligomerów, będących wynikiem fragmentacji polimeru.

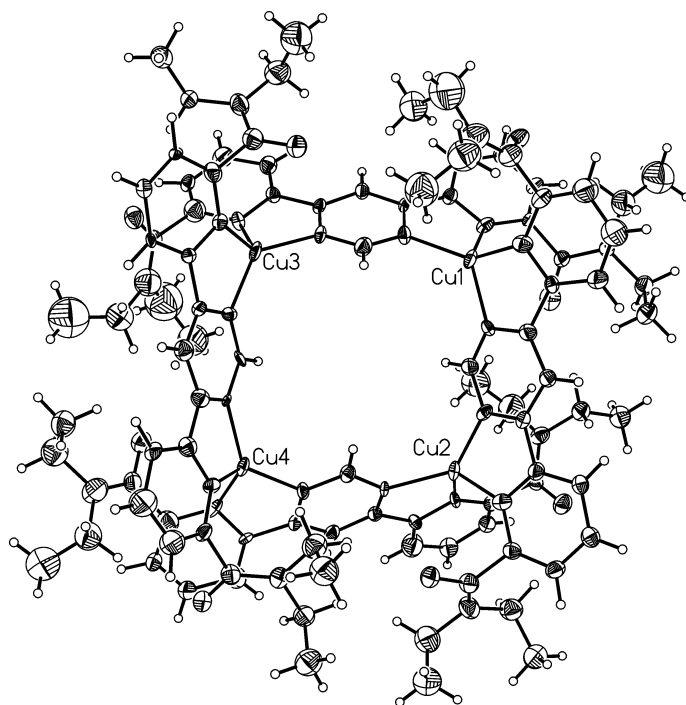


Rysunek 5. Struktura krystaliczna kompleksu polimerycznego Mn(II) [49]
 Figure 5. Crystal structure of polymeric complex of Mn(II) [49]

2.3. KOMPLEKSY KRATKOWE Cu (I) I Ag(I) Z (N₂O)₂-DONOROWYM LIGANDEM AMIDOWYM TYPU TERPIRYDYNY

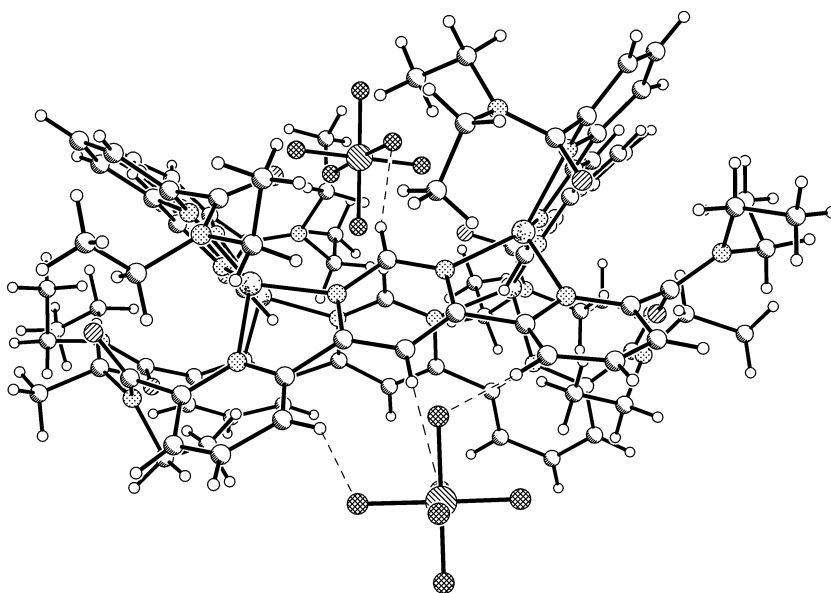
Ligand amidowy L³ C₂₄H₂₈N₆O₂ w reakcji z jonami wykazującymi tendencję do tworzenia związków kompleksowych (z geometrią tetraedryczną) takimi jak Cu(I) czy Ag(I) utworzył również kompleks kratkowy typu [2x2], w którym każdy jon metalu koordynuje z dwoma donorowymi atomami azotu dwóch ligandów (Rys. 6) [49].

Kompleksy kratkowe połączone są ze sobą poprzez relatywnie krótkie wiązania wodorowe C-H...F, gdzie F pochodzi od PF₆⁻. Jeden z przeciwnionów leży nad płaszczyzną, w której znajdują się jony Cu(I), a drugi pod nią. Wszystkie cztery przeciwniony spełniają rolę „kleju” dla trójwymiarowej struktury krystalicznej kompleksu (Rys. 7).



Rysunek 6. Struktura krystaliczna kompleksu kratkowego Cu(I) [49]

Figure 6. Crystal structure of [2x2] grid-type complex of Cu(I) [49]



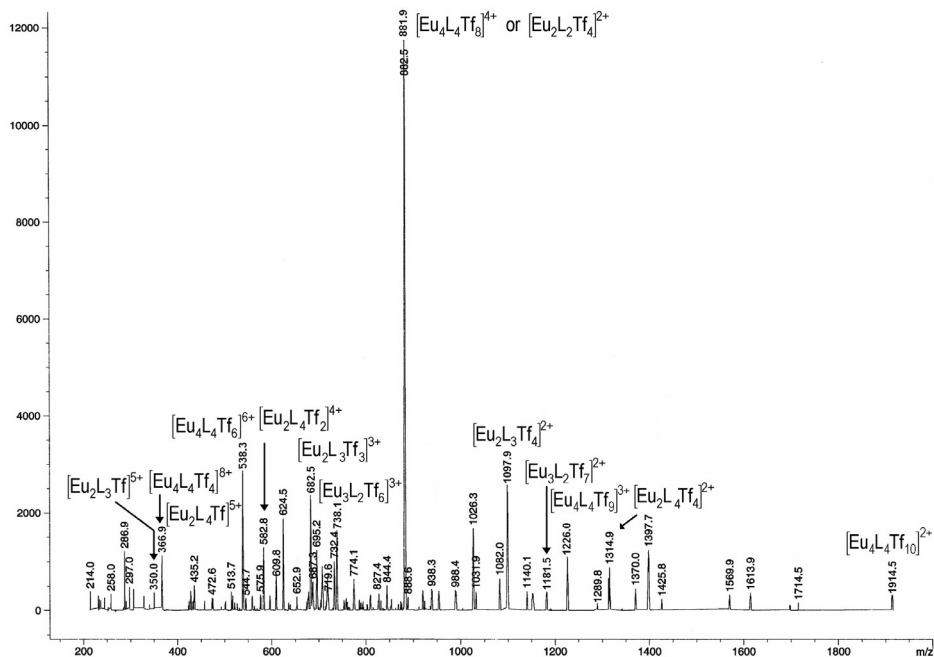
Rysunek 7. Fragment trójwymiarowej sieci krystalicznej z przeciwjonami PF₆⁻ [49]

Figure 7. Fragment of the 3D structure of complex of Cu(I) with PF₆⁻ counterions below and above the Cu-plane [49]

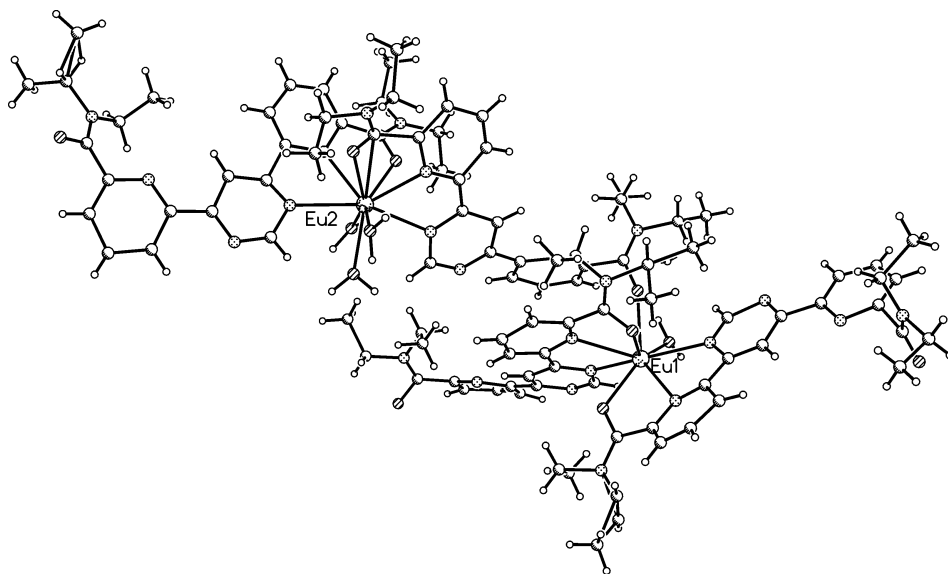
2.4. KOMPLEKSY JONÓW LANTANOWCÓW Z $(N_2O)_2$ -DONOROWYM LIGANDEM AMIDOWYM TYPU TERPIRYDYNY

Z ligandem amidowym $L^3 C_{24}H_{28}N_6O_2$ podjęto próby otrzymania kompleksów kratkowych z jonami lantanowców: Sm(III), Eu(III), Tb(III) i Dy(III) [50]. Gdy reakcje prowadzono w stosunku molowym M:L1:1 otrzymano wiele rodzajów związków kompleksowych, takich jak kompleksy kratkowe, helikaty czy związki o różnej stechiometrii M_xL_y . Wnioski te oparto na podstawie analizy widm ESI-MS (Rys. 8).

Przedstawione widmo kompleksu Eu(III) (Rys. 8) wyraźnie wskazuje na istnienie wielu form związków kompleksowych, a zwłaszcza kompleksów kratkowych, co stanowi pierwszy przykład efektywności jonów lantanowców w tworzeniu tego typu kompleksów. Gdy próby krystalizacji tych związków nie powiodły się – wówczas zmieniono stosunki molowe M:L na 2:3. Otrzymano dwurdzeniowe kompleksy o stechiometrii M_2L_4 , co potwierdziło rozwiązanie struktury krystalicznej dla dwurdzeniowego kompleksu Eu(III), składającego się z czterech ligandów (Rys. 9).



Rysunek 8. Widmo ESI-MS kompleksu Eu(III) z ligandem amidowym $L^3 C_{24}H_{28}N_6O_2$
 Figure 8. The ESI-MS spectrum of the complex of Eu(III) with ligand L^3

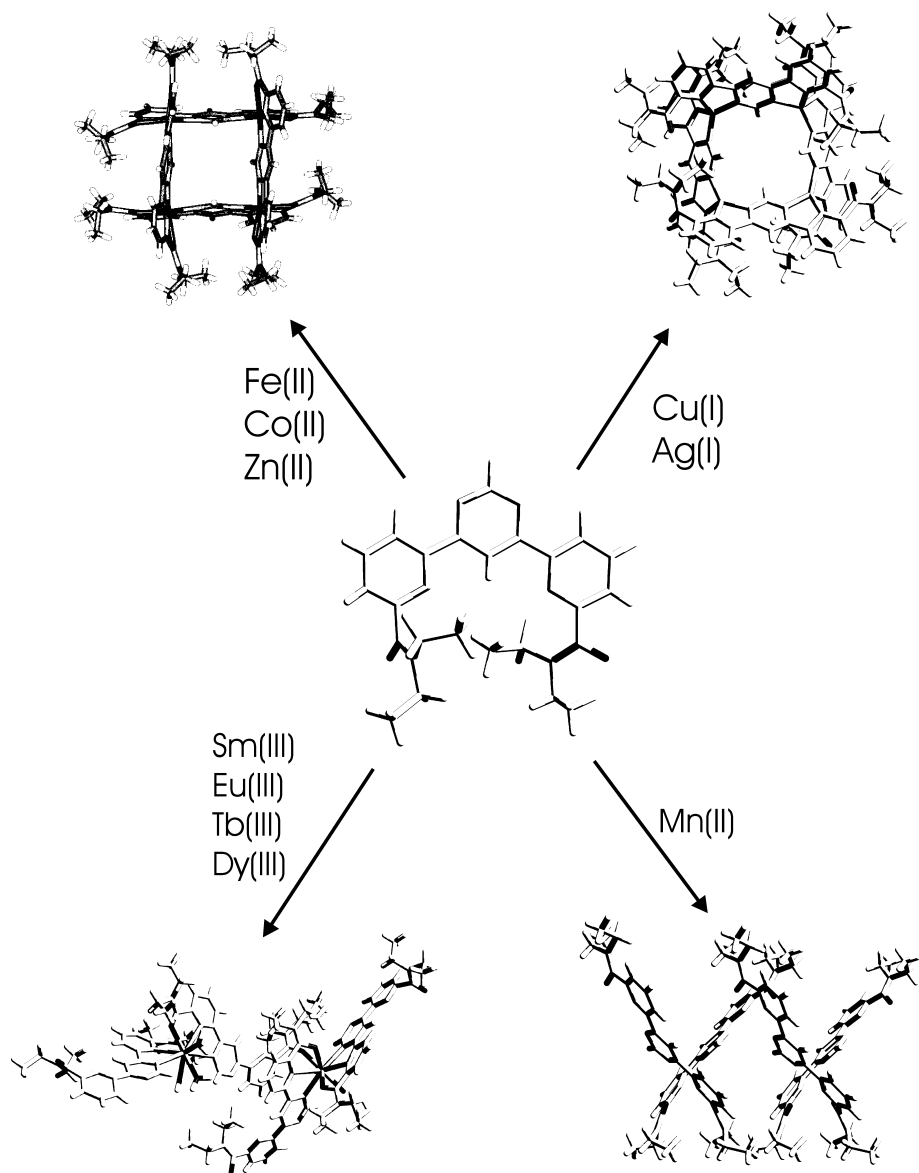


Rysunek 9. Struktura krystaliczna kompleksu dwurdzeniowego Eu(III) [50]

Figure 9. Crystal structure of dinuclear complex of Eu(III) [50]

Jony europu (III) charakteryzują się liczbą koordynacyjną 9. Jeden z jonów Eu(III) jest skoordynowany z dwoma ligandami L^3 (z których jeden ligand pełni rolę mostka), natomiast drugi jon koordynuje z trzema ligandami. Wokół jednego z jonów europu(III) sferę koordynacyjną uzupełniają 3 cząsteczki wody, zaś sferę koordynacyjną drugiego jonu europu(III) tworzą: atomy donorowe dwóch jednostek N_2O -donorowych, jeden atom tlenu mostkującego liganda, atom tlenu pochodzącego od jonu $CF_3SO_3^-$ i jedna cząsteczka wody. Różne ilości cząsteczek wody wokół jonów europu(III) potwierdziły badania spektroskopii emisyjnej w zakresie przejścia ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$. Wszystkie otrzymane kompleksy lantanowców zbadano metodą emisyjną wskazując na ich interesujące właściwości luminescencyjne [50].

Właściwości „kameleonowe” liganda amidowego L^3 obrazuje Schemat 4.

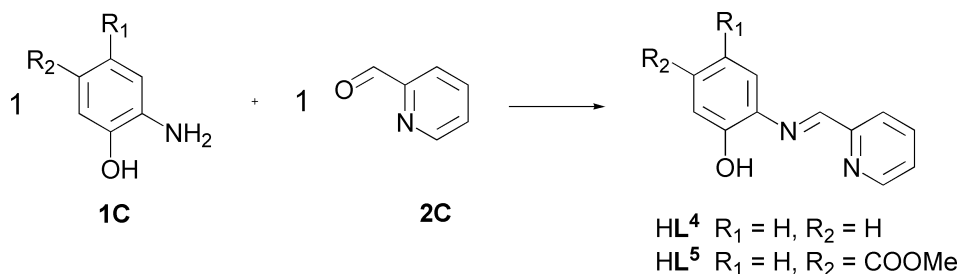


Schemat 4. Struktury krystaliczne liganda amidowego L^3 i związków kompleksowych z jonami d - i f -elektro-
nowych jonów metali [49]

Scheme 4. Crystal structures of ligand L^3 and its complexes with d - and f -metal ions [49]

2.5. KOMPLEKSY Z N₂O-DONOROWYMI LIGANDAMI HL⁴ I HL⁵ TYPU ZASAD SCHIFFA

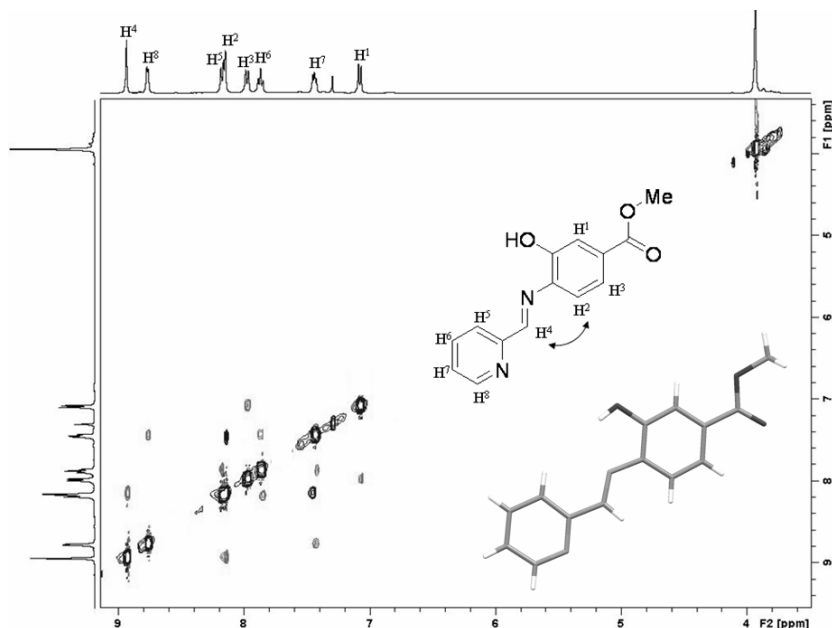
Następnym celem prowadzonych badań była synteza i wykazanie właściwości wiążących N₂O-donorowych ligandów HL⁴ (L⁴=C₁₂H₉N₂O) [65, 66] i HL⁵ (L⁵ = C₁₄H₁₁N₂O₃) [52] (przedstawione na Schemacie 5).



Schemat 5. Synteza trójdonorowych ligandów typu zasad Schiffa HL⁴ i HL⁵ [51, 52]

Scheme 5. The synthesis of tridentate Schiff-base ligands HL⁴ and HL⁵ [51, 52]

Ligand HL⁵ scharakteryzowano za pomocą technik spektroskopowych: 1D i 2D NMR, IR, ESI-MS, analizy elementarnej oraz rozwiązano jego strukturę krystaliczną (Rys. 10)



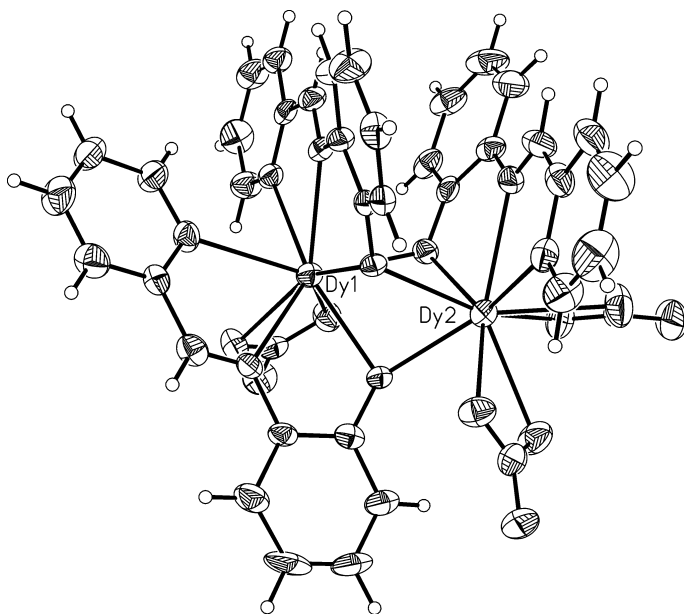
Rysunek 10. Widmo NOESY i struktura krystaliczna liganda HL⁵ [52]

Figure 10. The NOESY spectrum and X-ray crystal structure of ligand HL⁵ [52]

Widmo NOESY (ang. *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy* – homojądrowa technika wielowymiarowa) NMR przedstawia oddziaływania pomiędzy protonami H_4 - H_2 oczekiwane dla formy *E*. Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe pomiędzy grupą fenylową OH a iminowym atomem azotu stabilizuje taką właśnie formę cząsteczki, co potwierdziła analiza strukturalna.

Reakcje liganda HL^4 z azotanami(V) lantanowców miały sprawdzić jego zdolność do wymuszenia koordynacji oktaedrycznej jonów lantanowców. Pożądane kompleksy o stechiometrii metal-ligand 1:2 wykazywałyby liczbę koordynacyjną 6 występującą w kompleksach kratkowych, zbudowanych z ligandów zawierających jednostki terpirydynowe.

Wykazano, że trójdonorowy ligand typu zasad Schiffa reaguje nie tylko z jonami metali przejściowych [66, 67] lecz także z azotanami(V) lantanowców(III), tworząc kompleksy homodwurdzeniowe typu $[M_2L^4_3(NO_3)_3]$, gdzie $M = Y^{3+}, La^{3+}, Nd^{3+}, Sm^{3+}, Eu^{3+}, Gd^{3+}, Tb^{3+}, Dy^{3+}, Ho^{3+}, Lu^{3+}$ [51].



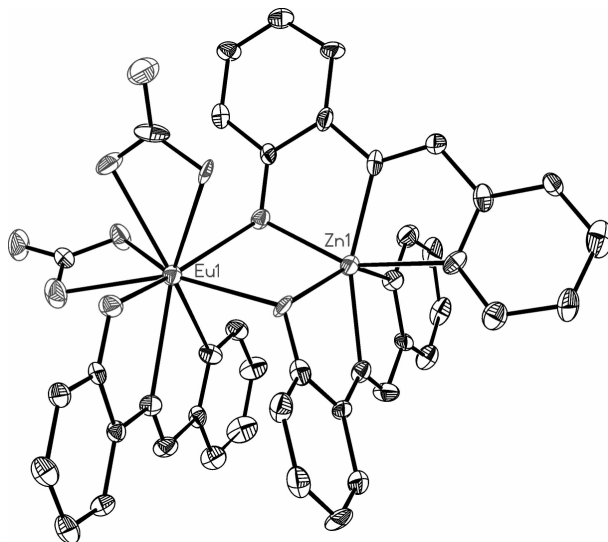
Rysunek 11. Struktura krystaliczna kompleksu $[Dy_2L^4_3(NO_3)_3]$ [51]

Figure 11. Crystal structure of complex $-[Dy_2L^4_3(NO_3)_3]$ [51]

Struktury uzyskanych kompleksów zostały potwierdzone badaniami spektroskopii masowej (ESI-MS), IR, analizą elementarną oraz analizą rentgenowską dla kompleksów Nd(III), Eu(III) i Dy(III). Struktura krystaliczna kompleksów wskazuje na obecność dwóch jonów metali, trzech ligandów L^4 oraz przeciwjonów NO_3^- uzupełniających sferę koordynacyjną jonów lantanowców do najbardziej charakterystycznej dla nich liczby koordynacyjnej 9 (Rys. 11).

2.6. HETERORDZENIOWE KOMPLEKSY Z N₂O-DONOROWYM LIGANDEM TYPU ZASAD SCHIFFA

Przeprowadzono także reakcje otrzymania kompleksu heterodwurdzeniowego powstałego w wyniku samoorganizacji liganda HL⁴ oraz soli dwóch różnych jonów lantanowców. Reakcja liganda HL⁴ z Eu(NO₃)₃ oraz Dy(NO₃)₃ w stosunku molowym 3:1:1 prowadzi do utworzenia heterordzeniowego kompleksu [MM'L₃(NO₃)₃], gdzie M = Eu³⁺, a M' = Dy³⁺.



Rysunek 12. Struktura krystaliczna kompleksu [EuZnL₃(NO₃)₂] [51]

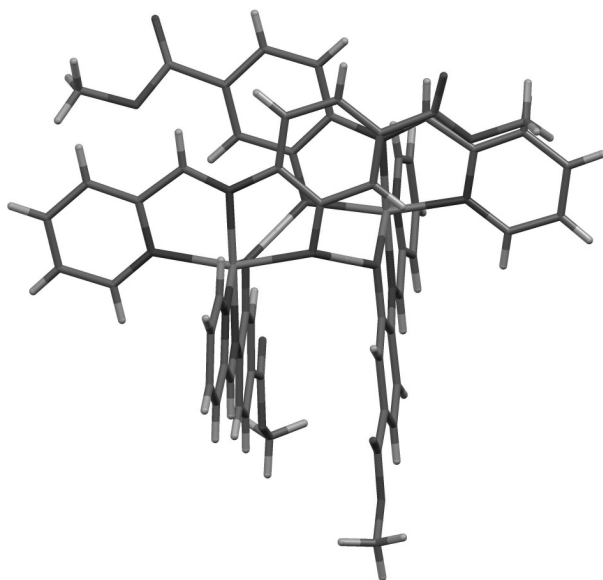
Figure 12. Crystal structure of complex – [EuZnL₃(NO₃)₂] [51]

Chcąc wykazać możliwość uzyskania kompleksu heterordzeniowego, mającego w swej strukturze jony *d*- i *f*-elektronowe, przeprowadzono reakcje syntezy tego typu kompleksu. Jednoetapowa reakcja liganda HL⁴ z Eu(NO₃)₃ oraz Zn(NO₃)₂ w stosunku molowym 3:1:1 doprowadziła do uzyskaniażądanego kompleksu. Rozwiązana struktura krystaliczna kompleksu wykazała obecność dwóch jonów metali (Eu³⁺, Zn²⁺), trzech ligandów L⁴ oraz dwóch przeciwjonów NO₃⁻, uzupełniających sferę koordynacyjną jonu lantanowca do liczby koordynacyjnej 9. Cynk uzyskuje liczbę koordynacyjną 6 (Rys. 12).

Obliczenia kwantowo-chemiczne [51] wykazały, że tworzenie kompleksu heterordzeniowego [EuZnL₃(NO₃)₂] jest korzystniejsze energetycznie niż tworzenie kompleksu homordzeniowego [Eu₂L₃(NO₃)₃].

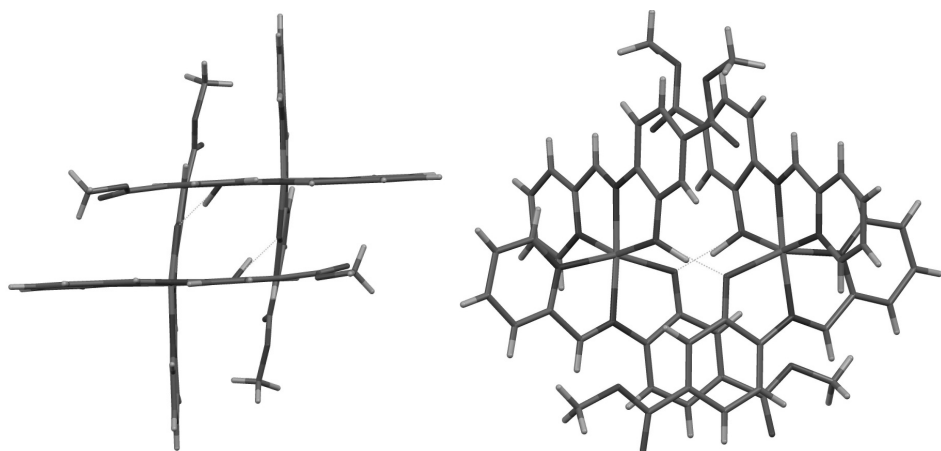
Samoorganizacja liganda HL⁵ z jonami Cu(I), Cu(II), Co(II) i Zn(II) doprowadziła do utworzenia analogów kompleksów kratkowych tzw. *grid-corner* [52]. Dwa monordzeniowe kompleksy [M(HL⁵)(L⁵)⁺ poprzez bardzo silne liniowe wiązania

wodorowe pomiędzy sprotonowaną i niezdeprotonowaną formą cząsteczek liganda HL^5 tworzą kratkę (Rys. 13 i 14).



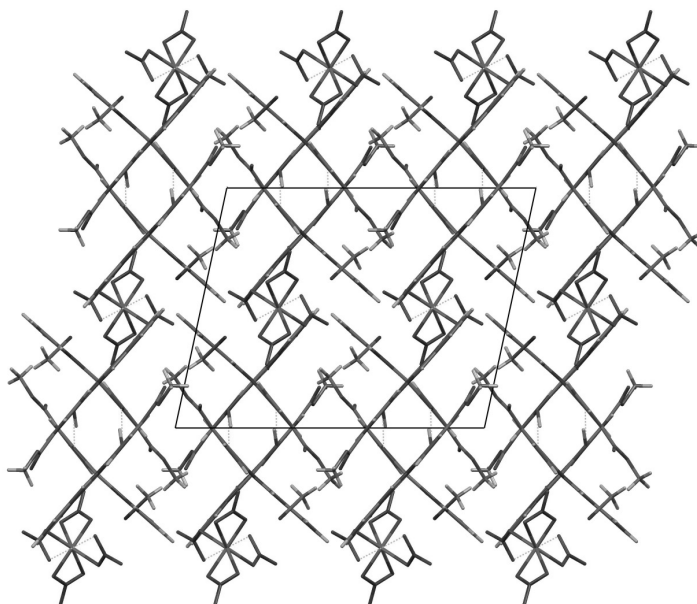
Rysunek 13. Kompleks dimeryczny Cu(II) [52]
Figure 13. The dimeric complex of Cu(II) [52]

Oba ligandy HL^5 są trójfunkcyjne a jony metali szesciokoordynacyjne z geometrią oktaedryczną. Grupy estrowe są prawie w tej samej płaszczyźnie, co pierścień aromatyczny (Rys. 13 i 14).



Rysunek 14. Kompleks pseudo-kratkowy Zn(II) [52]
Figure 14. Grid-corner complex of Zn(II) [52]

W kompleksie miedzi(II) zaobserwowano obecność jonu PF_6^- podczas gdy, w kompleksie cynku(II), stosunkowo rzadko występujący jon $[\text{Zn}(\text{NO}_3)_4]^{2-}$, w którym to jon cynku przyjmuje geometrię tetraedryczną (każdy anion azotanowy(V) koordynuje poprzez jeden atom tlenu). W sieci krystalicznej kompleksu cynku(II) dostrzeżono również obecność cząsteczek rozpuszczalnika, acetonitrylu (Rys. 15).



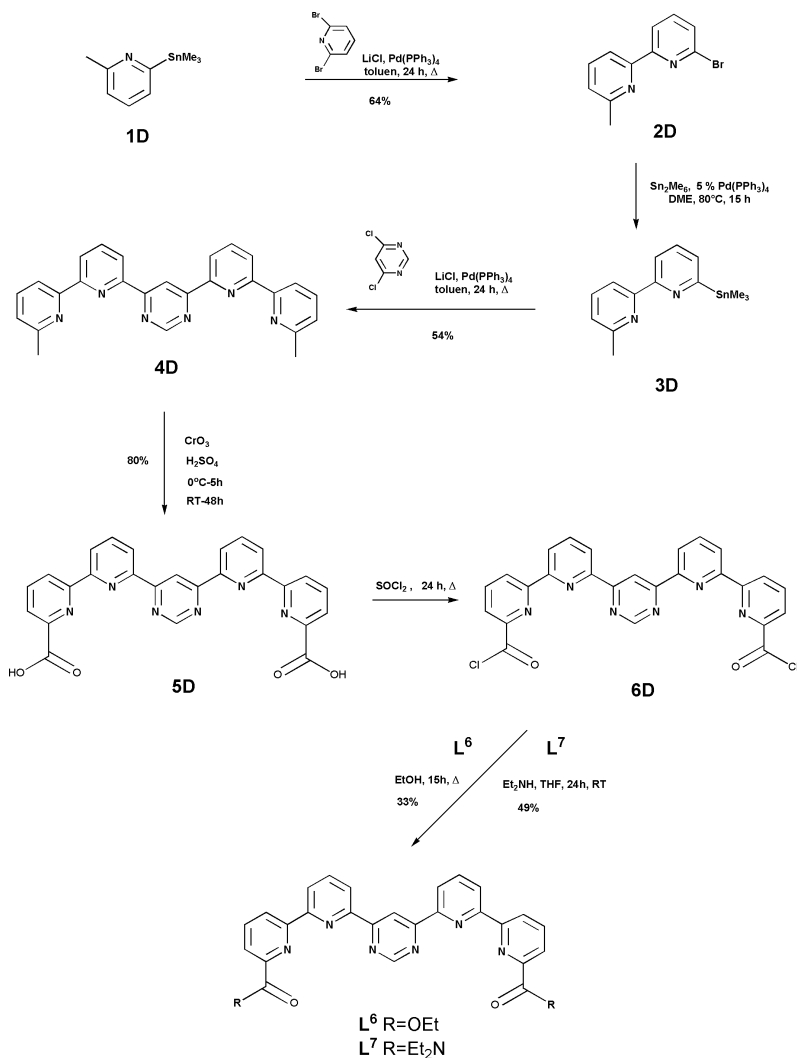
Rysunek 15. Upakowanie cząsteczek w kryształ kompleksu Zn(II) [52]

Figure 15. The crystal packing of Zn(II) complex [52]

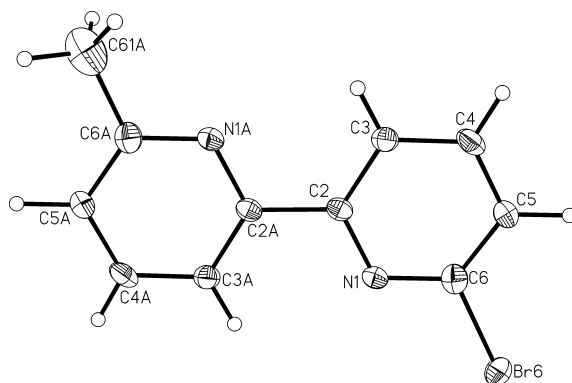
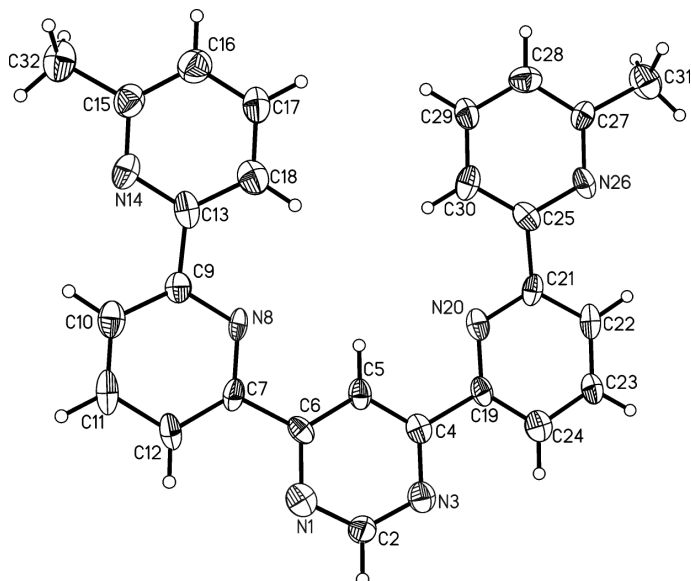
2.7. KOMPLEKSY Z $(\text{N}_3\text{O})_2$ -DONOROWYMI LIGANDAMI TYPU TERPIRYDYNY

Jak można było przypuszczać, przedstawione dotąd ligandy mają zbyt mało miejsc koordynacyjnych dla jonów lantanowców, które preferują raczej wyższe niż 6 liczby koordynacyjne. Wobec tego następnym celem prowadzonych badań była synteza ligandów z większą liczbą atomów donorowych.

Otrzymano takie ligandy z dwoma czterokoordynacyjnymi podjednostkami. Przeprowadzono wieloetapową syntezę N_3O -donorowych ligandów L^6 i L^7 , według przedstawionego Schematu 6.

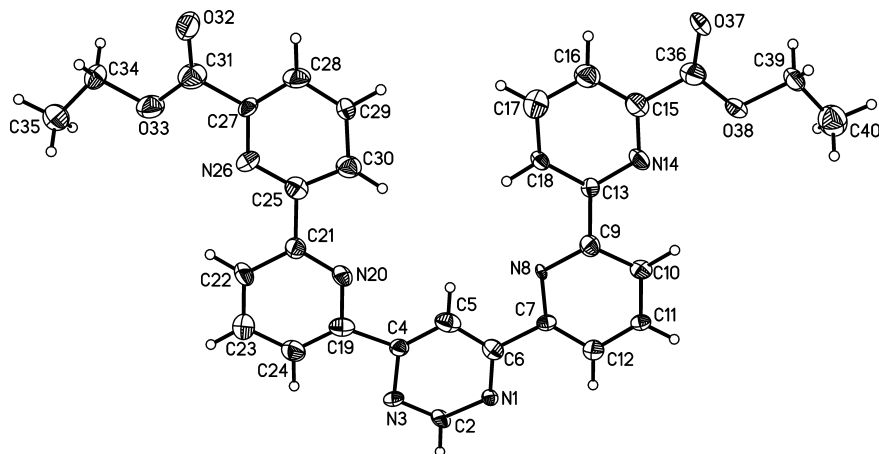
Schemat 6. Synteza ligandów estrowego L^6 i amidowego L^7 [53]Scheme 6. Reaction scheme for the synthesis of the ligands L^6 and L^7 [53]

2-metylo-6-trimetylostannylopirydynę **1D** połączono z 2,6-dibromopirydyną w reakcji sprzęgania Stilla [63] i uzyskano niesymetryczny związek **2D** (Rys. 16) [53, 68].

Rysunek 16. Struktura krystaliczna **2D** C₁₁H₉N₂Br [53]Figure 16. Crystal structure of **2D** C₁₁H₉N₂Br [53]Rysunek 17. Struktura krystaliczna **4D** C₂₆H₂₀N₆ [53]Figure 17. Crystal structure of **4D** C₂₆H₂₀N₆ [53]

Mieszaninę związku **2D**, heksametylocyny i katalizator palladowy ogrzewano w obojętnej atmosferze DME. Po reakcji odparowano (do sucha) rozpuszczalnik. Następnie do mieszaniny poreakcyjnej dodano 4,6-dichloropirydynę, prowadząc reakcję sprzęgania Stille'a [63] otrzymano związek **4D** (Rys. 17), którego grupy metylowe utleniono za pomocą CrO₃ (w obecności stężonego kwasu siarkowego utrzymując temperaturę 0°C).

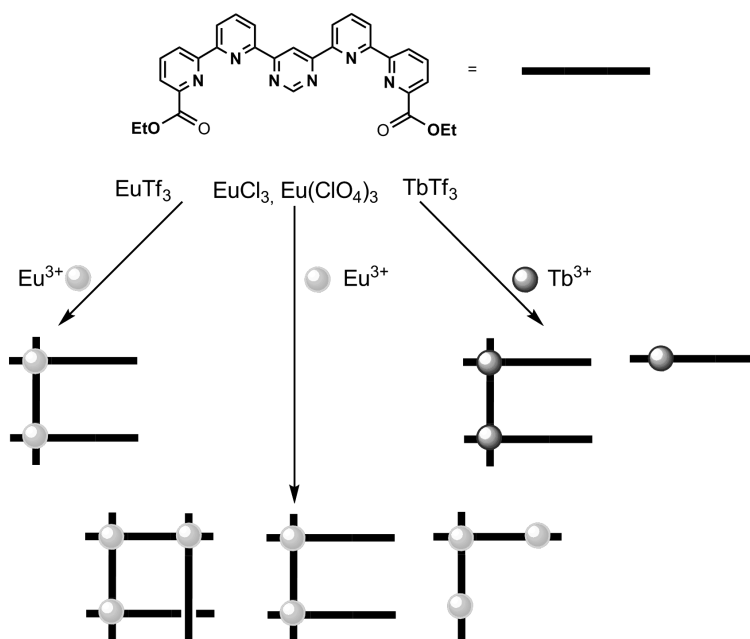
Reakcja kwasu dikarboksylogowego **5D** z chlorkiem tionylu doprowadziła do powstania dichlorku kwasowego **6D**, na który podziało etanolem lub dietyloaminą w THF w celu uzyskania odpowiedniego liganda (**L⁶**, **L⁷**). Charakterystyki poszczególnych związków dokonano za pomocą metod spektroskopowych, takich jak NMR, IR, FAB-MS oraz analizy elementarnej, ponadto rozwiązano strukturę krystaliczną liganda estrowego, która jest pierwszą strukturą krystaliczną dla pięciopierścieniowego liganda bez jonu metalu (Rys. 18).



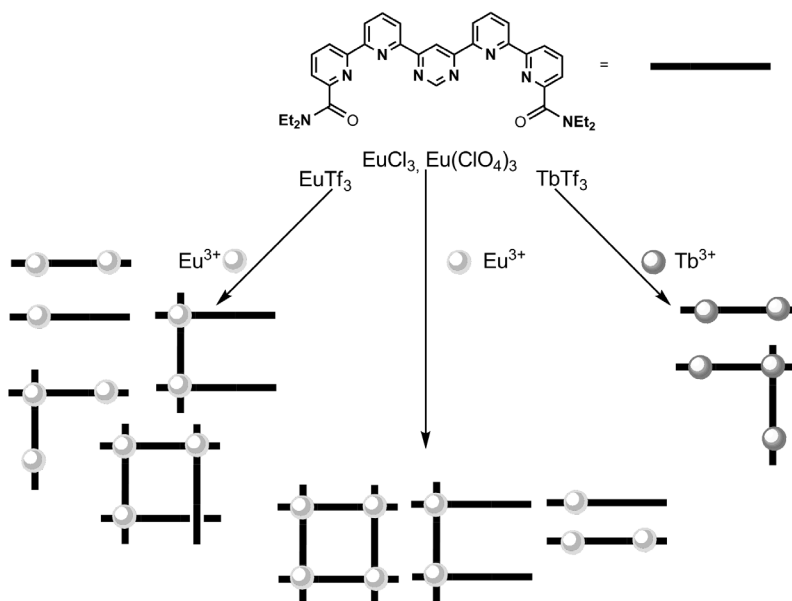
Rysunek 18. Struktura krystaliczna liganda estrowego **L⁶** [53]

Figure 18. Crystal structure of ligand **L⁶** [53]

Następnie przeprowadzono reakcje kompleksowania otrzymanych ligandów (**L⁶**, **L⁷**) z jonami Eu(III) oraz Tb(III) [54]. W wyniku supramolekularnego procesu samoorganizacji uzyskano bardzo ciekawe wyniki. Z analizy widm wykonanych za pomocą ESI-MS można przypuszczać, że powstało wiele rodzajów kompleksów o różnej stechiometrii metal-ligand (Schemat 7 i 8). Zbadano interesujące właściwości luminescencyjne otrzymanych kompleksów, zawierających w swej budowie organiczne jednostki chromoforowe. Celowe zastosowanie dwóch różnych soli europu(III) – równocześnie {EuCl₃ i Eu(ClO₄)₃} wynikało z wcześniej uzyskanych rezultatów potwierdzających łatwiejszą krystalizację przy stosowaniu mieszanych przeciwionów [33].

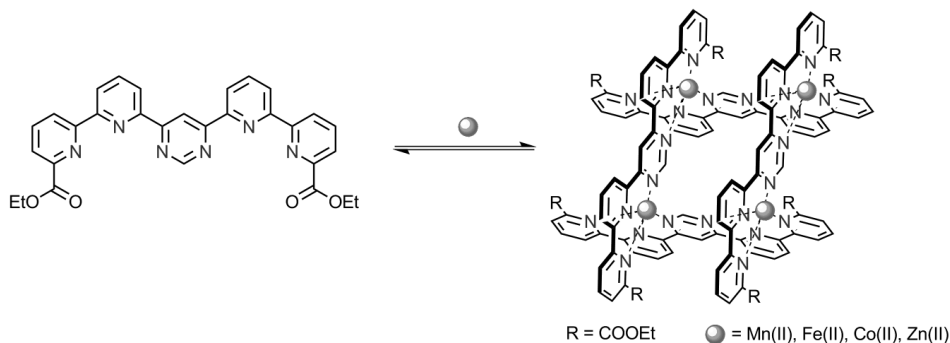


Schemat 7. Tworzenie różnych struktur supramolekularnych z ligandem estrowym L^6
 Scheme 7. The formation of many supramolecular architectures with ligand L^6



Schemat 8. Tworzenie różnych struktur supramolekularnych z ligandem amidowym L^7
 Scheme 8. The formation of many supramolecular architectures with ligand L^7

W reakcji kompleksowania jonów Mn(II), Fe(II), Co(II) i Zn(II) z (N_3O)₂-donorowym ligandem amidowym **L**⁷ otrzymano kompleksy kratkowe typu [2×2] (Schemat 9). Jony te mają tendencję do przyjmowania liczby koordynacyjnej 6, a co za tym idzie geometrii oktaedrycznej, dlatego wiążą się z ligandem o budowie symetrycznej z jednostkami terpirydynowymi. Założono, że we wszystkich przypadkach reakcji kompleksowania, atomy tlenu pochodzące od grup donorowych liganda nie biorą udziału w wiązaniu koordynacyjnym. Analiza ESI-MS wskazuje na tworzenie się kompleksów z czterema centrami metalicznymi [54].

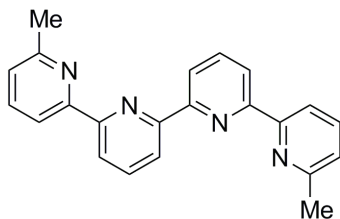


Schemat 9. Reakcja tworzenia kompleksów kratkowych Mn(II), Fe(II), Co(II) i Zn(II) typu [2x2]

Scheme 9. Schematic representation of the self-assembly of [2x2] grids of Mn(II), Fe(II), Co(II) and Zn(II)

3. KOMPLEKSY Z N_4 -DONOROWYM LIGANDEM TYPU TETRAPIRYDYNY

Jako produkt uboczny reakcji otrzymywania **4D** [53] powstał ligand tetrapirydynowy N_4 -donorowy **L**⁸ (Rys. 19) [56].

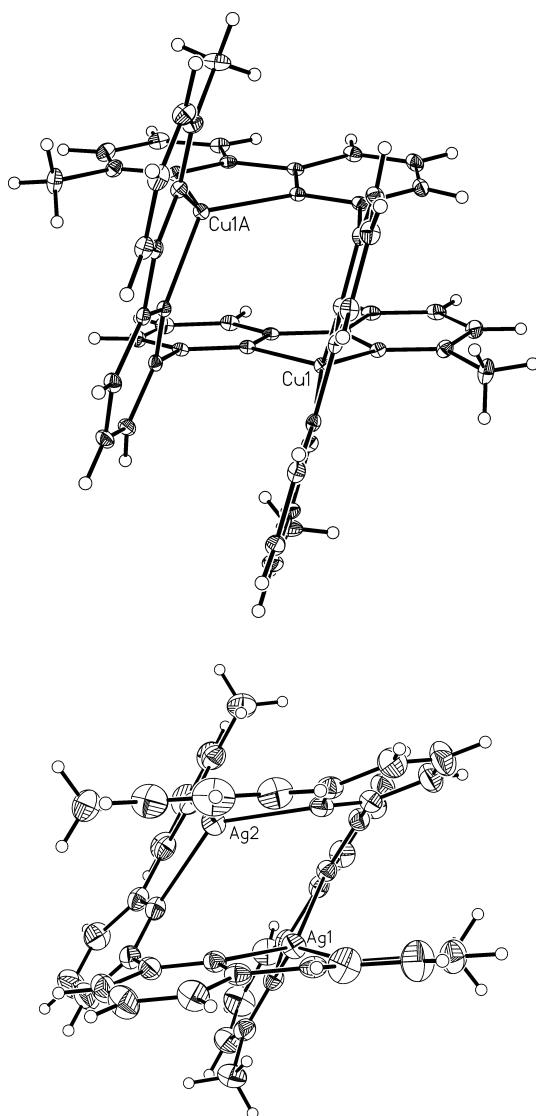


Rysunek 19. Ligand **L**⁸ [56]

Figure 19. Ligand **L**⁸ [56]

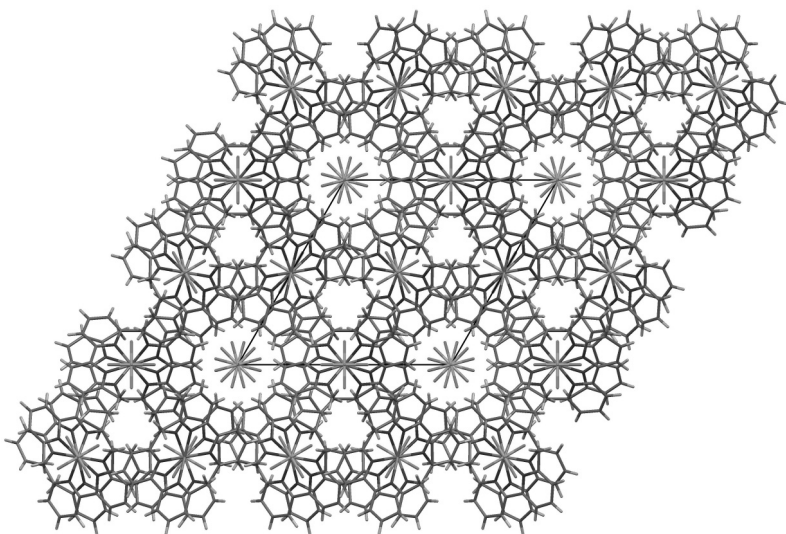
Samoorganizacja liganda **L**⁸ z jonami miedzi(I) i srebra(I) doprowadziła do utworzenia homodwurdzeniowych helikalnych związków kompleksowych, których struktura została potwierdzona przez analizę rentgenograficzną otrzymanych kryszta-

łów (Rys. 20) [56]. Jony metali są tetraedrycznie skoordynowane przez cztery atomy azotu: dwa atomy azotu pochodzą z jednej cząsteczki liganda L^8 , natomiast dwa pozostałe z drugiej cząsteczki liganda L^8 . Obie cząsteczki liganda L^8 zbudowane są z dwóch niemal płaskich fragmentów bipirydynowych, względem siebie niemal prostopadłych. Struktura krystaliczna stabilizowana jest przez słabe wiązania wodorowe. Fragmenty $(Cu_2L^8_2)$ łączą się ze sobą poprzez słabe wiązania C-H...F, obecne dzięki występowaniu przeciwjonów PF_6^- , pełniących funkcję grup mostkujących.



Rysunek 20. Struktury krystaliczne kompleksów Cu(I) i Ag(I) [56]

Figure 20. Crystal structure of complexes of Cu(I) and Ag(I) [56]



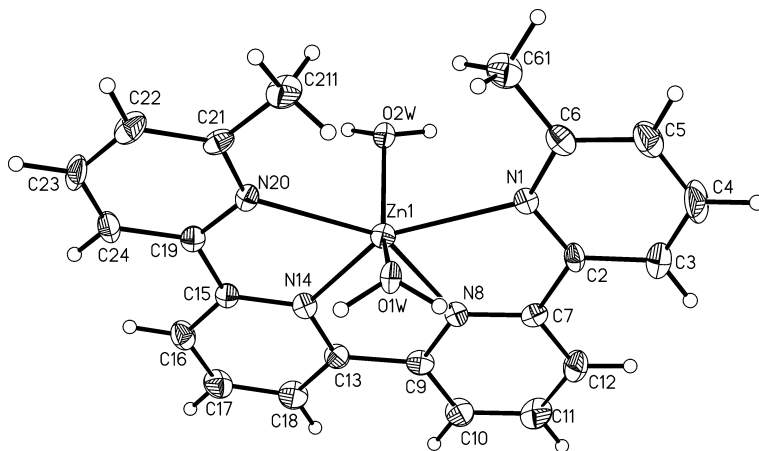
Rysunek 21. Upakowanie cząsteczek w kryształ kompleksu Cu(I) [56]

Figure 21. A partial view of the lattice of Cu(II) complex [56]

Struktura krystaliczna stabilizowana jest przez słabe wiązania wodorowe. C-H...F, obecne dzięki występowaniu przeciwjonów PF_6^- , pełniących funkcję grup mostkujących (Rys. 21).

Istnienie kompleksów helikalnych w roztworze potwierdziła również analiza widm ESI-MS [57].

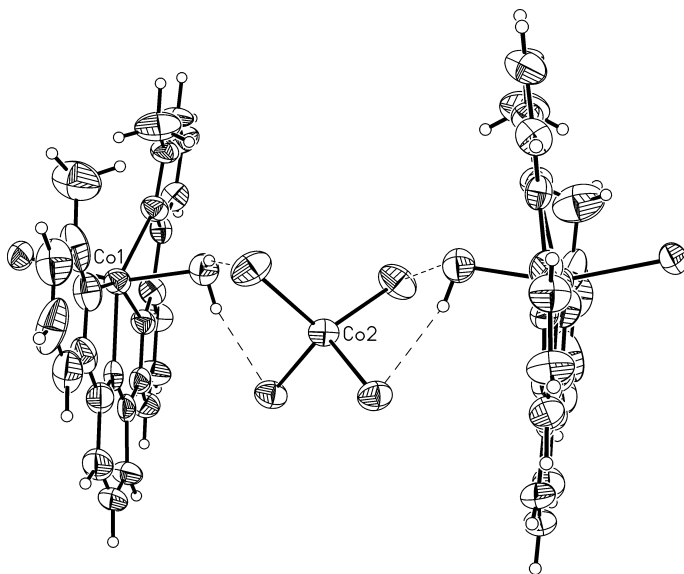
W wyniku kompleksowania liganda czterodonorowego L^8 z jonami metali, które dążą do uzyskania liczby koordynacyjnej 6, takimi jak Co(II) i Zn(II) powstały monordzeniowe kompleksy o strukturze zniekształconego oktaedru z ligandem posiadającym helikalną konformację w płaszczyźnie (Rysunek 22).



Rysunek 22. Struktura krystaliczna monordzeniowego kompleksu Zn(II) [56]

Figure 22. Crystal structure of mononuclear Zn(II) complex [56]

Asocjacje kompleksów kationowych tetrapirydynowego liganda z anionowymi kompleksami zaobserwowano jako wynik samoorganizacji jonów metali przejściowych z ligandem **L**⁸ w mieszaninie rozpuszczalników CH₂Cl₂-CH₃CN, z nadmiarem polarnego acetonitrylu [58]. Przykładem jest związek składający się z dwóch kationów kompleksowych [CoL⁸Cl(H₂O)]⁺ i anionu kompleksowego [CoCl₄]²⁻ (Rys. 23):

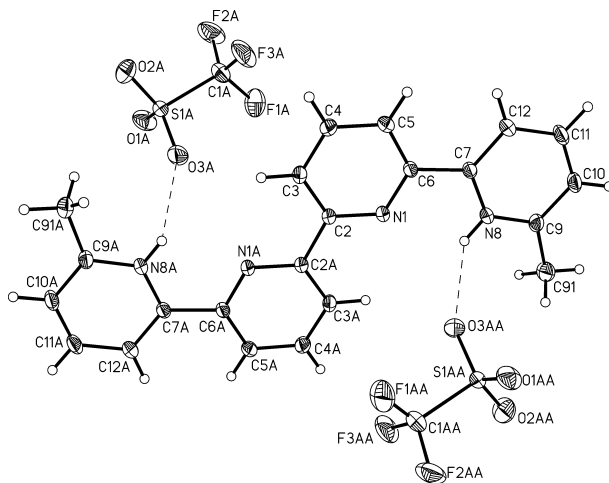


Rysunek 23. Struktura dimerycznego kompleksu Co(II) z [CoCl₄]²⁻ [58]

Figure 23. The structural unit in dimeric complex of Co(II) with [CoCl₄]²⁻ [58]

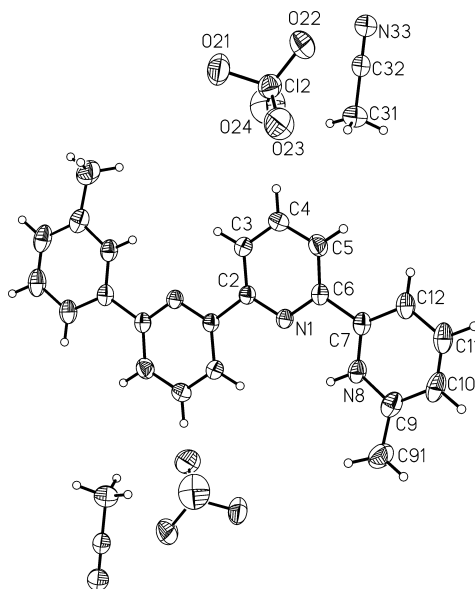
Natomiast w wyniku reakcji liganda **L**⁸ z jonami lantanowców otrzymano produkt to sól podwójnie sprotonowanego liganda [59]. W wyniku reakcji cząsteczek liganda **L**⁸ z Pr(ClO₄)₃·xH₂O, Eu(ClO₄)₃·5H₂O oraz Eu(CF₃SO₃)₃ otrzymano sól liganda **L**⁸ (Rys. 24 i 25). Analiza rentgenograficzna wyizolowanych kryształów pozwoliła na identyfikację soli.

Cząsteczka liganda jest symetryczna, niemal płaska (kąt skręcenia między dwoma końcowymi pierścieniami wynosi ok. 6°). Układ atomów azotu jest następujący: *Z-E-Z*. Protonowanie następuje na dwóch atomach azotu w obu zewnętrznych pierścieniach. W strukturze obecne są jeszcze przeciwjony (nieuporządkowane) i cząsteczki rozpuszczalnika – acetonitrylu; jedne i drugie biorą udział w sieci wiązań wodorowych.

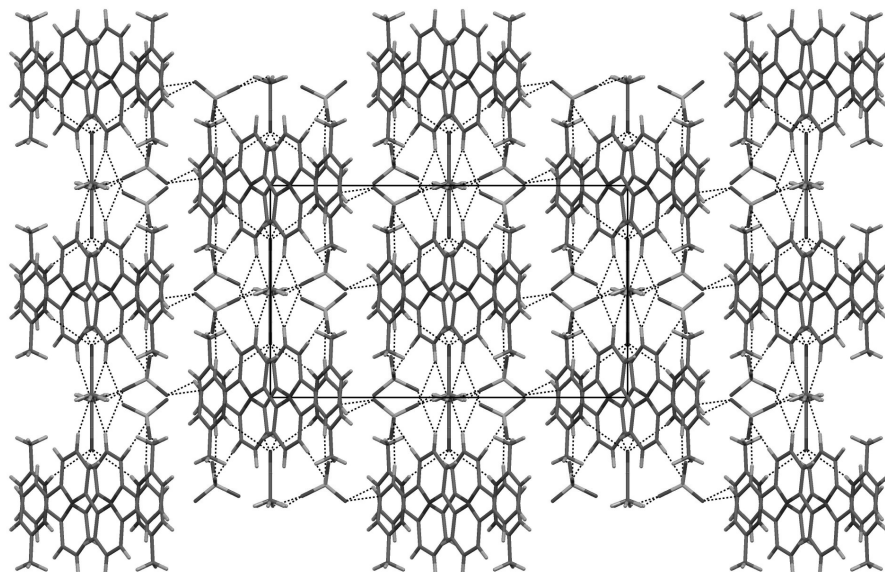


Rysunek 24. Struktura krystaliczna soli $[H_2L^8(CF_3SO_3)_2]$ [59]
 Figure 24. Crystal structure of salt $- [H_2L^8(CF_3SO_3)_2]$ [59]

Struktura krystaliczna stabilizowana jest głównie przez słabe wiązania wodorowe C-H \cdots O, jak również przez słabe wiązania wodorowe pomiędzy atomami wodoru pochodzącymi z protonowanych atomów azotu a atomami tlenu pochodzącymi z przeciwjonów ClO_4^- (Rys. 26).



Rysunek 25. Struktura krystaliczna soli $[H_2L^8(ClO_4)_2](CH_3CN)$ [59]
 Figure 25. Crystal structure of salt $- [H_2L^8(ClO_4)_2](CH_3CN)$ [59]



Rysunek 26. Upakowanie cząsteczek w kryształach soli $[H_2L^8ClO_4]_2[(CH_3CN)]$ [59]

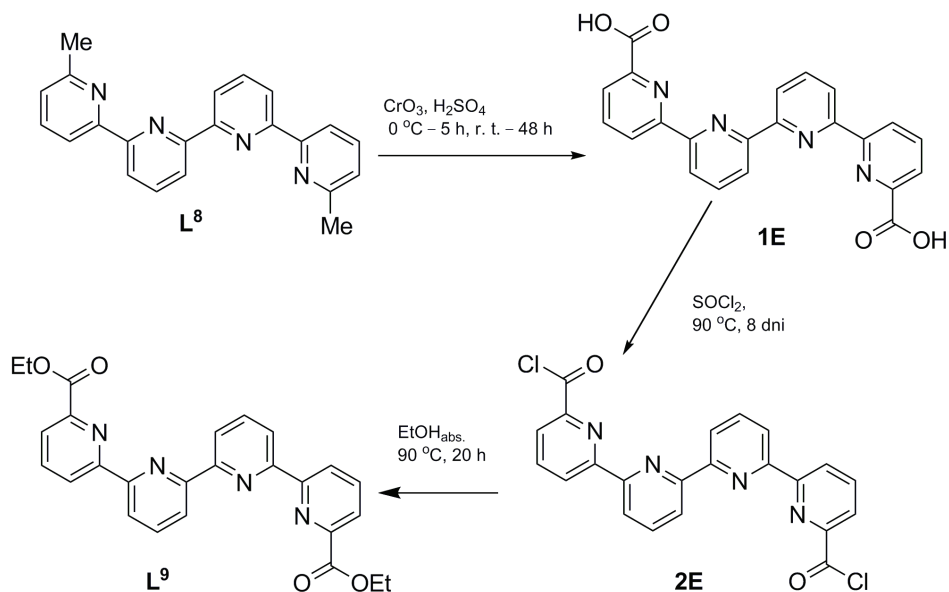
Figure 26. Fragment of the crystal packing of $[H_2L^8ClO_4]_2[(CH_3CN)]$ [59]

Najwyraźniej ani rodzaj przeciwjonu, ani zastosowany jon lantanowca nie wpływają na produkt końcowy reakcji, którym jest sól liganda. Jony lantanowców nie są tak dobrymi centrami koordynującymi N_4 -donorowy ligand, jak jony d -elektronowe, co wynika też z teorii miękkich kwasów i zasad.

4. KOMPLEKSY Z N_4O_2 -DONOROWYM LIGANDEM ESTROWYM

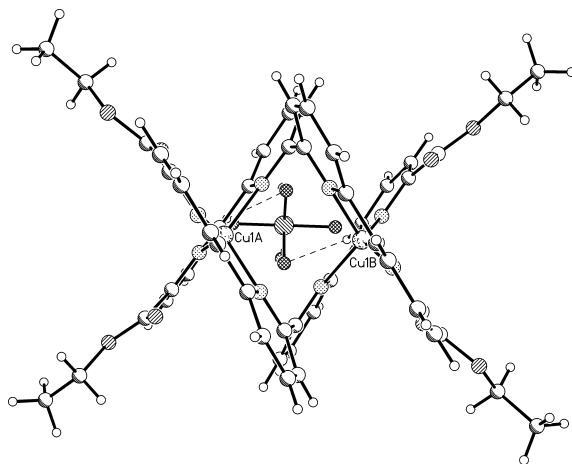
Otrzymano oraz scharakteryzowano nowy ligand heterodonorowy L^9 według procedury zamieszczonej na Schemacie 10 [56].

Prekursorem w syntezie był związek L^8 , który poddano reakcji utleniania z CrO_3 w stężonym kwasie siarkowym otrzymując produkt $1E$. W atmosferze argonu do związku $1E$ dodano $SOCl_2$ i otrzymano związek $2E$. Dodano absolutnego EtOH w celu przekształcenia chlorku kwasowego w ester etylowy. Zamiana grup metylowych terminalnych pierścieni pirydynowych w estrowe doprowadziła do otrzymania liganda L^9 .

Schemat 10. Synteza liganda **L⁹** [56]Scheme 10. Reaction scheme for the synthesis of ligand **L⁹** [56]

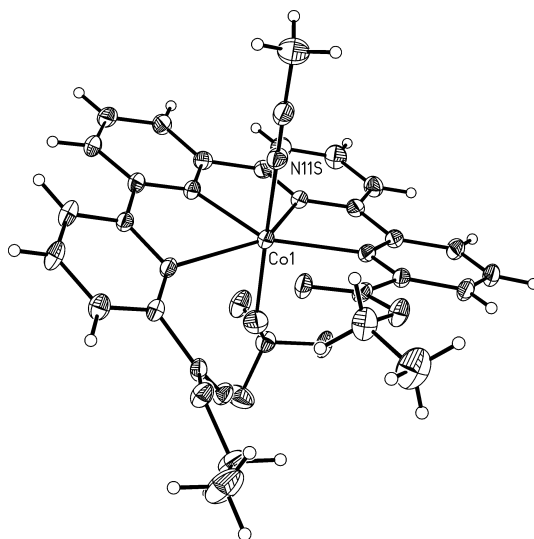
W celu zbadania właściwości kompleksujących, ligand **L⁹** poddano reakcjom z solami metali bloku *d*: $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ i $\text{Co}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + \text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [56]. W reakcji z $\text{Co}(\text{II})$ zastosowano mieszaninę soli w celu ułatwienia procesu krystalizacji w obecności dwóch rodzajów przeciwjonów [33]. W przypadku jonów $\text{Cu}(\text{I})$ z tendencją do geometrii tetraedycznej oczekiwany produkt był dwurdzeniowy kompleks helikalny. Zamiana grup metylowych na estrowe w terminalnych pierścieniach pirydynowych wydaje się nie mieć wpływu na reakcję kompleksowania z jonami miedzi(I). Badania z zastosowaniem spektroskopii ESI-MS produktów reakcji soli $\text{Cu}(\text{I})$ z ligandem **L⁹** (w stosunku molowym 1:1) wskazują ku tworzeniu podwójnego kompleksu helikalnego. Na widmie widoczny jest tylko jeden główny pik, o wartości $m/z = 517$, odpowiadający jonowi $[\text{Cu}_2(\text{L}^9)_2]^{2+}$. Potwierdza to analiza rentgenowska kompleksu otrzymanego w postaci kryształu (Rys. 27).

Sferę koordynacyjną jonów $\text{Cu}(\text{I})$ wypełniają atomy azotu pierścieni pirydynowych dwóch ligandów **L⁹**, liczba koordynacyjna wynosi 4. Atomy tlenu grup estrowych nie biorą udziału w koordynacji. Wpływ na stabilizację układu mają obecne przeciwjony PF_6^- .



Rysunek 27. Struktura krystaliczna kompleksu helikalnego Cu(I) [56]
Figure 27. Crystal structure of the helical complex of Cu(I) [56]

W reakcji z jonami Co^{2+} zaobserwowano tworzenie się monordzeniowego kompleksu, co potwierdziła analiza rentgenograficzna związku (Rys. 28). Jon Co^{2+} skoordynowany z czterema atomami azotu liganda L^9 , atomem tlenu jednej z grup estrowych, atomem fluoru z jonu BF_4^- oraz atomem azotu cząsteczki acetonitrylu przyjmuje liczbę koordynacyjną 7 i geometrię bipiramidy pentagonalnej. Dodatkowo w komórce elementarnej znajdują się cząsteczki rozpuszczalnika i przeciwjony azotanowe(V).



Rysunek 28. Struktura kompleksu Co(II) z liczbą koordynacyjną 7 [56]
Figure 28. Crystal structure of Co(II) complex with coordination number 7 [56]

PODSUMOWANIE

Spontaniczna samoorganizacja kompleksów supramolekularnych jest uzależniona od informacji zawartych w ligandzie i od koordynacyjnych właściwości jonu metalu. Rozmiary kompleksów supramolekularnych są porównywalne do wielkości związków stosowanych w nanotechnologii [69–72], co wskazuje na szeroki wachlarz ich potencjalnych możliwości aplikacyjnych. Stanowi to o kolejnym *novum* w tej perspektywicznej dziedzinie. Skonstruowano monocząsteczkowe nanotranzystory z terpirydynowym związkiem kompleksowym kobaltu [73]. Wysoka skuteczność tych nowych związków może mieć wpływ na ich zastosowanie w czujnikach, nowoczesnych pojemnych pamięciach (dyktafony, aparaty cyfrowe, przenośne komputery, kamery) i maszynach molekularnych [74].

PODZIĘKOWANIE

Składam szczególne podziękowania Prof. Jean-Marie Lehnowi za życzliwość, cenne rady, lata współpracy oraz możliwość prowadzenia części badań w jednym z najlepszych laboratoriów świata. Ponadto równie serdecznie dziękuję wszystkim współautorom prac, w oparciu o które powstał ten artykuł przeglądowy. W przygotowaniu pracy wykorzystano pomoc finansową Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego – grant nr NN 204 2716 33.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1990, **29**, 1304.
- [2] J.S. Lindsey, *New J. Chem.*, 1991, **15**, 153.
- [3] P. Molenveld, J.F.J. Engbersen, D.N. Reinhoudt, *Chem. Soc. Rev.*, 2000, **29**, 75.
- [4] S. Leininger, B. Olenyuk, P.J. Stang, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 853.
- [5] G.F. Swiegers, T.J. Malefetse, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 3483.
- [6] L.M. Greig, D. Philp, *Chem. Soc. Rev.*, 2001, **30**, 287.
- [7] M. Albrecht, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 3457.
- [8] J.C.G. Bünzli, C. Piguet, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 1897.
- [9] T.K. Ronson, H. Adams, T. Riis-Johannessen, J.C. Jeffery, M.D. Ward, *New J. Chem.* 2006, **30**, 26.
- [10] C. Piguet, M. Borkovec, J. Hamacek, K. Zeckert, *Coord. Chem. Rev.*, 2005, **249**, 705.
- [11] M. Hutin, R. Frantz, J.R. Nitschke, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 4077.
- [12] M. Hutin, C.A. Schalley, G. Bernardinelli, J.R. Nitschke, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 4069.
- [13] J.P. Collin, V. Heitz, S. Bonnet, J.-P. Sauvage, *Inorg. Chem. Commun.*, 2005, **8**, 1063.
- [14] F. Henke, C. Schenk, A. Schnepf, *Dalton Trans.*, 2009, 9141.
- [15] S. Yao, Z. Zhang, Y. Li, E. Wang, *Inorg. Chem. Commun.*, 2009, **12**, 937.
- [16] Z.H. Dang, J. Zhao, L. Xu, *Inorg. Chim. Acta*, 2009, **362**, 2999.
- [17] M. Fujita, Y.J. Kwon, O. Sasaki, K. Yamaguchi, K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.* 1995, **117**, 7287.
- [18] R.L. Paul, S.M. Couchman, J.C. Jeffery, J.A. McCleverty, Z.R. Reeves, M.D. Ward, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000, 845.

- [19] A. Camara-Campos, C.A. Hunter, S. Tomas, PNAS 2006, **103**, 3034.
- [20] G.H. Clever, S. Tashiro, M. Shionoya, Angew. Chem. Int. Ed., 2009, **48**, 7010.
- [21] C. Desmarets, C. Policar, L.M. Chaamorean, H. Amouri, Eur. J. Inorg. Chem., 2009, 4396.
- [22] J.Y. Wu, Y.F. Lin, C.H. Chuang, T.W. Tseng, Y.S. Wen, K.L. Lu, Inorg. Chem., 2008, **47**, 10349.
- [23] L.K. Thompson, Coord. Chem. Rev., 2002, **233–234**, 193.
- [24] V. Patroniak, Wiad. Chem., 2004, **58**, 59.
- [25] M. Ruben, J. Rojo, F.J. Romero-Salguero, L.H. Uppadine, J.M. Lehn, Angew. Chem. Int. Ed. Eng., 2004, **43**, 3644.
- [26] A.M. Stadler, Eur. J. Inorg. Chem., 2009, 4751.
- [27] O. Waldmann, Coord. Chem. Rev., 2005, **249**, 2550.
- [28] E.J.L. McInnes, S. Piligkos, G.A. Timco, R.E.P. Wimpenny, Coord. Chem. Rev., 2005, **249**, 2577.
- [29] J.R. Nitschke, M. Hutin, G. Bernardinelli, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2004, **43**, 6724.
- [30] P.N.W. Baxter, R.G. Khoury, J.M. Lehn, G. Baum, D. Fenske, Chem. Eur. J., 2000, **6**, 4140.
- [31] A.M. Stadler, N. Kyriakos, R. Graff, J.M. Lehn, Chem. Eur. J., 2006, **12**, 4503.
- [32] C.S. Campos-Fernández, R. Clérac, K.R. Dunbar, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1999, **38**, 3477.
- [33] V. Patroniak, M. Kubicki, A. Mondry, J. Lisowski, W. Radecka-Paryzek, Dalton Trans., 2004, 3295.
- [34] W. Huang, W. You, L. Wang, C. Yao, Inorg Chim. Acta, 2009, **362**, 2127.
- [35] M. Ruben, J.M. Lehn, G. Vaughan, Chem. Commun., 2003, 1338.
- [36] J. Hausmann, G.B. Jameson, S. Brooker, Chem. Commun., 2003, 2992.
- [37] L.H. Uppadine, J.M. Lehn, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2004, **43**, 240.
- [38] M. Fujita, Y.J. Kwon, S. Washizu, K. Ogura, J. Am. Chem. Soc. 1994, **116**, 1151.
- [39] O. Ohmori, M. Fujita, Chem. Commun., 2004, 1586.
- [40] R.P. Bonar-Law, L.G. Mackay, J.K.M. Sanders, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1993, 456.
- [41] J. Müller, B. Lippert, Angew. Chem. Int. Ed. Eng., 2006, **45**, 2503.
- [42] D. Parker, Coord. Chem. Rev., 2000, **205**, 109.
- [43] T. Gunnlaugsson, D.A. Mac Dónail, D. Parker, J. Am. Chem. Soc., 2001, **123**, 12866.
- [44] M.H. Keefe, K.D. Benkstein, J.T. Hupp, *Coord. Chem. Rev.* 2000, **205**, 201.
- [45] R.C. Evans, P. Douglas, C.J. Winscom, Coord. Chem. Rev., 2006, **250**, 2093.
- [46] A.M. Nonat, A.J. Harte, K. Sénéchal-David, J.P. Leonard, T. Gunnlaugsson, Dalton Trans., 2009, 4703.
- [47] V. Patroniak, A.R. Stefankiewicz, J.M. Lehn, M. Kubicki, Eur. J. Inorg. Chem., 2005, 4168.
- [48] V. Patroniak, P.N.W. Baxter, J.M. Lehn, M. Kubicki, M. Nissinen, K. Rissanen, Eur. J. Inorg. Chem., 2003, 4001.
- [49] V. Patroniak, J.M. Lehn, M. Kubicki, A. Ciesielski, M. Wałęsa, Polyhedron, 2006, **25**, 2643.
- [50] V. Patroniak, P.N.W. Baxter, J.M. Lehn, Z. Hnatejko, M. Kubicki, Eur. J. Inorg. Chem., 2004, 2379.
- [51] V. Patroniak, A.R. Stefankiewicz, J.-M. Lehn, M. Kubicki, M. Hoffmann, Eur. J. Inorg. Chem., 2006, 144.
- [52] A.R. Stefankiewicz, M. Wałęsa-Chorab, H.B. Szcześniak, V. Patroniak, M. Kubicki, Z. Hnatejko, J. Harrowfield, Polyhedron, 2010, **29**, 178.
- [53] V. Patroniak, M. Kubicki, A.R. Stefankiewicz, A.M. Grochowska, Tetrahedron, 2005, **61**, 5475.
- [54] V. Patroniak, Z. Hnatejko, A.M. Grochowska, A.R. Stefankiewicz, Spectrochim. Acta Part A., 2006, **64**, 830.
- [55] A. Ciesielski, M. Wałęsa, V. Patroniak, Pol. J. Chem., 2008, **82**, 1231.
- [56] A.R. Stefankiewicz, M. Wałęsa, P. Jankowski, A. Ciesielski, V. Patroniak, M. Kubicki, Z. Hnatejko, J.M. Harrowfield, J.M. Lehn, Eur. J. Inorg. Chem., 2008, 2910.

- [57] M. Wałęsa-Chorab, V. Patroniak, G. Schroeder, R. Frański, *Eur. J. Mass Spectr.*, 2010, **16**, 163.
- [58] A. Ciesielski, A. R. Stefankiewicz, M. Wałęsa-Chorab, V. Patroniak, M. Kubicki, Z. Hnatejko, J.M. Harrowfield, *Supramol. Chem.*, 2009, **21**, 48.
- [59] A. Ciesielski, A.R. Stefankiewicz, V. Patroniak, M. Kubicki, *J. Mol. Struct.*, 2009, **930**, 110.
- [60] P. Jutzi, U.J. Gilge, *Organomet. Chem.*, 1983, **246**, 163.
- [61] G.V. Long, S.E. Boyd, M.M. Harding, I.E. Buys, T.W. Hambley, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1993, 3175.
- [62] K. Burdeska, H. Fuhrer, G. Kabas, A.E. Siegriest, *Helv. Chim. Acta*, 1981, **64**, 113.
- [63] J.K. Stile, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1986, **25**, 508.
- [64] J. Rojo, F.J. Romero-Salguero, J.M. Lehn, G. Baum, D. Fenske, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1999, 1421.
- [65] C.G. Pitt, Y. Bao, J. Thompson, M.C. Wani, H. Rosenkrantz, J. Metterville, *J. Med. Chem.* 1986, **29**, 1231.
- [66] N. Reddig, M.U. Triller, D. Pursche, A. Rempel, B. Krebs, *Z. Anorg. All. Chem.*, 2002, **628**, 2458.
- [67] D.M. Epstein, S. Choudhary, M.R. Churchill, K.M. Keil, A.V. Eliseev, J. R. Morrow, *Inorg. Chem.*, 2001, **40**, 1591.
- [68] J. Uenishi, T. Tanaka, S. Wakabayashi, S. Oae, T. Tsukube, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 4625.
- [69] M. Ruben, J.M. Lehn, P. Muller, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, **35**, 1056.
- [70] S.I. Stupp, *Chem. Rev.*, 2005, **105**, 1023.
- [71] U. Ziener, *J. Phys. Chem. B*, 2008, **112**, 14698.
- [72] S.K. Kim, D.H. Lee, J.I. Hong, J. Yoon, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 23.
- [73] J. Park, A.N. Pasupathy, J.I. Goldsmith, C. Chang, Y. Yaish, J.R. Petta, M. Rinkoski, J.P. Sethna, H.D. Abruña, P.L. McEuen, D.C. Ralph, *Nature*, 2002, **417**, 722.
- [74] J. Frey, C. Tock, J.P. Collin, V. Heitz, J.P. Sauvage, K. Rissanen, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 11013.

Praca wpłynęła do Redakcji 1 grudnia 2009

**IDENTYFIKACJA DIURETYKÓW W MOCZU
TECHNIKĄ ULTRASPRAWNEJ CHROMATOGRAFII
CIECZOWEJ POŁĄCZONEJ Z TANDEMOWĄ
SPEKTROMETRIĄ MAS (UPLC/MS/MS)**

IDENTIFICATION OF DIURETICS IN URINE
BY ULTRA PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS
SPECTROMETRY (UPLC/MS/MS)

**Włodzimierz Tszysznic, Danuta Stańczyk,
Andrzej Pokrywka, Dorota Kwiatkowska**

*Zakład Badań Antydopingowych, Instytut Sportu
ul. Trylogii 2/16, 01-982 Warszawa
e-mail: wlodzimierz.tszysznic@insp.waw.pl*

Abstract

Wstęp

1. Ultrasprawną chromatografię cieczową połączoną z tandemową spektrometrią mas (UPLC/MS/MS)
2. Budowa i właściwości chemiczne diuretyków
3. Ekstrakcja diuretyków z próbek moczu
4. Zastosowanie ultrasprawnej chromatografii cieczowej połączonej z tandemową spektrometrią mas (UPLC/MS/MS) do wykrywania diuretyków w moczu
5. Granica wykrywalności

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

mgr inż. Włodzimierz Tszysznic, urodził się w roku 1982 w Warszawie. W roku 2007 ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Od 2007 roku pracuje w Zakładzie Badań Antydopingowych Instytutu Sportu w Warszawie.

Danuta Stańczyk, urodziła się w roku 1959 w Zambrowie. W 1980 roku ukończyła Wydział Analityki Medycznej Medycznego Studium Zawodowego nr 4 w Warszawie. W Zakładzie Badań Antydopingowych Instytutu Sportu pracuje od 1991 roku.

dr n. farm. Andrzej Pokrywka, urodził się w roku 1970 w Braniewie. W roku 1994 ukończył studia na Wydziale Farmacji Akademii Medycznej w Warszawie, gdzie w 2006 roku uzyskał stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych. Z Zakładem Badań Antydopingowych Instytutu Sportu w Warszawie związany jeszcze od czasów studenckich. W latach 1996–2008 był zastępcą kierownika Zakładu. Od 2009 roku pełni funkcję dyrektora Instytutu Sportu. Jest autorem wielu prac i komunikatów, publikowanych po polsku i angielsku, poruszających problemy doping w sporcie.

dr inż. Dorota Kwiatkowska, urodziła się w roku 1971 w Warszawie. W roku 1995 ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Stopień naukowy doktora nauk biologicznych uzyskała w 2004 roku w Wojskowym Instytucie Higieny i Epidemiologii w Warszawie. Od 1995 roku pracuje w Zakładzie Badań Antydopingowych Instytutu Sportu w Warszawie. Od 2004 roku pełni funkcję kierownika Zakładu. Jest autorem wielu prac i komunikatów, publikowanych po polsku i angielsku, poruszających problemy doping w sporcie.

ABSTRACT

Diuretics are medicines that intensify the diuresis process. There are several types of diuretics (high ceiling loop diuretics, thiazides, calcium-sparing diuretics, potassium-sparing diuretics, osmotic diuretics). Generally all of them increase excretion of water from a body.

According to the Prohibited List published by the World Anti-Doping Agency diuretics make a group of substances which is prohibited in sport at all times (in- and out-of-competition). This review describes shortly an ultra performance liquid chromatography technique, chemical properties of diuretics named in the WADA Prohibited List as well as a developed analytical method with the use of UPLC/MS/MS technique for determination of diuretics and other doping agents (stimulants, masking agents) in urine samples in comparison with a GC/MS method used earlier. Detailed extraction procedure and comparison of application of several organic solvents during extraction process were given. Parameters of MS/MS method have also been given.

The described method was validated in accordance with EURACHEM "The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics". Limits of detection and recovery level for all compounds in the method were evaluated.

The developed method allows to detect most of diuretics at the levels of 1/5 MRPL (Minimum Required Performance Limits) and fulfills all requirements of the World Anti-Doping Agency.

Keywords: diuretics, doping, ultra performance liquid chromatography, tandem mass spectrometry, extraction

Słowa kluczowe: diuretyki, doping, ultrasprawna chromatografia cieczowa, tandemowa spektrometria mas, ekstrakcja

WSTĘP

W 1910 roku polski farmaceuta Alfons Bukowski opracował metodę oznaczania alkaloidów w ślinie koni biorących udział w wyścigach konnych na torach Warszawy, Budapesztu i Wiednia [1, 2]. Analizy te powszechnie uznawane są za początek badań antydopingowych na świecie. Jednak systematyczna kontrola dopingu u zawodników biorących udział w sportowej rywalizacji datuje się od igrzysk olimpijskich w Grenoble i Meksyku, w 1968 roku. Rok wcześniej powstała Komisja Medyczna Międzynarodowego Komitetu Olimpijskiego (MKOI), której celem była organizacja systemu antydopingowego w sporcie. Komisja opublikowała wówczas swoją pierwszą listę substancji zabronionych. Znalazły się na niej jedynie stymulanty i narkotyczne środki przeciwbólowe. W kolejnych latach lista znacznie się poszerzyła. W 1988 roku m.in. za niedozwolone w sporcie uznano stosowanie diuretyków [3]. Substancje z tej grupy nie wpływają na poprawę wydolności fizycznej. Działają wręcz niekorzystnie w aspekcie sportowym, ponieważ powodują obniżenie siły mięśniowej i wydolności przez zmniejszenie objętości krążącej krwi i pojemności tlenowej [4]. Powodem ich stosowania przez sportowców jest chęć do regulowania masy ciała (szczególnie w sportach, w których wyróżnia się kategorie wagowe, takich jak boks, podnoszenie ciężarów, zapasy itp.), kształtowania mięśni i sylwetki (np. kulturystyka), a także ukrycia obecności innych zabronionych substancji poprzez zwiększenie tempa produkcji i wydalania moczu [5]. Przyjmowanie leków moczopędnych bez uzasadnienia lekarskiego może powodować wiele działań niepożądanych, w tym zaburzenia elektrolitowe (hiponatremię, hipopotasemię i hipomagnezemię), nagły spadek ciśnienia tętniczego, zaburzenia rytmu serca, bóle i zawroty głowy oraz kurcze mięśniowe [1].

Pierwszego stycznia 2004 roku rolę głównego koordynatora nad światowym systemem antydopingowym od MKOI przejęła Światowa Agencja Antydopingowa (*ang. World Anti-Doping Agency, WADA*). Od tego momentu Lista substancji i metod zabronionych w sporcie (*Lista zabroniona*) jest rokrocznie aktualizowana, a wszelkie zmiany poprzedzane są licznymi konsultacjami z reprezentantami świata sportowego i medycznego. Aktualnie obowiązująca *Lista zabroniona* WADA [6] systematyzuje substancje i metody zabronione w sporcie w trzech grupach:

- substancje i metody zabronione w każdym czasie (podczas zawodów i poza zawodami),
- substancje i metody zabronione podczas zawodów,
- substancje zabronione w niektórych sportach.

Diuretyki i inne środki maskujące należą do pierwszej z wymienionych grup; podobnie jak: środki anaboliczne, hormony peptydowe, czynniki wzrostu i substancje pokrewne, beta-2 agoniści, antagoniści i modulatory hormonów, metody poprawiające transport tlenu, manipulacje chemiczne i fizyczne oraz doping genetyczny. Warto wspomnieć, że *Lista zabroniona* zawiera jedynie wykaz grup substancji i metod zabronionych wraz z przykładami. Ponadto ma charakter otwarty, a przy większości klas, po wymienionych przykładach substancji zabronionych, umiesz-

czona jest następująca uwaga „(...) oraz inne substancje o podobnej strukturze chemicznej lub podobnym działaniu biologicznym”. Ta uwaga dotyczy także diuretyków. Tym samym analityka antydopingowa w przypadku środków moczopędnych nie ogranicza się jedynie do związków wymienionych na *Liście zabronionej*.

Jednym z najważniejszych elementów światowego systemu antydopingowego są laboratoria, w których analizuje się próbki pobrane od sportowców podczas kontroli antydopingowej. Zgodnie ze Światowym Kodeksem Antydopingowym [7] analizy antydopingowe mogą być wykonywane wyłącznie w laboratoriach, które posiadają akredytację WADA. Obecnie na całym świecie jest 35 takich laboratoriów, w tym Zakład Badań Antydopingowych Instytutu Sportu w Warszawie. W obszarze zainteresowań tychże laboratoriów jest ok. trzydziestu substancji zaliczanych do grupy diuretyków, które rutynowo są poszukiwane w próbkach moczu sportowców przy wykorzystaniu różnych procedur przesiewowych (*ang. screening procedures*) [8–13].

1. ULTRASPRAWNA CHROMATOGRAFIA CIECZOWA POŁĄCZONA Z TANDEMOWĄ SPEKTROMETRIĄ MAS (UPLC/MS/MS)

Chromatografia cieczowa jest jedną z fizykochemicznych technik rozdzielania składników jednorodnych mieszanin. Układ chromatograficzny składa się z nieruchomej fazy stacjonarnej umieszczonej w kolumnie lub na płaszczyźnie oraz z przepływającej przez nią fazy ruchomej. Fazą stacjonarną jest substancja o specjalnie spreparowanej powierzchni, fazę ruchomą stanowi najczęściej mieszanina odpowiednio dobranych rozpuszczalników. Rozdzielanie chromatograficzne następuje w wyniku różnego powinowactwa rozdzielanych składników do fazy ruchomej i stacjonarnej układu chromatograficznego.

Ultrasprawną chromatografią cieczową jest odmianą kolumnowej chromatografii cieczowej, w której wykorzystuje się wypełnienie kolumny o wielkości cząstek poniżej 2 μm (dwukrotnie mniejsze niż w przypadku wysokosprawnej chromatografii cieczowej, HPLC). Wypełnienie kolumny o takiej średnicy pozwala na pracę przy znacznie mniejszych przepływach fazy ruchomej niż w przypadku tradycyjnej wysokosprawnej chromatografii cieczowej, ale jednocześnie wymusza konieczność pracy w znacznie wyższym zakresie ciśnień (do 15000 psi, gdzie 1 psi = 6894,8 Pa). W porównaniu z tradycyjnym HPLC, ultrasprawną chromatografią cieczową pozwala uzyskać znacznie wyższą selektywność rozdzielania chromatograficznego, przy jednoczesnym skróceniu czasu analizy.

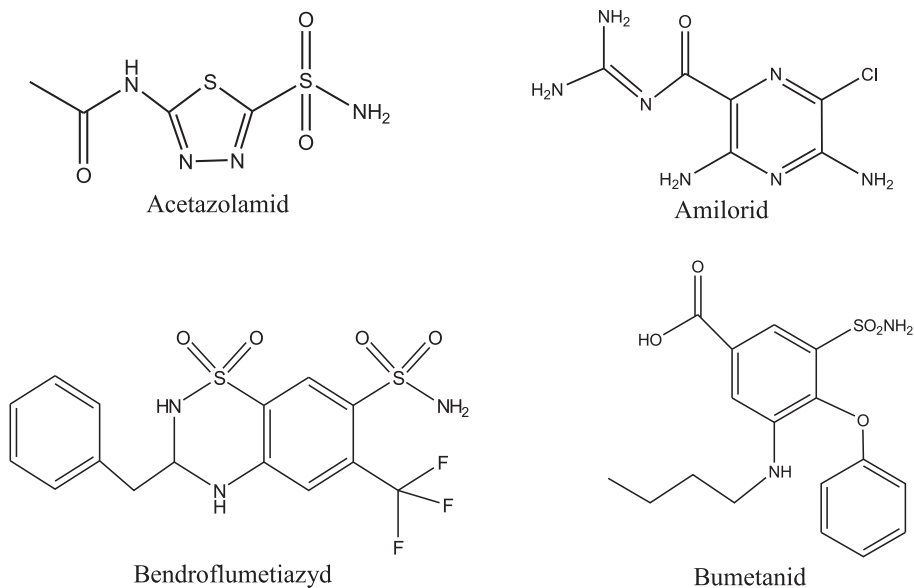
Spektrometria mas jest instrumentalną techniką detekcji pozwalającą wykrywać w fazie gazowej cząstki obdarzone ładunkiem. Podstawą spektrometrii mas jest pomiar stosunku masy do ładunku elektrycznego cząstki (m/z). Tandemowa spektrometria mas polega na wyizolowaniu jonu macierzystego, poddaniu go fragmentacji, a następnie obserwacji jonów potomnych.

2. BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE DIURETYKÓW

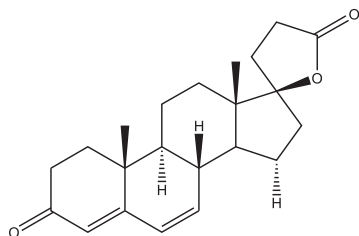
Najczęstszym kryterium podziału diuretyków jest mechanizm, skorelowany z umiejscowieniem jego działania w organizmie. Według tego kryterium wśród diuretyków wyróżnia się następujące grupy [14].

1. Diuretyki pętlowe;
 - a) pochodne sulfonamidowe: furosemid, bumetanid, piretanid;
 - b) pochodne kwasu fenoksyoctowego: kwas etakrynowy;
 - c) związki organiczne rtęci: mersalyl.
2. Diuretyki korowego odcinka pętli nefronu;
 - a) pochodne benzotiadiazyny: chlorotiazyd, hydrochlorotiazyd;
 - b) tiazdy heterocykliczne: chlorotalidon, indapamid.
3. Diuretyki oszczędzające potas: spironolakton, triamteren, amilorid.
4. Inhibitory dehydratazy węglanowej: acetazolamid.

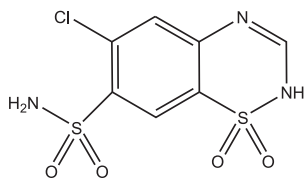
Do diuretyków zalicza się związki o bardzo różnorodnych strukturach oraz właściwościach fizyko-chemicznych. Wzory strukturalne diuretyków, wymienionych w *Liście zabronionej WADA 2010* [6] przedstawiono na Rysunku 1.



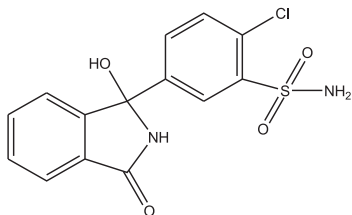
Rysunek 1. Wzory strukturalne diuretyków z *Listy zabronionej WADA 2010*
 Figure 1. Chemical structures of diuretics from *WADA Prohibited List 2010*



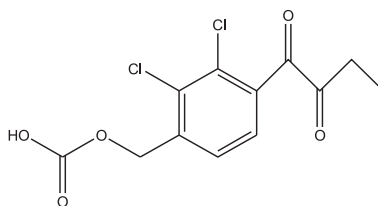
Kanrenon



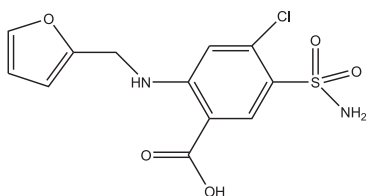
Chlorotiazyd



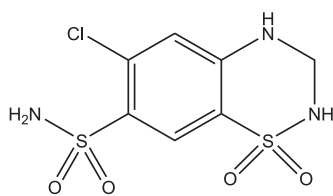
Chlortalidon



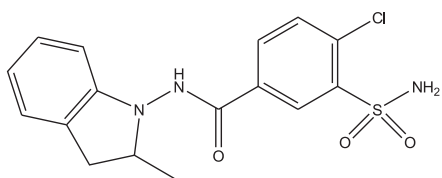
Kwas etakrynowy



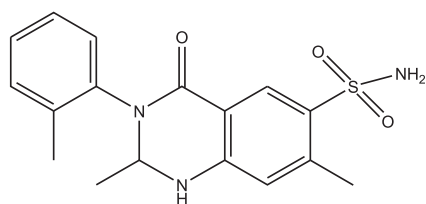
Furosemid



Hydrochlorotiazyd



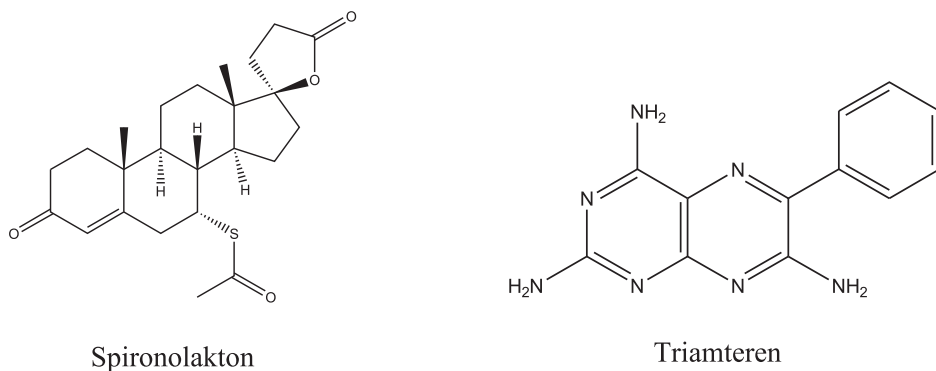
Indapamid



Metolazon

Rysunek 1. Ciąg dalszy

Figure 1. Continuation



Rysunek 1. Ciąg dalszy
Figure 1. Continuation

W grupie diuretyków wyróżnia się związki o charakterze: zasadowym (np.: amilorid, triamteren), obojętnym (np.: kanrenon, spironolakton), jak również diuretyki o charakterze słabo kwaśnym (np. acetazolamid, diklofenamid, tiazdy) oraz silnie kwaśnym (np. furosemid, bumetanid, piretanid, kwas etakrynowy).

3. EKSTRAKCJA DIURETYKÓW Z PRÓBEK MOCZU

Złożona natura oraz zróżnicowana budowa chemiczna substancji z grupy diuretyków początkowo stanowiły dość istotną przeszkodę w opracowaniu uniwersalnej procedury ekstrahowania diuretyków z próbek biologicznych takich jak mocz i krew [15]. Laboratoria antydopingowe wykonując analizy próbek moczu na obecność diuretyków przeprowadzają ekstrakcję zarówno techniką do fazy stałej (*ang. solid-phase extraction, SPE*) [8], jak również techniką ciecz-ciecz (*ang. liquid-liquid extraction, LLE*) [16, 17]. W analizie instrumentalnej ekstraktów wykorzystywana jest zarówno chromatografia gazowej sprzężona ze spektrometrią mas [18–20], jak i chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (*ang. mass spectrometry, MS*) [9, 18–20] lub tandemową spektrometrią mas (*ang. tandem mass spectrometry, MS/MS*) [8, 10, 17, 21–27].

Wpływ różnych rozpuszczalników organicznych (eter dietylowy, octan etylu) oraz soli (chlorek amonu, chlorek sodu) na proces ekstrakcji diuretyków z próbek moczu został zbadany przez Venture i in. [16]. W warunkach lekko kwaśnych większy odzysk z ekstrakcji dla hydrochlorotiazdy i acetazolamidu uzyskiwano przy zastosowaniu octanu etylu. W przypadku chlortalidonu, furosemidu oraz bumetanidu wyższy odzysk uzyskano przy wykorzystaniu eteru dietylowego. W warunkach zasadowych, użycie octanu etylu pozwala uzyskać zdecydowanie wyższy odzysk niż w przypadku eteru dietylowego. Zastosowanie podwójnej ekstrakcji próbek moczu (zarówno ze środowiska kwaśnego, jak i zasadowego) pozwala monitorować kilkadziesiąt związków w jednej procedurze [16].

Zakład Badań Antydopingowych Instytutu Sportu analizując próbki na obecność diuretyków przeprowadza podwójną ekstrakcję techniką ciecz-ciecz, zarówno w środowisku kwaśnym, jak i zasadowym. Próbka moczu doprowadzana jest do pH ok. 5 za pomocą buforu octanowego. Do próbki dodawany jest następnie octan etylu. Po wytrząśnięciu i odwirowaniu warstwa organiczna zachowywana jest do dalszej analizy, natomiast frakcja wodna poddawana jest drugiej ekstrakcji. Do pH ok. 9 próbka doprowadzana jest za pomocą węglanu potasu i ponownie poddawana ekstrakcji z octanem etylu. Po wytrząśnięciu i odwirowaniu obie frakcje octanowe są łączone są ze sobą. Octan etylu odparowuje się w strumieniu azotu. W przypadku analizy próbek w układzie GC/MS do suchej pozostałości dodawany jest czynnik derywatyzujący (CH_3I). W razie analizy w układzie LC/MS/MS sucha pozostałość rozpuszczana jest w 10% roztworze metanolu.

W procedurze przesiewowej warunki ekstrakcji dobierane są grupowo, tak aby umożliwić jednoczesną analizę jak największej ilości związków, gwarantując równocześnie wykrycie substancji zabronionych w stężeniach na wymaganym poziomie. Dla analizy weryfikującej (konfirmacyjnej), warunki ekstrakcji mogą być dobrane indywidualnie do analizowanej substancji.

Uniwersalność powyższej procedury ekstrakcji pozwala na wykorzystanie jej nie tylko do wykrywania diuretyków, ale także innych substancji o podobnych właściwościach fizycznych oraz chemicznych. Powyższa procedura umożliwia m.in. monitorowanie takich związków dopingujących jak: probenecid (substancja maskująca), efaprosiral (RSR13 – substancja zwiększająca transport tlenu), niektórych stymulantów (np. mezarbaru i modafinilu), jak również większości beta-adrenolityków [11, 28, 29].

4. ZASTOSOWANIE ULTRASPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ POŁĄCZONEJ Z TANDEMOWĄ SPEKTROMETRIĄ MAS (UPLS/MS/MS) DO WYKRYWANIA DIURETYKÓW W MOCZU

Jak wspomniano powyżej, połączenie ultrasprawniej chromatografii cieczowej (UPLC) z tandemową spektrometrią mas (MS/MS) jest jedną z technik wykorzystywanych przez laboratoria antydopingowe do wykrywania diuretyków w próbkach moczu. Ze względu na znaczne różnice w budowie cząsteczkowej diuretyków, w przypadku analiz UPLC/MS/MS zachodzi konieczność zastosowania dwóch trybów jonizacji, dodatniej oraz ujemnej. Krótki czas przełączania spektrometru mas pomiędzy trybami jonizacji (20 ms) pozwala na wykonanie analizy w dwóch trybach jonizacji w jednym przebiegu analitycznym.

Wykorzystanie ultrasprawniej chromatografii cieczowej pozwala na wykonanie analizy instrumentalnej jednej próbki w czasie do 5 min. Analizy próbek na obecność diuretyków przeprowadzane są w trybie gradientowym. Jako fazę ruchomą stosuje się wodę oraz metanol z dodatkiem buforu amonowego. Dla każdego związku w procedurze przesiewowej zdefiniowano po dwie reakcje fragmentacji (*ang. Mul-*

triple Reaction Monitoring, MRM). Dla analiz weryfikacyjnych zwykle definiowane są 3–4 transmisje MRM (wybrane parametry analityczne metody przedstawiono w Tabeli 1). Kryteria akceptacji odchyleń w czasie retencji oraz odchyleń w powierzchniach pików pomiędzy substancją oznaczaną a wzorcem zostały szczegółowo opisane w jednym z dokumentów technicznych WADA [30].

Tabela 1. Wybrane parametry analityczne metody wykrywania diuretyków i innych związków dopingujących techniką UPLC/MS/MS

Table 1. Selected parameters of the analytical method using UPLC/MS/MS for detection of diuretics and other doping agents

Związek	Czas retencji [min]	Jon pseudo-molekularny	Jon fragmentacyjny	Napięcie stożka [V]	Energia zderzeń [eV]
Acetazolamid	1.01	220.94	79.83	45.00	25.00
		220.94	82.73	45.00	20.00
Amilorid	1.45	229.99	59.88	25.00	20.00
		229.99	170.81	25.00	20.00
Bendroflumetiazyd	2.80	419.98	289.07	50.00	25.00
		419.98	328.00	50.00	30.00
Bumetanid	2.86	363.14	79.70	55.00	25.00
		363.14	207.02	55.00	20.00
Kanrenon	3.57	341.20	107.00	35.00	30.00
		341.20	187.00	35.00	25.00
Spironolakton	3.41	417.18	107.09	15.00	45.00
		417.18	341.31	15.00	15.00
Chlortiazyd	0.83	293.97	178.86	50.00	45.00
		293.97	213.98	50.00	30.00
Chlortalidon	2.28	336.96	145.87	45.00	20.00
		336.96	189.89	45.00	20.00
Klopamid	2.64	344.06	77.88	45.00	35.00
		344.06	188.98	45.00	35.00
Diklofenamid	1.94	302.90	77.71	45.00	35.00
		302.90	187.84	45.00	30.00
Kwas Etakrynowy	3.09	300.96	191.88	40.00	35.00
		300.96	242.97	40.00	15.00

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Związek	Czas retencji [min]	Jon pseudo-molekularny	Jon fragmentacyjny	Napięcie stożka [V]	Energia zderzeń [eV]
Etoksyzolamid	2.80	256.94	148.68	45.00	30.00
		256.94	177.79	45.00	15.00
Furosemid	2.26	328.98	204.91	40.00	25.00
		328.98	284.92	40.00	15.00
Hydrochlorotiazyd	0.99	295.94	204.94	45.00	25.00
		295.94	268.97	45.00	20.00
Indapamid	2.85	364.03	77.65	45.00	45.00
		364.03	188.80	45.00	30.00
Mezokarb*	2.96	323.00	119.00	21.00	25.00
		323.00	177.00	21.00	20.00
Hydroksymezokarb*	2.52	339.20	135.00	21.00	30.00
		339.20	193.10	21.00	15.00
Dihydroksy-Mezokarb*	2.25	355.00	193.10	21.00	15.00
		355.00	221.00	21.00	15.00
Metolazon	2.64	364.04	230.97	55.00	30.00
		364.04	256.98	55.00	25.00
Modafinil*	2.86	274.07	151.96	40.00	40.00
		274.07	167.02	40.00	15.00
Piretanid	2.63	361.05	79.72	40.00	25.00
		361.05	317.09	40.00	15.00
Probenecid	2.72	283.94	139.75	45.00	25.00
		283.94	240.06	45.00	15.00
Triamteren	2.28	254.10	103.90	45.00	40.00
		254.10	237.07	45.00	30.00
Trichlormetiazyd	2.02	377.83	241.90	50.00	25.00
		377.83	305.79	50.00	15.00

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Związek	Czas retencji [min]	Jon pseudo-molekularny	Jon fragmentacyjny	Napięcie stożka [V]	Energia zderzeń [eV]
Ksyamid	2.45	352.94	126.77	40.00	35.00
		352.94	273.99	40.00	30.00
Efaproksiral (RSR13)**	3.05	342.00	122.00	35.00	28.00
Benzotiazyd	2.75	431.93	90.95	30.00	25.00
Butiazyd	3.65	353.19	144.10	35.00	25.00

* Substancja z grupy stymulantów.

** Substancja zwiększająca transport tlenu.

5. GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Powyżej opisana metoda została poddana walidacji zgodnie z protokołem zaproponowanym przez EURACHEM Working Group [31]. Ze względu na fakt, że diuretyki są substancjami, dla których Światowa Agencja Antydopingowa (WADA) nie określiła stężeń progowych, których przekroczenie powoduje uznanie wyniku analizy za pozytywny [32], kluczowym parametrem, który należało zbadać w procesie walidacji była granica wykrywalności. Należało sprawdzić czy zaproponowana metoda umożliwia wykrycie badanych substancji przynajmniej na poziomie MRPL (*ang. Minimum Required Performance Limit* – minimalna wymagana wartość granicznej wykrywalności) [32]. Wartości MRPL ustalone przez WADA oznaczają minimalne stężenie analitu w próbce, które winno być wykryte i potwierdzone w laboratoriach posiadających akredytację Światowej Agencji Antydopingowej.

W celu sprawdzenia przydatności metody do badań antydopingowych przygotowano próbki mieszaniny wzorców diuretyków i innych związków (wymienionych w Tabeli 2) o stężeniach: 30, 50, 100, 250 ng/ml. Próbki badanych substancji poddano procesowi ekstrakcji. Równolegle, w układzie UPLC/MS/MS, analizowano próbki kontrolne przygotowane z mieszaniny wzorców (o stężeniach identycznych jak te podane powyżej), które nie zostały poddane procesowi ekstrakcji. Stopień odzysku określono na podstawie stosunku powierzchni pików badanych substancji dla próbek po ekstrakcji do powierzchni pików wzorców (próbek testowych) bezpośrednio wprowadzonych do układu analitycznego. Dla przeważającej większości związków wykazano odzysk z ekstrakcji na poziomie powyżej 80%. Granicę wykrywalności określono na podstawie stosunku sygnału do szumu (*ang. signal to noise, S/N*), przyjmując, że wartość tego stosunku dla jonu o najmniejszej odpowiedzi powinna wynosić nie mniej niż 3. Dla większości diuretyków uzyskano granice wykrywalności na poziomie 1/5 MRPL tj. 50 ng/ml moczu (wyznaczone granice

wykrywalności poszczególnych związków zestawiono w Tabeli 2). Dla porównania, stosowana wcześniej w Zakładzie Badań Antydopingowych procedura wykrywania diuretyków techniką GC/MS także spełniała kryteria WADA, ale nie pozwalała na oznaczanie większości diuretyków w próbkach moczu na tak niskich poziomach.

Tabela 2. Granice wykrywalności diuretyków i innych substancji dopingujących w moczu w metodzie wykorzystującej układ UPLC/MS/MS

Table 2. Limits of detection for diuretics and other doping agents in the analytical method with use of UPLC/MS/MS

Związek	Granica wykrywalności [ng/ml]	Związek	Granica wykrywalności [ng/ml]
Acetazolamid	250	Indapamid	50
Amilorid	250	Metolazon	250
Bendroflumetiazyd	50	Modafinil	50
Bumetanid	250	Piretanid	100
Kanrenon	50	Probenecid	100
Spironolakton	50	Triamteren	50
Chlorotiazyd	50	Trichlorometiazyd	50
Chlortalidon	50	Ksypamid	50
Klopamid	50	Benzotiazyd	50
Diklofenamid	50	Butiazyd	50
Kwas etakrynowy	50	Efaproksiral	30
Etoksyzolamid	50	Hydroksy-Mezokarb	100
Furosemid	50	Dihydroksy-Mezokarb	100
Hydrochlorotiazyd	50		

PODSUMOWANIE

Opracowana w Zakładzie Badań Antydopingowych procedura analityczna wykrywania diuretyków techniką UPLC/MS/MS spełnia wymagania stawiane metodom detekcji substancji zabronionych w sporcie, zarówno pod względem poziomu wykrywalności, jak również zakresu badanych związków. Stosunkowo prosta procedura ekstrakcji oraz niedługi etap oznaczania pozwalają na przeprowadzenie analizy próbki na obecność diuretyków w bardzo krótkim czasie oraz przedstawienie wyników badań do 48 h od momentu przyjęcia próbki. Opisowana procedura może być rozszerzana o kolejne substancje zabronione w sporcie posiadające podobne do diuretyków właściwości chemiczne i fizyczne.

Aktualnie w laboratoriach antydopingowych testuje się możliwość analizowania próbek na obecność diuretyków wykorzystując bezpośredni nastrzyk moczu na kolumnę chromatograficzną. Badoud i in. [33] zastosowali taką uproszczoną procedurę z wykorzystaniem układu chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości, wykorzystującą kwadrupol w połączeniu z analizatorem czasu przelotu (Q-TOF).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] S. Kozłowski, W.J. Rewerski, *Doping*, PZWL, Warszawa, 1980.
- [2] W. Roeske, Arch. Hist. Med., 1968, **31**, 167.
- [3] D. Clasing, *Doping und seine Wirkstoffe: verbotene Arzneimittel im Sport*, Spitta Verlag, Balin-gen, 2004, 276.
- [4] W. Granowska, *Doping zabija sport*, Towarzystwo Lekarskie Warszawskie, Warszawa, 2006, 83–95.
- [5] H. Sarikaya, C. Peters, T. Schultz, M. Schoenfelder, H. Michna, *Biomedical Side Effects of Doping*, Uni-Druck OHG, Cologne, 2007, 34–44.
- [6] World Anti-Doping Agency, *The World Anti-Doping Code. The 2010 Prohibited List*, [dostęp 10 stycznia 2010]. Dostępny w Internecie: http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/2010_Prohibited_List_FINAL_EN_Web.pdf.
- [7] World Anti-Doping Agency, *The World Anti-Doping Code 2009*, [dostęp 10 stycznia 2010]. Dostępny w Internecie http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/code_v2009_En.pdf.
- [8] D. Thieme, J. Grosse, R. Lang, R.K. Mueller, A. Wahl, J. Chromatogr. B, 2001, **757**, 49.
- [9] Y. Qin, X.B. Wang, C. Wang, M. Zhao, M.T. Wu, Y.X. Xu, S.Q. Peng, J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2003, **794**, 193.
- [10] C. Goebel, G.J. Trout, R. Kazlauskas, Anal. Chim. Act., 2004, **502**, 65.
- [11] K. Deventer, P. Van Eenoo, F.T. Delbeke, Rapid Commun. Mass Spectrom., 2005, **19**, 90.
- [12] K. Deventer, G. Baele, P. Van Eenoo, O.J. Pozo, F.T. Delbeke, J. Pharm. Biomed. Anal., 2009, **49**, 519.
- [13] W. Schaenzer, H. Geyer, A. Gotzmann, U. Mareck, Recent Adv. Doping Anal., 2003, **11**, 13.
- [14] W. Kostowski, P. Kubikowski, *Farmakologia – podstawy farmakoterapii i farmakologii klinicznej*, PZWL, Warszawa, 1994.
- [15] A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop, *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material*, The Pharmaceutical Press, London, 2003.
- [16] R. Ventura, T. Nadal, P. Alcalde, J.A. Pascual, J. Segura, J. Chromatogr. A, 1993, **655**, 233.
- [17] K. Deventer, O.J. Pozo, P. Van Eenoo, F.T. Delbeke, J. Chromatogr. A, 2009, **1216**, 5819.
- [18] L. Amendola, C. Colamonici, M. Mazzarino, F. Botre, Anal. Chim. Act., 2003, **475**, 125.
- [19] V. Morra, P. Davit, P. Capra, M. Vincenti, A. Di Stilo, F. Botre, J. Chromatogr. A, 2006, **1135**, 219.
- [20] R. Ventura, J. Segura, J. Chromatogr. B, Biomedical Sciences and Applications, 1996, **687**, 127.
- [21] W. Schaenzer, H. Geyer, A. Gotzmann and U. Mareck, Recent Adv. Doping Anal., 2000, **8**, 47.
- [22] K. Deventer, F.T. Delbeke, K. Roels, P. Van Eenoo, Biomed. Chromatogr., 2002, **16**, 529.
- [23] K. Deventer, O.J. Pozo, P. Van Eenoo, F.T. Delbeke, J. Chromatogr. A, 2009, **1216**, 2466.
- [24] W. Schaenzer, H. Geyer, A. Gotzmann and U. Mareck, Recent Adv. Doping Anal., 2001, **9**, 321.
- [25] W. Schaenzer, H. Geyer, A. Gotzmann and U. Mareck, Recent Adv. Doping Anal., 2008, **16**, 313.
- [26] L. Politi, L. Morini, A. Poletti, Clin. Chim. Act., 2007, **386**, 46.

- [27] B. Shao, J. Zhang, Y. Yang, J. Meng, Y. Wu, H. Duan, *Rapid Commun. Mass Spectr.*, 2008, **22**, 3427.
- [28] G.J. Murray, J.P. Danaceau, *J. Chromatogr. B*, 2009, **877**, 3857.
- [29] W. Schaenzer, H. Geyer, A. Gotzmann and U. Mareck, *Recent Adv. Doping Anal.*, 2005, **13**, 21.
- [30] World Anti-Doping Agency, *Technical Document TD2003IDCR - Identification Criteria For Qualitative Assays Incorporating Chromatography And Mass Spectrometry*, [dostęp 10 stycznia 2010]. Dostępny w Internecie http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/criteria_1_2.pdf.
- [31] EURACHEM Working Group, *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 1998, Teddington, [dostęp 10 stycznia 2010]. Dostępny w Internecie: <http://www.eurachem.org/guides/valid.pdf>.
- [32] World Anti-Doping Agency, *Technical Document TD2009MRPL - Minimum Required Performance Limits For Detection of Prohibited Substances*, [dostęp 10 stycznia 2010]. Dostępny w Internecie http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-IS-Laboratories/WADA_TD2009MRPL_EN.pdf.
- [33] F. Badoud, E. Grata, L. Perrenoud, L. Avois, M. Saugy, S. Rudaz, J.L. Veuthey, *J. Chromatogr. A*, 2009, **1216**, 4423.

Praca wpłynęła do Redakcji 20 stycznia 2010

FELIETON NAUKOWY



OKRUCHY XVI. O MOICH STUDIACH CHEMICZNYCH

Ignacy Z. Siemion

¹ *Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*



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

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

Nie tak dawno, jedna z Pań naszej Biblioteki Wydziałowej, dzielnie wspomagająca moje prace, powiedziała: – dlaczego Pan nie pojechał na studia gdzieś na Zachód, musiał Pan jechać do Rosji? I był w tym ton jakiejś przygany. Uśmiechnąłem się nad nietrwałością wszelkiej pamięci. – Czy, Panie, nie wiecie – odparłem – że Zachód był wtedy całkowicie zamknięty i zaryglowany, że tam się nie jeździło. Otóż, Panie, urodzone znacznie później, już tego nie wiedziały. Niczym te dzieci amerykańskie, które piszą, że w getcie było źle, bo nie było tam gumy do zucia i nie było można kupić nowych dzinsów. Poczulem się zobowiązany, żeby coś o tych studiach napisać.

Był to rok 1950. Krótko przed maturą, ogłoszono w szkole (było to Liceum im. J. Zamoyskiego w Lublinie), że można się zgłosić na studia do ZSRR. Nie namyślałem się długo. Rozwiązywało to moje problemy życiowe. Od szesnastego roku życia byłem zdany na własne już siły. Liceum kończyłem dzięki stypendiom szkolnym. A warunki oferowane przez ówczesne Ministerstwo były wyjątkowo dobre. Jako kierunek studiów zgłosiłem biochemię. Nie wiedziałem, że w systemie szkół radzieckich jest ona umieszczona na wydziałach biologii. U nas zresztą postąpiono podobnie, nie bez szkody dla tej pięknej nauki. Latem odbył się w Warszawie kurs kwalifikacyjny. Poznawaliśmy pospiesznie elementy języka rosyjskiego, wysłuchiwaliśmy niekończących się wykładów o planie sześcioletnim, który właśnie wchodził w życie. Grupami młodzieży opiekowali się starsi koledzy już tam studiujący. Rzecz jasna upatrywali sobie oni wśród kandydatów takich, których chcieliby mieć przy sobie. Kiedy więc znalazłem się już w Moskwie, przed komisją, która rozdzielała nas pomiędzy ośrodkami i ulokowanymi tam uczelniami, usłyszałem od reprezentanta polskich studentów w Moskwie: idziesz na chemię na MGU. – Ale – wyjąkałem – ja chciałem na biochemię – Chemia, czy biochemia, co ci zależy – zdecydował za mnie ten kolega. A był to Kazio Nowicki, Oświęcimiak, któremu obóz koncentracyjny zastąpił normalne lata szkolne, a z którym miałem się potem zaprzyjaźnić. No i w ten sposób zostałem studentem chemii. Nasz rocznik polskich stypendystów liczył ponad czterystu studentów. Na chemię w MGU trafiło nas trzech, obok mnie Tadek Kobos z Olkusza i Arnold Adamiec z Opolszczyzny. Była na wydziale jeszcze dwójka starszych kolegów, już na piątym roku. Byli to Hanka Markowska, która potem pracowała w grupie prof. Michalskiego w Łodzi, i Janusz Dąbrowski, w późniejszych latach przez pewien czas wicedyrektor IChO PAN w Warszawie.

Pierwsze miesiące były bardzo trudne. Znikoma znajomość rosyjskiego, ostrożność kolegów Rosjan, by nie narazić się nieopatrzniymi kontaktami z bądź co bądź, *inostrancami*, małe obycie z pracą w laboratorium. Nowy uniwersytet na Wzgórzach Leninowskich, dopiero się budował. Mieszkaliśmy w osławionych przez Sołżenicyna starych kazarmach na Stromynce nad Jauzą. Po siedmiu, ośmiu w pokoju. Dom studencki był koedukacyjny. Były obok siebie pokoje żeńskie i męskie. Ale nie było miejsca dla żadnych ekscesów. Dziewczeta nas, *inostrancow*, raczej unikały. Panował duch surowej, powojennej dyscypliny, no i stalinowski zakaz zawierania

małżeństw z obywatelami innych państw. Męczące było nasze zawieszenie w swojej próżni społecznej. Straciliśmy kontakt ze starym krajem. I nie przyjmowało nas – traktowało jak obce ciało, środowisko miejscowe.

Za to kolektyw nauczający był na wydziale doskonały. Były to świetne lata chemii na MGU.

Na wydziale pracowało bodaj dwunastu członków rzeczywistych i korespondentów Akademii Nauk. Na pierwszym roku chemii ogólnej nauczał profesor Spycyn, wtedy jeszcze członek-korespondent Akademii. Za słabo wtedy znałem rosyjski, by cieszyć się tym wykładem. Ale był co się zowie solidny. Drugi rok studiów był analityczny. Było tam dwóch profesorów. Jeden wielki i zwalisty, drugi wysuszony, malutki staruszek, Nazywano ich więc „makrodied” i „mikrodied”. „Makrodied” nosił nazwisko Przewalski i przyznawał się do polskiego pochodzenia, choć nie demonstracyjnie. Kiedyś kazał mnie do siebie przyprowadzić i w milczeniu mi się przyglądał. Obaj nie prowadzili wykładów. Robiły to za nich młodsze współpracownice. Analityczna chemia na MGU była więc jakby uboższa, niż inne chemie. Niedługo potem przyszedł na wydział profesor Alimari, członek korespondent Akademii. Przy nim rozwinął się talent Jurki Zołotowa, mojego kolegi z roku, z którym mieszkaliśmy dwa lata w jednym pokoju. Nie ma czasu, by opowiedzieć jak Jura podpadł politycznie władzom, ale fakt, że był „podpadnięty” świadczy o niemałej odwadze profesora Alimarina, który się nim zaopiekował. Zołotow został później członkiem rzeczywistym AN.

Chemię organiczną wykładał sam Niesmiejanow. Został właśnie prezydentem Akademii, co nie przerwało jego systematycznego wykładu. Wykładał spokojnie i rzeczowo. Jego syn, Kola, był na naszym roku studiów i przyjeżdżał na poranny wykład ojcowym służbowym autem. Opowiadał, że po drodze ojciec przygotowuje się do wykładu, bo w innych porach nie ma na to czasu. Dziwiłem się trochę, że nie pozwala zabrać sobie wykładu. – Cóż chcesz – powiedział mi wtedy kolega, żyd rosyjski – to jest jego więź z masami.

A przecież Niesmiejanow miał dwóch doskonałych pomocników. Byli to młodzi wtedy docenci, Reutow i Koczetkow. Obydwaj zostali członkami rzeczywistymi AN. Reutow zastępował Niesmiejanowa jako wykładowca, ale szef bardzo rzadko dawał mu po temu sposobność. A trzeba powiedzieć, że Reutow miał do tego prawdziwy talent. Później miałem okazję wysłuchać jego wykładu z teoretycznych podstaw chemii organicznej. Był na prawdę porywający. Koczetkow był natomiast wykładowym asystentem Niesmiejanowa. Przygotowywał pokazy lekcyjne i był w tym świetny. Słyszał z tego, że mu wychodziły wszelkie doświadczenia. W późniejszych latach powołano go na członka-korespondenta AN i coś długo nie awansował dalej. Żalił się nawet przy okazji jakiegoś spotkania Januszowi Dąbrowskiemu, który pod jego okiem wykonywał doktorat i dobrze się znali. – Przecież – perswadował mu Janusz – jest pan członkiem korespondentem Akademii. To przecież nie mało. – Janusz – odparł Koczetkow – u nas w Sowieckim Sojuszu teściowa akademika więcej znaczy, niż członek-korespondent. Później, już jako akademik, był Koczetkow dyrektorem Instytutu Chemii organicznej AN.

Wykład Niesmiejanowa nie był popisem krasomówstwa. Był spokojny, pozbawiony anegdot i żartów. Raz tylko zaryzykował drobny żart. Mówił o wiązaniu chemicznym. Że tworzą je dwa elektrony o przeciwnych spinach. A „spina” to jak wiadomo po rosyjsku „plecy”. „Elektrony – mówi więc Niesmiejanow – parują się spinami. Prawda, jakie to dziwne?”

Zaniemówiliśmy wtedy z wrażenia.

Byliśmy na trzecim roku studiów, gdy na wydział spadła nieoczekiwana reorganizacja. Było to związane z gwałtownym zapotrzebowaniem na absolwentów przygotowanych do pracy w laboratoriach radiochemicznych i jądrowych. Studentów-chemików, którym można było powierzyć takie zadanie, było zapewne za mało, bo na nasz rok przeniesiono pewnie ze stu studentów trzeciego roku geologii. Razem z wyselekcjonowanymi chemikami utworzyli oni oddział studiów tajnych, z tajnymi notatkami z zajęć i absolutnym utajnieniem całego toku studiów. Na wydziale i tak było ciasno – zrobiło się bardzo ciasno. Tymczasem rozpoczęły się wykłady i zajęcia laboratoryjne z chemii fizycznej. Wykładał ten przedmiot profesor Gierasimow, członek-korespondent Akademii. Nie miał talentu wykładowego. Wykładał cicho, nudnie. W dodatku, wobec trudności lokalowych na wydziale wykład wyznaczono na szóstą rano. Żeby zdążyć, trzeba było wstać przed piątą. W dobrze nagrzejanej zimną salą zasypialiśmy pokotem. Nie miałem siły słuchać. Żeby się do tego zmusić, siadałem w pierwszych rzędach audytorium. Poczynam pogrążać się we śnie. Inni rozmawiali, hałasowali. Aż pani prodziekan przychodziła, by nas uspokoić. – Przecież wam wykłada – mówiła – nie byle kto, a poważny uczoney. Ale nie było na nas rady.

Na trzecim roku studiów mieliśmy też wykłady i zajęcia laboratoryjne z technologii chemicznej. Szefem technologii był akademik Wolfkowicz. Wysoki pan o dostojnym i jakby wojskowym wyglądem – nic dziwnego – powiedział mi kolega (żyd rosyjski, który utrzymywał, że ma pochodzenie litewskie) – przecież to wojskowy; generał-lejtnant wojsk chemicznych. Był to prawdziwy orator, ale mało miał czasu, i wykłady prowadzili za niego dwaj docenci. Jeden technologię nieorganiczną, a drugi organiczną. Poza wydziałem profesor Wolfkowicz był dyrektorem Instytutu Insekto-Fungicydów. Były to lata wzmożonej walki z kosmopolityzmem i nie mało dziwniono się takiej nazwie. A akademik Wolfkowicz miał na to odpowiedzieć (powtórzał mi to kolega Rosjanin, być może była to tylko anegdota, przypisywana Wolfkowiczowi, z którą sam nie miał nic wspólnego): gdybyście mój instytut nazywać według utartego schematu, to nazwa powinna brzmieć – Nauczno – Issledowatelskij Institut Chemiczeskich Udobrenii i Jadow. I wot, sdielajtie sokraszczenije. Sami widzicie, że tak nie można.

Na czwartym roku studiów czekał nas wyodrębniony z chemii fizycznej wykład z chemii koloidów. Prowadził ten wykład członek rzeczywisty Akademii, profesor Rhebinder. Był on prawdziwym fanatykiem koloidów. Wykładał świetnie. Nigdy nie zapomnę, jak stojąc przy tablicy, na której wyprowadził równanie absorpcji Langmuira wołał podniecony: spójrzcie tylko, jakie to piękne! Lubił on wpadać

nagle na egzamin i osobiście egzaminować jakąś ofiarę, struchlałą z wrażenia. Schwycił tak mojego współlokatora ze Stromynki, Borysa, i zaczął go pytać o koloidy stałe. Chodziło mu o ziemię, która uważana jest za taki stały koloid. A kolega się zacukał. – No, pomyślcie – pomagał mu profesor – po czym chodzicie. A przerażony chłopak wyjąkał wreszcie – po asfalcie. Profesor zerwał się z miejsca, zaczął biegać wzburzony po pokoju, krzycząc: po asfalcie! Po asfalcie! Z największym oburzeniem.

Na czwartym roku studiów wysłuchałem też wykładu historii chemii, profesora Figurowskiego. Z wykładu niewiele pamiętam, a przecież w przyszłości miała to być moja druga, uboczna specjalizacja naukowa. Za to pamiętam, jak ówczesna żona Jurki Złotowa zdawała u niego egzamin. Profesor miał zwyczaj pytać, z jakiej specjalizacji jest delikwent, żeby pytania przystosować do kierunku pracy własnej studenta. A ona, zapytana na wstępie o specjalizację, zakrzyczała: alchemia! Alchemia! Więc była też pytana o alchemię.

Z pośród wykładowców, którzy pracowali na innych wydziałach, a u nas prowadzili zajęcia z przedmiotów pomocniczych, najbardziej wyraziście rysuje mi się w pamięci postać wykładowcy matematyki wyższej, Tumarkina. Jego wykład był wzorem systematyczności i logiki. Później, już w kraju, pewien matematyk pytał mnie, kto miał dla nas matematykę. – Tumarkin – odpowiadam. – Tumarkin? Przecież to wybitny matematyk! – powiedział mój rozmówca z jakimś żalem i zdumieniem w głosie, Musiało mu się zrobić przykro, że wybitny uczony głosił prawdy matematyki dla jakichś tam chemików.



Fot. 1. Moi moskiewscy przyjaciele,
"Stromynbratja", Alosza Zajcew i Jura Zołotow

A mój przyjaciel, Alosza Zajcew ułożył nawet piosenkę o Tumarkinie, która w języku rosyjskim brzmiała tak:

*Lew Abramowicz Tumarkin, eech,
eech, eech, eech,*

*Chleszczet wodku wysszej marki!
Eech, ech, nam by te-ek!*

Wykładowcy fizyki ogólnej nie zalegli na trwałe w mojej pamięci. Inaczej profesor Iwanienko, który miał dla nas kurs fizyki teoretycznej. Znany, jako wczesny twórca teorii budowy jądra atomowego. Płomienny wykładowca. W dodatku miał skłonność do historii nauki

i pokazywał nam jak się kształtowały i jak stopniowo były rozwiązywane problemy teoretycznej fizyki. Bardzo to było pouczające.

Wspomnę tu jeszcze o kursie krystalografii. Wykładał ją profesor Poraj-Koszyk, o którym mówiono, że jest polskiego pochodzenia. Pracował na Wydziale Geologii. Chemia nie miała wtedy własnej katedry krystalografii.

Po trzecim bodaj roku studiów czekał nas wybór specjalizacji. Wybrałem chemię organiczną, do której miałem szczególną skłonność. A konkretnie zespół profesora Aleksandra Piotrowicza Tjerentjewa. Cieszył się on wielką sympatią studentów. Miał do nich szczególnie serdeczny i przyjazny stosunek. Lubił zabawki dziecinne, zwłaszcza te nieco bardziej skomplikowane. Wiele z nich można było zobaczyć w jego gabinecie. Pamiętam go medytującego nad chińską zabawką – plastikowym bocianem co pewien czas zanurzającym dziób w zimnej wodzie, po czym wracającym do pozycji pionowej. – Jak myślicie – pytał mnie – na czym to polega? Był miłośnikiem Dickensa. Cytował liczne powiedzenia z „Klubu Pickwicka”. A jesienią urządził „arbuzniki” zespołu, to jest zbiorowe zjedanie wielkiej liczby arbuzów, które o tej porze pojawiały się w Moskwie.



Fot. 2. Pracownia studencka w zakładzie prof. Tjerentjewa

Tjerentjew podczas wojny (wtedy 60-latek) sprawował, funkcje cywilnego dowódcy obrony przeciwpożarowej gmachów uniwersyteckich. Jego naukową pasją była stereochemia organiczna. Podstawy tej pasjonującej nauki poznałem właśnie w zakładzie Tjerentjewa. Był on autorem systemu wyznaczania konfiguracji absolutnej izomerów konfiguracyjnych, konkurencyjnego do powszechnie potem przyjętego systemu Cahn-Ingolda-Preloga.

Docentem w jego zespole był Aleksiej Nikołajewicz Kost, później znany badacz w chemii związków heterocyklicznych, Prowadził on dla mojej grupy zajęcia laboratoryjne z chemii organicznej, co tym bardziej wiązało mnie z tym zespołem. Był to mistrz sportu w zakresie turystyki i „pierworozriadnik” z alpinistyki. W czasie wojny służył w lotnictwie. Był kapitanem – nawigatorem w eskadrze bombowców, stacjonującej jakiś czas pod Częstochową. Zostało mu z tego czasu powiedzenie, które wypowiadał po polsku, – O Matko Boska Częstochowska! Ale nie on został opiekunem mojej pracy dyplomowej, ale inny kombatan, Wiktor Potapow, Był on opóźniony w studiach i właśnie pracował nad swoim doktoratem (rozprawą kandydacką). Po wojnie pracował w nowopowstałym uniwersytecie w Użgorodzie, i był tam nawet prorektorem. Przyjechał do Moskwy uzupełnić wykształcenie.

Wybór chemii organicznej jako specjalizacji sprawił, że nie spotkałem się bezpośrednio z takimi znakomitymi fizyko-chemikami uniwersytetu, jak Frumkin, znany elektrochemik, czy sławny już wtedy Siemionow, późniejszy Noblista. Do Siemionowa trafił pewien doktorant, z Saratowa, który przez rok mieszkał z nami na Stromynce. Był on pełen podziwu dla osobistej odwagi Siemionowa, który bronił, w czasie znanych dyskusji nad teorią rezonansu w chemii, poglądów Paulinga. –

On mówi – powtarzał nam ów doktorant – że nie rozumie, gdzie jest ten idealizm u Paulinga.

Wybór specjalizacji oznaczał zmianę w organizacji grup studenckich. Rozstałem się z grupą, w której przebywałem od pierwszego roku studiów. W naszej nowej grupie specjalizującej się w chemii organicznej było około dwudziestu osób. Była to zdolna grupa młodzieży. Spośród niej dwoje, jak wiem, dostało się do Akademii Nauk. Są to profesor Bieleckaja i profesor Tartakowski, do niedawna dyrektor Instytutu Chemii Organicznej Akademii. Wspólnych grupowych zajęć mieliśmy już niewiele. Pamiętam jakiś specjalizacyjny kurs ze spektroskopii Ramana i ciekawe zajęcia ze spektroskopii molekularnej, które prowadził przybyły z łagrowego odosobnienia fizyk, członek – korespondent AN, Obreimow. Po śmierci Stalina wrócił na wydział jeszcze jeden uczony. Był to akademik Bałandin, twórca multipletowej teorii katalizy. Był on wcześniej dziekanem wydziału i pewnego dnia zniknął na kilka lat. A teraz równie niespodziewanie wrócił. O obydwu pisałem już w jednej ze swoich wcześniejszych notatek.

Temat pracy dyplomowej, jaki otrzymałem od profesora, dotyczył rozpoznania możliwości syntezy homologów tauryny za pomocą reakcji Leuckarta. Produktami wyjściowymi były ketony aromatyczno-alifatyczne, takie, jak na przykład acetofenon. Te sulfonowałem w łagodnych warunkach kompleksowo związanym z dioksanem trójtlenkiem siarki. Otrzymane kwasy ketosulfonowe redukowałem do połączeń aminosulfonowych w warunkach reakcji Leuckarta. Temat był ładny i po pewnych wstępnych kłopotach udało mi się go pomyślnie rozwiązać. Wyszła z tego niewielka publikacja w „*Žurnale Obszczej Chemii*”.



Fot. 3. Prof. M.M. Botwinnik przedstawia swoją opinię o mojej pracy dyplomowej

Prace dyplomowe podlegały publicznej obronie na otwartym posiedzeniu pracowników sekcji organicznej wydziału. Traktowano to bardzo poważnie. Profesor Tjerentjew zarządził na wszelki wypadek „próbne obrony”. Przedstawiłem więc moje wyniki w swoim gronie. Starałem się to zrobić „na luzie”, swobodnie. Mówiłem zaś już wtedy po rosyjsku bez jakiegokolwiek trudności. Nie poznawano, że to mówi ktoś obcy. Raczej przypuszczano, że pochodzę z Ukrainy, bo mam taki dziwny *ottienok* w głosie. Profesor wysłuchał mojej opowieści i orzekł, że dobrze, że tak właśnie mam wystąpić

podczas oficjalnej obrony. I tak się też stało. Moją oponentką (recenzentką) była profesor Maria Botwinnik.

Pochwaliła wystąpienie, mówiąc, że było znacznie lepsze od tekstu pracy dyplomowej, gdzie niepotrzebnie powypisywałem różności. Po czym nieoczekiwanie

zabrał głos profesor Jurjew. Wykładał on dla specjalizacji organicznej metody syntezy organicznej według Houbena-Weyla. Może zauważył, że nieco posypiałem na tych wykładach? – Ja – powiedział – nie będę mówić o samej pracy dyplomowej. Ale oburza mnie zachowanie prelegenta. Zachowywał się skandalicznie. Żadnego szacunku dla uczonego gremium. Jak się można tak zachować! Trzeba to najsuroziej napiętnować!

Wszyscy zebrani oniemieli. Ale znalazłem w sobie siły, żeby zakończyć tę scenę spokojnie. – Nie miałem zamiaru – powiedziałem – kogokolwiek obrażać. I jeśli pan (tu imię i otczestwo) – poczuł się obrażony, to proszę o wybaczenie. Potem, na zamkniętym posiedzeniu, zebrani próbowali namówić Jurjewa, aby ze swej strony załagodził jakoś to wydarzenie. Ale nie, uparł się przeciwko wszystkim.

Potem był jeszcze egzamin państwowy przed komisją wyznaczaną przez ministerstwo. Komisji przewodniczył ktoś z zewnątrz, z innej uczelni wyższej. Ale przestudiowałem do egzaminu potężny objętościowo podręcznik Fieserów, i jakoś obyło się bez dalszych komplikacji.

Dziś, gdy zastanawiam się na swoimi studiami, widzę, że udało mi się ukończyć wyjątkowo dobre studia. Studiowałem w czasie rozkwitu tego okresu rozwoju chemii, który nazywa się niekiedy okresem chemii klasycznej. Nowe kierunki chemicznej myśli i nowe metody badawcze dopiero się wykluwały. Dopiero zaczęły dochodzić do głosu metody obliczeniowe i cała chemia kwantowa. Uproszczona wersja tego podejścia, w postaci teorii rezonansu, była podejrzewana o ideologiczne błędy. Metody instrumentalne też się dopiero rodziły. Dopiero zaczynała się spektroskopia w podczerwieni. Nie było jeszcze spektroskopii NMR, ani rozwiniętych metod spektrometrii mas. Pamiętam, jak dla grupy polskich studentów i aspirantów (doktorantów) późniejszy mój kolega i przyjaciel na wrocławskiej uczelni, profesor Lucjan Sobczyk, miał wykład o spektroskopii EPR. Ale on już tego wydarzenia w ogóle nie pamięta. Najwidoczniej dla mnie było ono ważniejsze bo to była dla mnie całkowita nowość. W chemii organicznej dojrzywało dopiero pojęcie konformacji i czekał na otwarcie cały obszar stereochemii dynamicznej. Jednym słowem, chemia, jaką poznałem w Moskwie była dobra, ale trochę jakby tradycyjna.

Program zaś studiów był wyraźnie nastawiony na kształcenie pracowników laboratoriów badawczo-naukowych. Duży więc nacisk kładziono na przyuczenie studenta do pracy z literaturą naukową. Służyły temu obowiązkowe „prace kursowe”, jakie pisało się począwszy od drugiego roku studiów. Na drugim roku pisałem więc o zastosowaniach elektrochemii w analizie chemicznej – tę pracę najmniej pamiętam. Na trzecim roku musieliśmy zebrać z piśmiennictwa wszystko nt. określonego związku chemicznego, dostał mi się fumaronitryl. Wówczas po raz pierwszy zetknąłem się z nazwiskiem Radziszewskiego i jego metodą selektywnej hydrolizy nityli do amidów kwasowych. Dla mojego opiekuna, docenta Kosta, nazwisko Radziszewskiego było także nowe. Wiecie, Zenek – powiedział mi jakiś czas potem – że ten Radziszewski to w ogóle dobry chemik? Więc moja późniejsza książka o Radziszewskim i jego szkole też poczęła się w czasie studiów moskiewskich.

Na czwartym roku pisaliśmy pracę kursową z chemii fizycznej. Dostałem temat od prowadzącego zajęcia z naszą grupą. Ale temat mi „nie leżał”, a czas biegł nieubłaganie, oddanie pracy było zaś warunkiem zaliczenia przedmiotu. Kiedyś przydybał mnie na korytarzu opiekun grupy. – Gdzie praca? – zapytał. Przyznałem się, że temat mi nie odpowiada. – No to zaproponujcie własny temat – powiedział. Zaproponowałem temat: „Kinetyka syntezy asymetrycznej”, bo właśnie ta sprawa mnie wtedy dręczyła. – Kinetyka? – pyta – dobrze. I już bez kłopotu napisałem tę pracę.

Warsztat badawczy, jaki poznałem w czasie studiów, był więc raczej tradycyjny. Ale miał swoje zalety. Na studiach poznałem nieco specyficznie chemiczne podejście do badań struktury molekularnej cząsteczek organicznych, polegające na wykorzystaniu własności chemicznych grup funkcyjnych i poszczególnych elementów struktury, do jej ustalenia, Uderzyła mnie głęboka inteligencja i umiejętność naszych poprzedników, którzy potrafili z takich rozproszonych danych układać spójny obraz. Ten podziw został mi do dziś, choć wiem, że sztuka badania struktury cząsteczkowej metodami czysto chemicznymi to już przeszłość chemii. Ale pamiętam też, jak w czasie, gdy pracowałem w zakładzie prof. Baranowskiego przyszło mi udowodnić budowę otrzymanych związków za pomocą „syntezy spotkaniowej” (*wstrecznej sintez*). Profesor zdziwił się mocno, skąd mi to przyszło do głowy, a przecież nauczyli mnie tego w Moskwie. Najcenniejszą jednak rzeczą, jaką wyniosłem ze studiów, było (i jest) głębokie przekonanie o konieczności ciągłego doksztalcania się i ciągłego poznawania nowych obiektów ciągle zmieniającego się obrazu naszej nauki.

I chodzi mi ciągle jeszcze po głowie hymn chemików, jaki nuciłiśmy wtedy:

*My nie czeta filologam-piżonam, juristow my prezrenijem zaklejnim
I po chałatam griaznym i prożżonnym my chimika powsiudu otliczim!*

NOWE WYDAWNICTWA



John D. Hepworth, David R. Waring, Michael J. Waring, *Chemia związków aromatycznych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2009, Wyd. I, str. 216, oprawa miękka, lakierowana.

Wydana w 2009 roku przez Wydawnictwo Naukowe PWN jako kolejny tomik serii „Niezbędnik chemika” książka pt. „Chemia związków aromatycznych” jest przekładem (Agaty Jurkiewicz) brytyjskiego oryginału podręcznika „Aromatic Chemistry” autorstwa Johna D. Hepwortha, Davida R. Waringa i Michaela J. Waringa, wydanego w 2001 przez Royal Society of Chemistry.

Przekład na język polski tego małego podręcznika był ze wszech miar celowy, gdyż w związku ze zmianami w systemie studiów na polskich uczelniach (studia dwustopniowe) istnieje rzeczywiste zapotrzebowanie na nieduże, monograficzne podręczniki.

Podręcznik jest napisany w sposób zrozumiały i atrakcyjny pod względem dydaktycznym: narracja przechodzi od kwestii prostszych (łatwiejszych) do nieco bardziej złożonych. Istotne konstatacje są w tekście wyróżnione, a każdy z dwunastu rozdziałów kończy się stosownym podsumowaniem. Dalszym ułatwieniem studiowania są liczne przykłady–problemy rozwiązane i objaśnione w tekście. Czytelnik może też przekonać się czy zrozumiał studiowane zagadnienia rozwiązując samodzielnie liczne zadania i konfrontując swoje rozwiązania z odpowiedziami zamieszczonymi na końcu książki.

Zawartość merytoryczna podręcznika odpowiada temu, co dotąd było zazwyczaj omawiane w pierwszym akademickim kursie chemii organicznej. Mowa tam była o aromatyczności jako szczególnej trwałości płaskich, cyklicznych układów sprzężonych o $4N+2$ elektronach π . Konsekwencją tej trwałości jest reaktywność związków aromatycznych: typowe reakcje S_EAr . Skutkiem znacznej gęstości elektronowej wokół atomów węgla w takich układach są odmienne od reakcji związków alifatycznych procesy substytucji nukleofilowej. W recenzowanym podręczniku związki aromatyczne są rozpatrywane jako kolejne pochodne węglowodorów macierzystych, głównie benzenu. Omawiane są alkilo- i arylobenzeny, fenole, aromatyczne kwasy, aldehydy, ketony i alkohole typu benzyłowego, a dalej pochodne azotowe: nitrozwiązki, aminy i sole diazoniowe. Kolejny rozdział to chemia halogenków arylowych. Pewnym rozszerzeniem tradycyjnego wykładu jest omówienie obok związków litoorganicznych i Grignarda również metalowania elektrofilowego (pochodne rtęcio- i taloorganiczne), a także reakcji przebiegających z udziałem połączeń metali przejściowych. Niezależnie od klasycznej reakcji Ullmana przedstawione zostały katalizowane palladem reakcje sprzęgania Stillego, Suzukiego i Hecka, a także sam mechanizm katalizy. Tu warto zauważyć, że stosowany w reakcji Stillego *stanmanowy związek* (str. 128) to związek cynoorganiczny. Obok tych ważnych i bardzo często dziś stosowanych reakcji znalazła się tu też reakcja Dötza – stosunkowo niedawno zbadana cyklizacja z udziałem karbenoidowego kompleksu chromu. Cały ten fragment podręcznika jest bardzo udany – krótko przedstawia czytelnikowi ważne współczesne aspekty chemii związków aromatycznych. W następnym rozdziale opisano procesy redukcji i utleniania związków aromatycznych. Niestety, tu czytelnik nie znajdzie np. sprecyzowanych warunków wymaganych dla uwodornienia benzenu, a za to dowie się, że to *rozpuszczalność litu w amoniaku* odpowiada za jego reaktywność w reakcji Bircha (str. 136). W ostatnim, krótkim rozdziale przedstawiono syntezę i właściwości najważniejszych, benzoido-

wych układów skondensowanych: naftalenu, antracenu i fenantrenu. Dalej czytelnik znajdzie spis angielskojęzycznej literatury (głównie podręcznikowej), uzupełnionej dwoma pozycjami – stanowiącymi przekłady anglojęzycznych podręczników na język polski. Moim zdaniem, bardzo brakuje tu faktycznie polecanych naszym studentom książek polskich autorów, w tym doskonałego podręcznika P. Mastalerza (*Chemia organiczna*, PWN, 1984), i nowszych: A. Zwierzaka (*Zwięzły kurs chemii organicznej*, Wyd. Politechniki Łódzkiej, 2000, 2002), czy książki M. Mąkoszy i M. Fedoryńskiego (*Podstawy syntezy organicznej*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 2006). Zwłaszcza ta ostatnia, mimo małych rozmiarów, przynosi ważne uzupełnienie i rozwinięcie dość klasycznego (poza reakcjami katalizowanymi palladem) wykładu brytyjskich autorów. O tym klasycznym charakterze świadczy też fakt przywołania na 150 stronach ok. 40 reakcji określanych nazwiskami (*name reactions*). Niestety, niektóre z nazwisk, po zastosowanym spolszczeniu, odbiegają od oryginałów oraz formy przyjętej w polskiej literaturze. Mimo pewnych mankamentów, podręcznik przynosi wszystkie najważniejsze informacje, jest bardzo przejrzyste zredagowany, a liczne przykłady i zadania pozwalają sprawdzić opanowanie studiowanego materiału. Na pochwałę zasługuje szata graficzna tej, jak i pozostałych książek z serii „Niezbędnik chemika”.

Wspomniana wcześniej zmiana systemu studiów powoduje, że z takich właśnie podręczników, a nie z tradycyjnego obszernego wykładu, studenci będą poznawać te zagadnienia i przygotowywać się do egzaminów – dla tych głównie względów „Chemia związków aromatycznych” będzie znajdować czytelników.

Reasumując, książkę można rekomendować wykładowcom i studentom chemii na studiach inżynierskich i licencjackich, a także słuchaczom studiów magisterskich, zwłaszcza tym którzy wybierając chemię organiczną lub pokrewną specjalność swych dalszych studiów potrzebują szybko uzupełnić bądź odświeżyć swą wiedzę.

Jacek Skarżewski

INFORMACJE

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

Informacje bieżące

Informujemy, że od roku 2010, rezygnujemy z przesyłania do Autorów bezpłatnych odbitek manuskryptu – w zamian będziemy przysyłać elektroniczną wersję opublikowanej pracy. Decyzja ta została podjęta na prośbę wielu autorów jak również ze względu na obniżenie kosztów wydawania czasopisma.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

CENY PRENUMERATY NA ROK 2010

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

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

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

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

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

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



Politechnika Wroclawska

Studia Doktoranckie na Wydziale Chemicznym

Wydział Chemiczny Politechniki Wroclawskiej ogłasza nabór na czteroletnie stacjonarne **STUDIA DOKTORANCKIE** w roku akademickim 2010/2011, w następujących dyscyplinach:

- **BIOTECHNOLOGIA**
- **CHEMIA**
- **INŻYNIERIA CHEMICZNA**
- **TECHNOLOGIA CHEMICZNA**, w tym **INŻYNIERIA MATERIAŁOWA**

Warunkami przyjęcia na studia są ukończone studia wyższe II stopnia i pozytywny wynik postępowania kwalifikacyjnego. Zgłoszenia wraz z wymaganymi dokumentami należy składać w Dziale Nauczania Politechniki Wroclawskiej (Wybrzeże Wyspiańskiego 27, budynek A-1, pokój 153) w dniach **od 5 do 28 maja** bieżącego roku. Przewidywany termin rozmów kwalifikacyjnych: **17-21 czerwca 2010**. Kandydaci zakwalifikowani na studia, którzy uzyskają wysoką lokatę w postępowaniu rekrutacyjnym, mogą otrzymać stypendium doktoranckie. Ponadto, zgodnie z Regulaminem Studiów Doktoranckich, doktoranci mogą ubiegać się o stypendia socjalne i naukowe.

Dodatkowe informacje, w tym o potencjalnych promotorach, można uzyskać na stronach internetowych: Studium Doktoranckiego Politechniki Wroclawskiej

<http://www.doktoranci.pwr.wroc.pl> i Wydziału Chemicznego <http://www.ch.pwr.wroc.pl>



Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN
im. Włodzimierza Trzebiatowskiego
we Wrocławiu

zaprasza na

STUDIA DOKTORANCKIE

FIZYKA I CHEMIA CIAŁA STAŁEGO

w ramach Międzynarodowej Szkoły Badawczej
im. Maksa Plancka

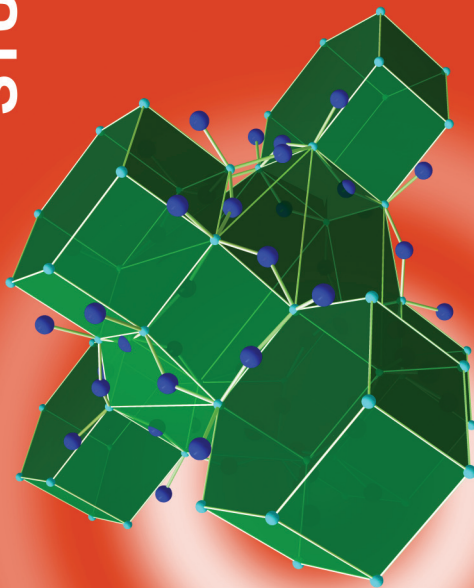
Drezno - Wrocław - Praga

Stypendium im. W. Trzebiatowskiego
dla najlepszych doktorantów

Program studenckich staży naukowych
dla studentów wszystkich lat studiów

Dzień otwartych drzwi: **26 maja 2010 r. godz. 12:00**

Pełna informacja: www.int.pan.wroc.pl





Uniwersytet
Wrocławski

Wydział Chemii

ul. Fryderyka Joliot-Curie 14
50-383 Wrocław
tel. +48 71 375 72 57
fax +48 71 328 23 48
e-mail: dziekan@chem.uni.wroc.pl
www.chem.uni.wroc.pl

Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego ogłasza nabór na czteroletnie Stacjonarne Studia Doktoranckie Chemii w roku akademickim 2010/2011

O przyjęcie na studia doktoranckie mogą ubiegać się osoby, które:

- posiadają tytuł magistra, magistra inżyniera lub równorzędny
- uzyskały średnią ze studiów nie niższą niż 4,0 lub posiadają przynajmniej roczny udokumentowany staż pracy zawodowej w dziedzinie odpowiadającej kierunkowi studiów (odbyty po obronie pracy magisterskiej)
- zdadzą wstępny egzamin z chemii przed Wydziałową Komisją Rekrutacyjną oraz egzamin z języka angielskiego.

Dokumenty należy składać **do 21 czerwca 2010 r.**

na Wydziale Chemii Uwr. (Sekretariat Naukowy - pok. 8c),
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław.

Egzaminy kwalifikacyjne odbędą się w dniach 6-7 lipca 2010 r.

Więcej informacji na stronie internetowej Wydziału Chemii
Uniwersytetu Wrocławskiego:

<http://chemia.stud.wchuwr.pl>

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

REGULAMIN DLA AUTORÓW

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Autorzy zobowiązani są do wykonania jednej korekty tekstu.

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

Redakcja
„Wiadomości Chemicznych”

