

WIADOMOŚCI *chemiczne*



2017

(71)

3-4

(837-838)



CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez MNiSW

RADA REDAKCYJNA

RYSZARD ADAMIAK, IRENA BARANOWSKA, ANDRZEJ BARAŃSKI,
BOGUSŁAW BUSZEWSKI (PRZEWODNICZĄCY), TADEUSZ GORECKI,
MIITEK JARONIEC, ANATOL KOJŁO, TADEUSZ M. KRYGOWSKI,
JERZY LESZCZYŃSKI, KRZYSZTOF MATYJASZEWSKI, PIOTR PANETH,
JANUSZ PAWLISZYN, K. MICHAŁ PIETRUSEWICZ, DARIUSZ POGOCKI,
MAREK POTRZEBOWSKI, SŁAWOMIR RUBINSZTAJN, GRZEGORZ SCHROEDER,
ANDRZEJ W. SOKALSKI, ARTUR P. TERZYK

KOMITET REDAKCYJNY

MARCIN DRAĞ, ADAM JEZIEWSKI, LESZEK KĘPIŃSKI,
LUDWIK KOMOROWSKI, WITOLD RYBA-ROMANOWSKI, SŁAWOMIR SZAFERT,
ANDRZEJ TROCHIMCZUK, KAZIMIERA WILK

REDAKTOR NACZELNY

ZDZISŁAW LATAJKA

SEKRETARZ REDAKCJI

BEATA ŚWIĄTEK-TRAN
BARBARA LATKO (FINANSE)
KAZIMIERA LUKJAN (KOLPORTAŻ)

Korespondencję należy kierować pod adresem:
Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
tel.: 71 375 73 89, tel./fax: 71 322 14 06
e-mail: wchem@wchuwr.pl

INTERNET

<http://www.wchuwr.pl/wiadchem.htm> (English abstracts)
<http://www.dbc.wroc.pl> (pełne teksty publikacji od roku 2006)

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

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2017
pISSN 0043-5104
eISSN 2300-0295

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy w marcu 2017

Przygotowanie do druku i druk:
Firma Wydawnicza K2, e-mail: k2@druk-k2.pl

**NUKLEOZYDY 8-AZAPURYNOWE
– SYNTEZA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA**

**NUCLEOSIDES OF 8-AZAPURINES
– SYNTHESIS AND THE BIOLOGICAL ACTIVITY**

Iwona E. Głowacka*, Anna Zdzienicka

*Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź
e-mail: iwona.głowacka@umed.lodz.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Nukleozydy 8-azapurynowe
 - 1.1. 8-Azanebularyna
 - 1.2. 8-Azaadenozyna
 - 1.3. 8-Azainozyna i 8-azatioinozyna
 - 1.4. 2-Amino-8-azaadenozyna
 - 1.5. 8-Azaguanozyna
 - 1.6. 8-Azaksantozyna
2. Nukleozydy 8-aza-2'-deoksy-purynowe
 - 2.1. 8-Aza-2'-deoksyadenozyna
 - 2.2. 8-Aza-2'-deoksyinozyna
 - 2.3. 2-Amino-8-aza-2'-deoksyadenozyna
 - 2.4. 8-Aza-2'-deoksyguanozyna i 8-aza-2'-deoksyizoguanozyna
3. Nukleozydy 8-aza-2,3'-dideoksy-purynowe
 - 3.1. 8-Aza-2,3'-dideoksyadenozyna
 - 3.2. 8-Aza-2,3'-dideoksyguanozyna
4. Enzymatyczne syntezy nukleozydów 8-azapurynowych
5. Aktywność biologiczna
 - 5.1. Przeciwnowotworowa
 - 5.2. Przeciwwirusowa
 - 5.3. Przeciwbakteryjna
 - 5.4. Przeciwprzerwotniakowa

Podsumowanie

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

dr hab. Iwona E. Głowacka studiowała chemię (1991–1996) na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, w 2006 roku uzyskała stopień doktora nauk farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a w roku 2015 – stopień doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Jej zainteresowania naukowe dotyczą, m.in. syntezy i stereochemii nowych pochodnych heterocyklicznych, jako fosfoniowych mimetyków nukleozydów i nukleotydów o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych oraz zastosowania spektroskopii NMR w analizie konfiguracyjnej i konformacyjnej.

mgr Anna Zdzienicka ukończyła studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego w 2011 r. Po studiach rozpoczęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Chemii Bioorganicznej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W swojej pracy naukowej zajmuje się między innymi syntezą podstawionych pochodnych 8-azapuryn i benzimidazoli o potencjalnej aktywności biologicznej.

ABSTRACT

The synthetic approaches to 8-azapurine nucleosides and their biological activities have been reviewed. This class of compounds could serve as antimetabolites of purine nucleoside with potential clinical applications [1–6]. They were primarily synthesized by glycosylation of 8-azapurines, which could be easily prepared from appropriately substituted 4,5-diaminopyrimidines when reacted with nitric(III) acid [1]. Since in 8-azapurines at least three nitrogen atoms could serve as nucleophilic centers the regiochemistry of glycosylation was discussed in details. Generally, mixtures of N9, N8 and N7-substituted 8-azapurine nucleosides were formed when reactions were carried out at room temperature (kinetic control), while N9-substituted analogs were produced at elevated temperatures (thermodynamic control). On the other hand, no differences in the stereochemical outcome of glycosylation were noticed for canonical purine nucleobases and their 8-aza analogues since ratios of α and β anomers appeared to be closely related to the structure of a sugar component.

Multidirectional biological activities of 8-azapurines and their nucleosides, including antitumor, antiviral and antibacterial, were presented for the most acclaimed examples. However, none of these compounds was approved as a drug. The current interest in 8-azapurines and their nucleosides takes advantage of a significant fluorescence (opposite to purines), which was found to be a pH-dependent thus providing an excellent tool for advanced studies in nucleic acid chemistry.

Keywords: nucleoside analogues, 8-azanucleosides, 8-azapurines, biological activity

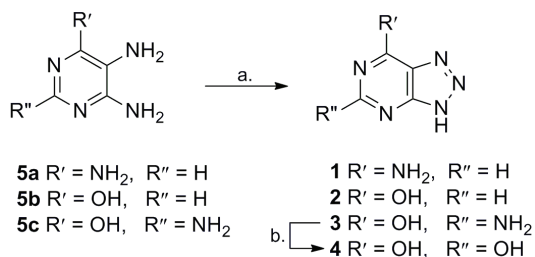
Słowa kluczowe: analogi nukleozydów, 8-azanukleozydy, 8-azapuryny, aktywność biologiczna

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

CC ₅₀	- stężenie związku powodujące zmniejszenie ilości żywych komórek o 50%
CEM	- linia komórkowa ludzkiej białaczki z limfocytów T
D ₃₇	- wymagana dawka do zmniejszenia przeżywalności komórek nowotworowych o 37%
DBU	- 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
DMF	- <i>N,N</i> -dimetyloformamid
ED ₅₀	- stężenie związku powodujące zmniejszenie efektu cytotatycznego o 50%
HIV-1	- ludzki wirus niedoboru odporności typu 1
HMDS	- heksametylodisilazan
HSV-1, 2	- wirus opryszczki typu 1, 2
IC ₅₀	- stężenie wymagane do zahamowania proliferacji komórek o 50%
MCPBA	- kwas <i>m</i> -chloronadbenzoesowy
MW	- promieniowanie mikrofalowe
PNP	- fosforylaza nukleozydów purynowych
RNA	- kwas rybonukleinowy
SI	- indeks selektywności
TDA-1	- tris[2-(2-metoksyetoksy)etylo]amina
THF	- tetrahydrofuran
TMSBr	- bromek trimetylosililu
Tol	- <i>p</i> -metylobenzoil
TsCl	- chlorek tosyłu

WSTĘP

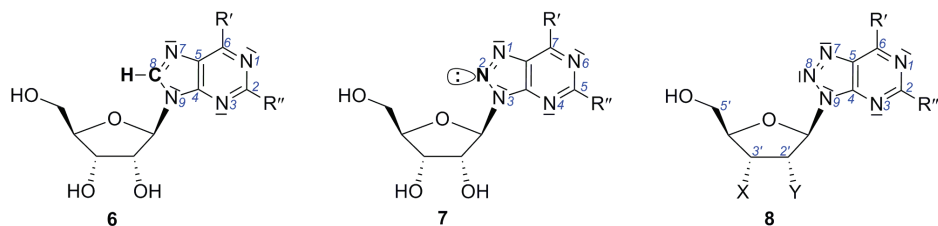
W 1945 r. w poszukiwaniu antagonistów zasad purynowych zsyntetyzowano ich analogi strukturalne zastępując atom węgla znajdujący się w pozycji 8 atomem azotu. Odpowiednio podstawione pochodne 4,5-diaminopirymidyny **5a-5c** zostały przekształcone w 8-azaadeninę **1**, 8-azahypoksantynę **2** i 8-azaguaninę **3** (Schemat 1) [1]. Związki **1** i **3** hamowały wzrost bakterii, odpowiednio *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*, a aktywność ta znacznie się zmniejszała po dodaniu w pierwszym przypadku adeniny i hypoksantyny, a w drugim – guaniny [1]. Po wykazaniu, że 8-azaguanina **3** hamuje wzrost komórek nowotworowych [2, 3], w tym gruczolaka (ang. *adenocarcinoma*) EO 771 u myszy, oraz rozwój pierwotniaków *Tetrahymena gelei* [4] zainteresowanie 8-azapurynami jako antymetabolitami zasad purynowych znacznie wzrosło. Warto dodać, że 8-azaguanina jest również związkiem występującym w naturze (patocydyna, ang. *pathocidin*); została wyodrębniona jako produkt fermentacji *Streptomyces albus* [5].



Schemat 1. Synteza 8-azapuryn; odczynniki i warunki: a. NaNO₂; b. NaNO₂, H₂SO₄

Scheme 1. Synthesis of 8-azapurines; reagents and conditions: a. NaNO₂; b. NaNO₂, H₂SO₄

Porównanie struktur nukleozydów purynowych **6** i nukleozydów zawierających pierścień 8-azapurynowy **7** (Rys. 1) prowadzi do wniosku, że są to układy izoelektronowe i niemalże izosteryczne. Należy, zatem oczekiwać, że analogi będą mogły zastępować naturalne nukleozydy w procesach biochemicznych, a tym samym stanowić dogodne narzędzie do badań mechanistycznych. Jednocześnie w miejscu atomu węgla pojawił się elektroujemny atom azotu, którego obecność będzie wpływać na zasadowość atomów azotu i reaktywność podstawionych 8-azapuryn, w tym ważnego w procesach biochemicznych centrum przy C6, trwałość wiązania glikozydowego i nukleofilowość atomów azotu. Ponadto w wyniku wprowadzenia dodatkowego atomu azotu zwiększa się liczba możliwych miejsc przyłączenia heteroaromatycznego aglikonu do części cukrowej, co z pewnością wpłynie na regioselektywność, a być może także na stereoselektywność tworzenia modyfikowanych nukleozydów. Zastąpienie wiązania C8–H przez atom azotu z wolną parą elektronową zmniejsza także oddziaływania odpychające pomiędzy fragmentem triazolowym 8-azapuryn w porównaniu z oddziaływaniami pierścienia imidazolowego naturalnych puryn z fragmentem cukrowym, a tym samym może zmienić preferencje konformacyjne wokół wiązania glikozydowego.



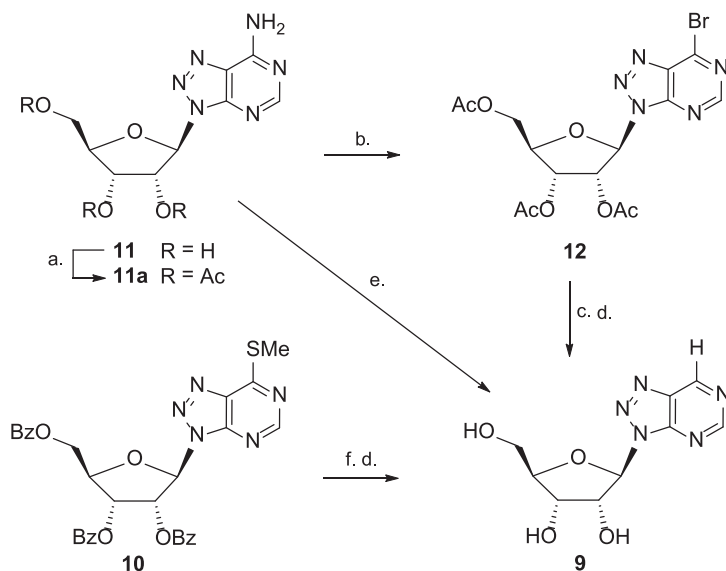
Rysunek 1. Wzory ogólne nukleozydów purynowych
 Figure 1. General structures of purine nucleosides

Ponieważ aktywność biologiczna 8-azapuryn wymaga ich wewnątrzkomórkowego przekształcenia w modyfikowane nukleozydy i dalej w mono- i trifosforany, co zostało wielokrotnie potwierdzone [6], w niniejszym opracowaniu przedstawione zostaną przede wszystkim sposoby syntezy nukleozydów (**8** X = Y = OH), 2'-deoksynukleozydów (**8** X = OH, Y = H) i 2',3'-dideoksynukleozydów (**8** X = Y = H) zawierających podstawione 8-azapuryny jako aglikony. W pierścieniu 8-azapuryn zostanie zachowana numeracja atomów powszechnie stosowana dla naturalnych puryn (struktura **8**, Rys. 1).

1. NUKLEOZYDY 8-AZAPURYNOWE

1.1. 8-AZANEBULARYNA

Znane syntezy 8-azanebularyny **9** zostały zestawione na Schemacie 2 i polegają one na zastąpieniu podstawników przy C6 przez atom wodoru. W pierwszej syntezie [7] w głównym produkcie **10** otrzymanym w reakcji 8-aza-6-metylotiuryny z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-D-rybofuranozydu (*vide infra*) grupę metylotiolową zredukowano w obecności niklu Raneya, a następnie usunięto grupy ochronne. 8-Azanebularynę **9** można również łatwo otrzymać z trioctanu 8-azaadenozyny **11a** poddając go reakcji z azotynami organicznymi (reduktywne deaminowanie) [8, 9], a także w wyniku katalitycznej redukcji pochodnej 6-bromo-8-azapuryny **12** [10].

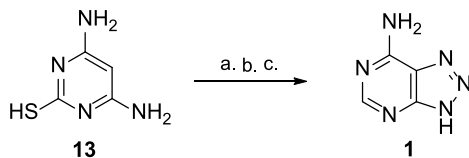


Schemat 2. Synteza 8-azanebularyny **9**; odczynniki i warunki: a. Ac_2O , pirydyna; b. $t\text{-BuONO}$, TMSBr; c. H_2 , Pd-C; d. NH_3 , MeOH/EtOH; e. $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{ONO}$, THF albo $t\text{-BuONO}$, DMF; f. Ni-Raney

Scheme 2. Synthesis of 8-azanebularyne **9**; reagents and conditions: a. Ac_2O , pyridine; b. $t\text{-BuONO}$, TMSBr; c. H_2 , Pd-C; d. NH_3 , MeOH/EtOH; e. $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{ONO}$, THF or $t\text{-BuONO}$, DMF; f. Ni-Raney

1.2. 8-AZAADENOZYNA

W strategiach syntezy 8-azaadenozyny **11** i jej pochodnych polegających na utworzeniu wiązania glikozydowego substratem jest 8-azaadenina **1**, którą można przykładowo otrzymać z 4,6-diamino-2-merkaptopirymidyny w trójetapowym procesie obejmującym nitrozowanie przy C5, redukcję grup nitrozowej i tiolowej oraz utworzenie pierścienia 1,2,3-triazolowego (Schemat 3) [11].

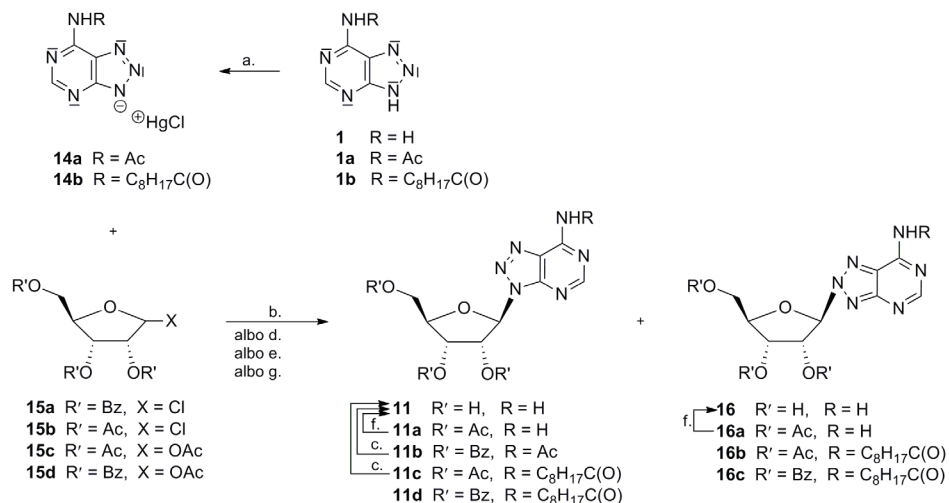


Schemat 3. Synteza 8-azaadeniny **1**; odczynniki i warunki: a. NaNO_2 , H^+ ; b. Ni-Raney; c. NaNO_2 , AcOH

Scheme 3. Synthesis of 8-azaadenine **1**; reagents and conditions: a. NaNO_2 , H^+ ; b. Ni-Raney; c. NaNO_2 , AcOH

W pierwszej syntezie związku **11** wykorzystano kondensację soli chlorortęciowej *N*-acetylo-8-azaadeniny **14a** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozylu **15a** wyodrębniając końcowy produkt po usunięciu grup ochronnych z **11b**

z niską (16%) wydajnością (Schemat 4) [11]. Modyfikacje substratów polegające na użyciu soli rtęciowej *N*-nonanoilo-8-azaadeniny **14b** i chlorku 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozylu **15b** doprowadziły do utworzenia, jako produktu głównego, izomeru podstawionego przy atomie N8 (związek **16b**) ponownie z niską (13%) wydajnością (Schemat 4) [12]. Dopiero w reakcji *N*-nonanoilo-8-azaadeniny **1b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozylu **15b** prowadzonej w obecności sit molekularnych we wrzącym benzenie udało się otrzymać 8-azaadenozynę **11**, którą wyodrębniono z wydajnością 48% po usunięciu grup ochronnych stwierdzając jednocześnie, że w tych warunkach utworzył się tylko jeden regioizomer (Schemat 4) [12]. W katalizowanej chlorkiem cyny(IV) reakcji 8-azaadeniny **1** z 1,2,3,5-tetra-*O*-acetylo- β -*D*-rybofuranozą **15c** powstała mieszanina produktów glikozylowania przy N9 (**11a**) i N8 (**16a**) o składzie 3:4, gdy reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej i o składzie 4:3 – gdy w temperaturze wrzenia. Monitorowanie przebiegu glikozylowania pozwoliło ustalić, że reakcja przy N8 przebiega szybciej (kontrola kinetyczna), zaś bardziej stabilny produkt podstawienia przy N9 tworzy się wraz z postępem reakcji (kontrola termodynamiczna). Po chromatograficznym rozdzielaniu regioizomerów i usunięciu grup ochronnych otrzymano 8-azaadenozynę **11** i jej regioizomer **16** z dobrymi wydajnościami (Schemat 4) [13]. Natomiast reakcja związku **1b** z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- β -*D*-rybofuranozylu **15d** prowadzona w warunkach Vorbrüggena wspomagana promieniowaniem mikrofalowym doprowadziła do powstania mieszaniny trzech regioizomerów, w której przeważał produkt glikozylowania przy N8 (**16c**), a regioizomeryczne produkty podstawienia przy N9 (**11d**) i N7 utworzyły się w jednakowych, ale niewielkich ilościach [14].

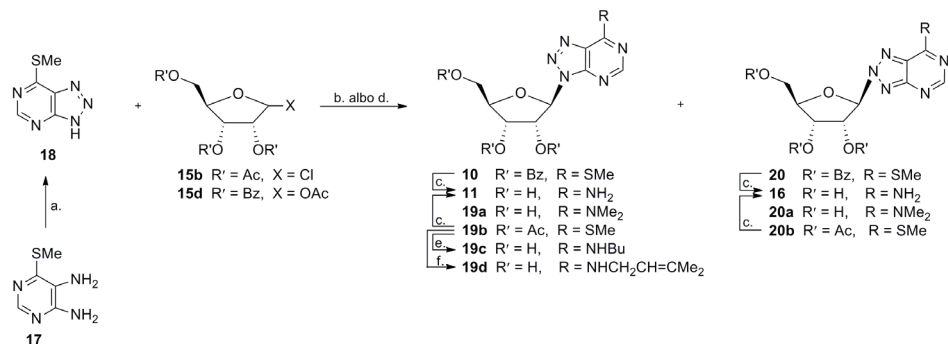


Schemat 4. Synteza 8-azaadenozyny **11** i jej regioizomeru **16**; odczynniki i warunki: a. HgCl₂; b. temp. pok.; c. MeONa, MeOH; d. sita molekularne, 80°C; e. SnCl₄, MeCN; f. NH₃, H₂O; g. BSA, TMSOTf, MW

Scheme 4. Synthesis of 8-azaadenosine **11** and its regioisomer **16**; reagents and conditions: a. HgCl₂; b. r.t.; c. MeONa, MeOH; d. molecular sieves, 80°C; e. SnCl₄, MeCN; f. NH₃, H₂O; g. BSA, TMSOTf, MW

Dogodnym substratem w syntezie 8-azaadenozyny **11**, ale także jej pochodnych podstawionych przy C6 jest 8-aza-6-metylotiopuryna **18**, którą łatwo pozyskuje się z 4,5-diamino-6-metylotiopirymidyny **17** [15]. W katalizowanej kwasami reakcji 8-azapuryny **18** z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozylu **15d** powstały produkty glikozylowania przy N9 (**10**) i N8 (**20**) w proporcji 2:1, które rozdzielono chromatograficznie, a następnie przekształcono z dobrymi wydajnościami w odpowiednio: 8-azaadenozynę **11** i jej regioizomer **16** wykorzystując amoniak do usunięcia grup ochronnych a jednocześnie do wprowadzenia grupy aminowej na C6 (Schemat 5) [7]. Zamiana amoniaku na dimetyloaminę prowadzi do powstania pochodnych **19a** i **20a**. W innej syntezie związku **19a** wykorzystano 6-dimetyloamino-2-metylotio-8-azapurynę jako materiał wyjściowy [16].

Gdy 8-aza-6-metylotiopurynę **18** poddano reakcji z chlorkiem rybofuranozylu **15b** w obecności sit molekularnych w temperaturze 80°C, utworzyła się mieszanina produktów podstawienia przy N9 (**19b**) i przy N8 (**20b**) w proporcji również 2:1 (Schemat 5) [17]. W wyniku ogrzewania tej mieszaniny w temperaturze 111°C w obecności sit molekularnych zwiększyła się ilość izomeru **19b** (trwalszy termodynamicznie) kosztem izomeru **20b** (produkt kontroli kinetycznej) osiągając w stanie równowagi stosunek 6:1 [18]. Związki **19b** i **20b** przekształcono w 8-azaadenozynę **11** i jej regioizomer **16** działaniem amoniaku. *N*-Alkilowe pochodne 8-azaadenozyny **19c** i **19d** powstały w reakcji wymiany grupy metylotiolowej przy C6 z wybranymi aminami (Schemat 5) [17].

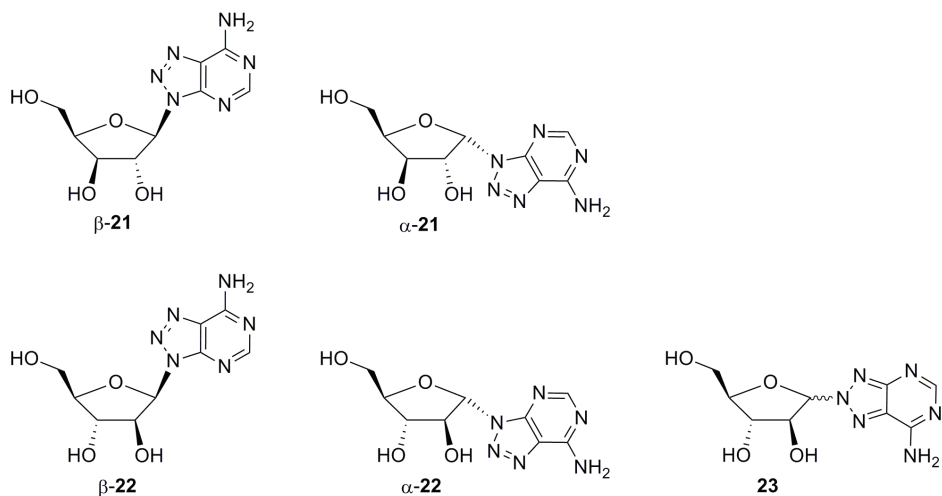


Schemat 5. Synteza 8-azaadenozyny **11** i jej regioizomeru **16** z 8-aza-6-metylotiopuryny **18**; odczynniki i warunki: a. NaNO₂, H⁺; b. H⁺, 190°C; c. NH₃, MeOH; d. sita molekularne, 80°C; e. BuNH₂, MeOH; f. Me₂C=CHCH₂NH₂, MeOH

Scheme 5. Synthesis of 8-azaadenosine **11** and its regioisomer **16** from 8-aza-6-methylthiopurine **18**; reagents and conditions: a. NaNO₂, H⁺; b. H⁺, 190°C; c. NH₃, MeOH; d. molecular sieves, 80°C; e. BuNH₂, MeOH; f. Me₂C=CHCH₂NH₂, MeOH

Inspiracją do zainteresowania się syntezą strukturalnych analogów 8-azaadenozyny zawierających reszty cukrowe o konfiguracjach arabinozy i ksylozy była udokumentowana aktywność biologiczna 9-(β-*D*-arabinozurylo)adeniny (Widarabina, ara-A). Analog β-**21** (Rys. 2) zawierający szkielet 8-azapuryny otrzymano z wydajnością 63% z ochronionej 8-azaadeniny **1b** w reakcji z chlorkiem

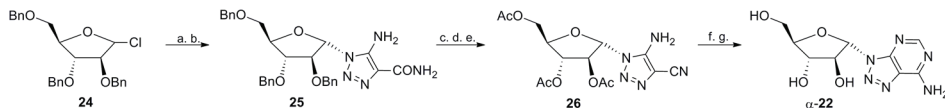
2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-ksylofuranozylu w obecności sit molekularnych [19]. Natomiast związek α -**22** powstał, jako jedyny produkt, w analogicznej reakcji **1b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-arabinofuranozylu [19], a także ze związku **18** w reakcji z bromkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-arabinofuranozylu w takich samych warunkach [20]. Użycie chlorku 2,3,5-tri-*O*-benzylo-*D*-arabinofuranozylu w reakcji z **1b** doprowadziło, po usunięciu grup ochronnych, do powstania mieszaniny anomerów α -**22** i β -**22** (Rys. 2) [19]. Natomiast z mieszaniny poreakcyjnej otrzymanej w wyniku ogrzewania silylowej pochodnej 8-aza-6-metylotiopuryny **18** i chlorku 2,3,5-tri-*O*-benzylo-*D*-arabinofuranozylu **24** wyodrębniono dwa produkty podstawienia przy N9 (związki α -**22** i β -**22**) oraz związek **23**, również jako mieszaninę anomerów α i β (Rys. 2) [21].



Rysunek 2. Analogi 8-azaadenozyny zawierające pierścienie arabino- i ksylofuranozydowe
 Figure 2. Analogues of 8-azaadenosine with arabino- and xylofuranoside rings

Alternatywna metoda konstruowania układu 8-azapuryn polega na zamknięciu pierścienia pirymidynowego skondensowanego z odpowiednio podstawionym 1,2,3-triazolem. W tej metodzie może tworzyć się jedynie pochodna 8-azapuryny zawierająca ugrupowanie cukrowe przy N9. Przykładem takiego podejścia jest synteza związku α -**22** wychodząc z chlorku 2,3,5-tri-*O*-benzylo-*D*-arabinofuranozylu **24** (Schemat 6) [21, 22] oraz synteza 8-azaadenozyny **11** wykorzystująca ochroniony azydek β -*D*-rybofuranozylu [23]. W reakcji chlorku furanozylu **24** z azydkiem sodu tworzy się mieszanina anomerycznych azydków (α : β = 1:3), które rozdzielono chromatograficznie, a następnie poddano reakcji z 2-cyanoacetamidem otrzymując z azydku o konfiguracji α czysty związek **25**, zaś z azydku o konfiguracji β związek **25** z domieszką anomeru β (10:1). Ustalono, że na tym etapie najdogodniej jest zmienić grupy ochronne. Po dehydratacji funkcji karbamoilowej powstaje nityryl **26**, który został przekształcony w analog 8-azaadenozyny α -**22** w znany sposób

[24]. Jeżeli zamiast octanu dietoksymetylu [21] albo mrówczanu etylu [23] zostanie użyty mieszany bezwodnik mrówkowo-octowy otrzymany z mrówczanu sodu znakowanego izotopem ^{14}C , to można zsyntetyzować [2- ^{14}C]-8-azaadenozynę **11** [25] i [2- ^{14}C]- α -22 [26].

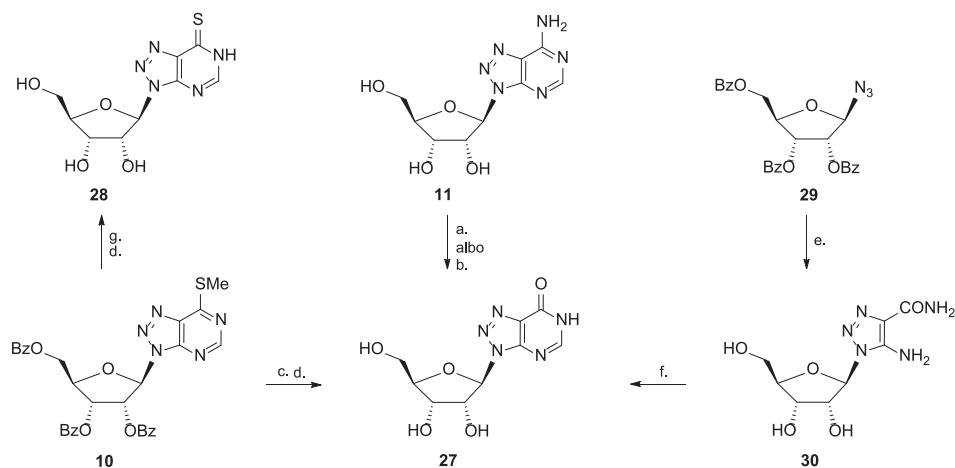


Schemat 6. Synteza 8-azaadenozyn **11** i α -22 z azydów furanozylu; odczynniki i warunki: a. NaN_3 , MeCN; b. $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$, KOH; c. Na, NH_3 ciekły; d. Ac_2O , pirydyna; e. TsCl, pirydyna; f. $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$, Δ ; g. NH_3 , MeOH

Scheme 6. Synthesis of 8-azaadenosines **11** and α -22 from furanosyl azides; reagents and conditions: a. NaN_3 , MeCN; b. $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$, KOH; c. Na, liquid NH_3 ; d. Ac_2O , pyridine; e. TsCl, pyridine; f. $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$, Δ ; g. NH_3 , MeOH

1.3. 8-AZAINOZYNA I 8-AZATIOINOZYNA

8-Azainozynę **27** można najprościej otrzymać na drodze zamiany grupy aminowej w 8-azaadenozynie **11** na hydroksylową. Taki proces w komórkach odbywa się w obecności deaminazy adenozynej, ale wykazano, że 8-azaadenozyna **11** może być również substratem tej reakcji [9, 25]. Ten sam wynik można osiągnąć poprzez rozpad soli diazoniowej 8-azaadenozyny **11** (Schemat 7) [11]. Opisano metodę syntezy 8-azainozyny **27** ze związku **10** [7]. O ile analog 8-azaadenozyny zawierający pierścień furanozydowy o konfiguracji ksylozy (związek β -21) można w podobnych warunkach przekształcić w odpowiednią pochodną 8-azainozyny, to nie udało się tego dokonać ze związkiem β -22, z powodu rozpadu wiązania glikozydowego w środowisku reakcji [19]. Związek **10** okazał się także dogodnym substratem w syntezie 8-azatioinozyny **28** (Schemat 7) [7, 17].

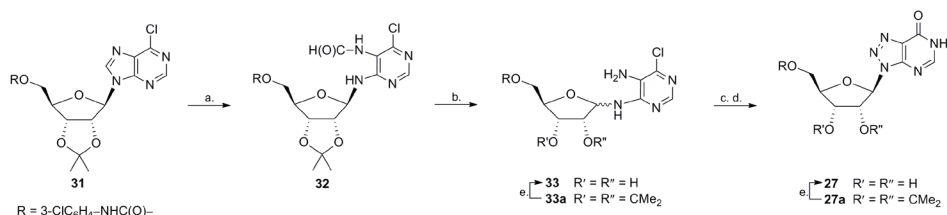


Schemat 7. Synteza 8-azainozyny **27** i 8-azathiiosyny **28**; odczynniki i warunki: a. NaNO_2 , H^+ , Δ ; b. deaminaza adenozy; c. 30% H_2O_2 , AcOH ; d. MeONa , MeOH ; e. $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$, KOH ; f. $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$; g. H_2S , MeONa , EtOH

Scheme 7. Synthesis of 8-azainosine **27** and 8-azathiiosine **28**; reagents and conditions: a. NaNO_2 , H^+ , Δ ; b. adenosine deaminase; c. 30% H_2O_2 , AcOH ; d. MeONa , MeOH ; e. $\text{NCCH}_2\text{CONH}_2$, KOH ; f. $(\text{EtO})_2\text{CHOAc}$; g. H_2S , MeONa , EtOH

Sekwencję reakcji przedstawioną na Schemacie 6 można również wykorzystać w syntezie 8-azainozyny **27** i jej pochodnych, o ile zostanie pominięty etap dehydratacji amidu. Przykładowo azydek 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- β -*D*-rybofuranozylu **29** został przekształcany w pochodną 1,2,3-triazolu **30**, z której powstała 8-azainozyna **27** (Schemat 7) [7, 27]. W podobny sposób otrzymano również pochodne 8-azainozyny o konfiguracji arabinozy [21].

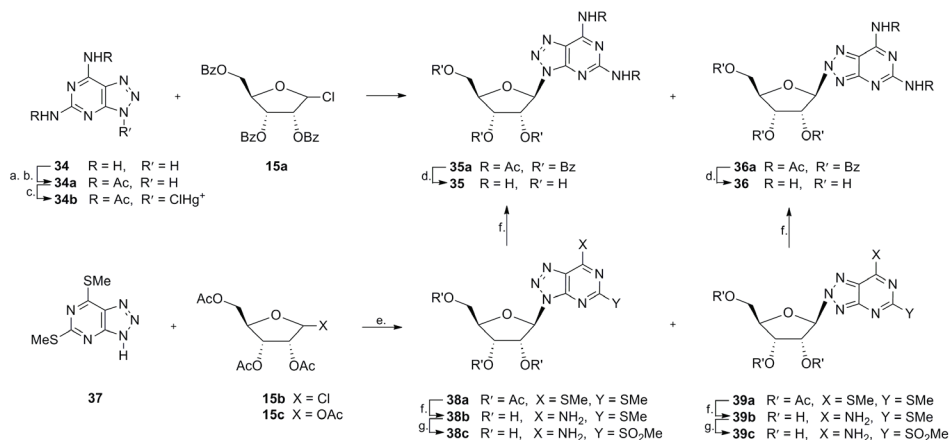
Przy odpowiednim sężeniu zasady można dokonać selektywnego otwarcia pierścienia imidazolowego w nukleozydach purynowych, a najlepiej proces ten przebiega dla układów zawierających 6-chloropurynę. Odpowiednio ochroniony rybofuranozyd **31** w środowisku zasadowym daje produkt otwarcia **32**, który w obecności kwasu przechodzi w dwuaminy **33** tworzące się jako mieszaniny α i β anomerów (Schemat 8) [28]. 8-Azainozynę **27** i jej anomer α otrzymuje się w znany sposób. Warto dodać, że aby zachować pierścień pięcioczłonowy, konieczna jest ochrona grupy HO-C5', ponieważ w przeciwnym przypadku następowała cyklizacja do układu piranozyłowego.



Schemat 8. Synteza 8-azainozyny **27** z β -D-rybofuranozydu 9-chloropuryny; odczynniki i warunki: a. 1M NaOH, dioksan; b. HCl, MeOH, Δ ; c. NaNO₂, AcOH; d. MeONa. MeOH; e. H₂O, H⁺

Scheme 8. Synthesis of 8-azinosine **27** from 9-chloropurine β -D-ribofuranoside; reagents and conditions: a. 1M NaOH, dioxane; b. HCl, MeOH, Δ ; c. NaNO₂, AcOH; d. MeONa. MeOH; e. H₂O, H⁺

1.4. 2-AMINO-8-AZAADENOZYNA



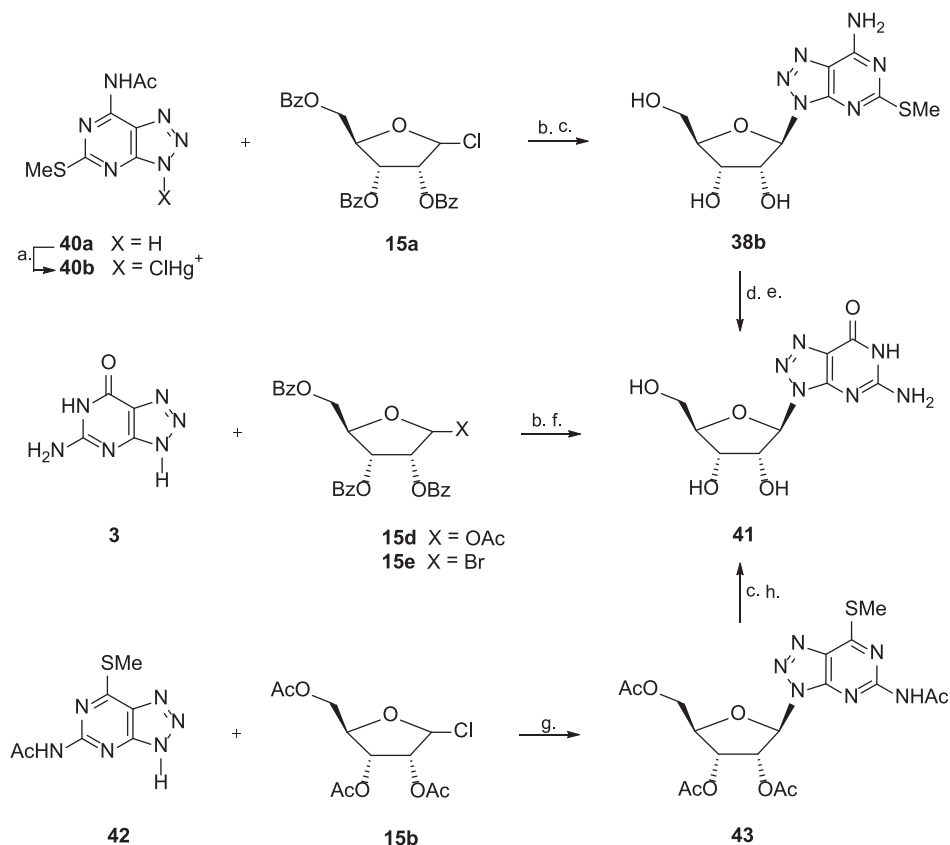
Schemat 9. Synteza 2-amino-8-azaadenozyn **35** i **36**; odczynniki i warunki: a. Ac₂O, Δ ; b. H₂O, EtOCH₂CH₂OH, Δ ; c. HgCl₂; d. MeONa, MeOH; e. sito molekularne, toluen, Δ ; f. NH₃, EtOH; g. MCPBA

Scheme 9. Synthesis of 2-amino-8-azaadenosines **35** and **36**; reagents and conditions: a. Ac₂O, Δ ; b. H₂O, EtOCH₂CH₂OH, Δ ; c. HgCl₂; d. MeONa, MeOH; e. molecular sieve, toluene, Δ ; f. NH₃, EtOH; g. MCPBA

Reakcja soli chlorortęciowej ochronionej 2,6-diamino-8-azapuryny **34b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-D-rybofuranozyłu **15a** prowadzi, po usunięciu grup ochronnych, do utworzenia modyfikowanych nukleozydów (**35** albo **36**), jednakże nie udało się jednoznacznie udowodnić, czy powstał produkt podstawienia przy N9, czy przy N8 (Schemat 9) [11]. Glikozyłowanie 8-aza-2,6-di(metylotio)puryny **37** chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-acetylo-D-rybofuranozyłu **15b** w obecności sit molekularnych doprowadziło do utworzenia mieszaniny produktów podstawienia przy N9 (**38a**) i N8 (**39a**) powstających w stosunku 6–8:1, z których działaniem amoniaku otrzymano pochodne 8-azaadenozyny **38b** i **39b** podstawione przy C2. Efektywne wprowadzenie grupy aminowej na C2 w **38b** i **39b** wymagało wcześniejszego utlenienia do mesylanów (odpowiednio **38c** i **39c**), a następnie reakcji z amoniakiem

(Schemat 9) [29]. Wydzielenie regioizomeru **36** stało się łatwiejsze, gdy okazało się, że glikozylowanie azapuryny **37** za pomocą 1,2,3,5-tetra-*O*-acetylo-D-rybofuranozy **15c** prowadzi do powstania mieszaniny związków **38a** i **39a** w proporcji 3:2 [29].

1.5. 8-AZAGUANOZYNA



Schemat 10. Synteza 8-azaguanidyny **41**; odczynniki i warunki: a. HgCl₂; b. temp. pok.; c. MeONa, MeOH; d. NaNO₂, H⁺, e. NH₃, EtOH, Δ; f. NH₃, MeOH; g. sito molekularne, ClCH₂CH₂Cl, Δ; h. 30% H₂O₂, AcOH

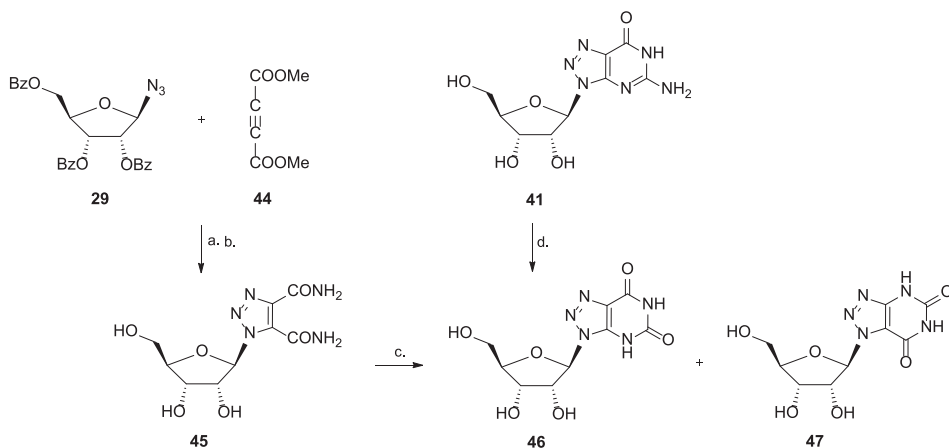
Scheme 10. Synthesis of 8-azaguanidine **41**; reagents and conditions: a. HgCl₂; b. r.t.; c. MeONa, MeOH; d. NaNO₂, H⁺, e. NH₃, EtOH, Δ; f. NH₃, MeOH; g. molecular sieve, ClCH₂CH₂Cl, Δ; h. 30% H₂O₂, AcOH

W pierwszej chemicznej syntezie 8-azaguanozyny **41** sól chlorortęciową **40b** poddano kondensacji z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-D-rybofuranozylu **15a** otrzymując modyfikowany nukleozyd **38b** i jego niezidentyfikowany (N7/N8) regioizomer (Schemat 10) [11]. W wyniku deaminowania związku **38b**, a następnie nukleofilowego podstawienia z udziałem amoniaku utworzył się oczekiwany pro-

dukt **41**. W reakcji sililowej pochodnej 8-azaguaniny z bromkiem 2,3,5-tri-*O*-benzylilo-*D*-rybofuranozylu **15e** otrzymano, po amonolizie grup ochronnych, 8-azaguanozynę **41** z zadowalającą (35%) wydajnością. Związek ten utworzył się jako jedyny produkt reakcji azapuryny **3** z octanem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- β -*D*-rybofuranozylu **15d** w warunkach reakcji Vorbrüggena wspomaganej promieniowaniem mikrofalowym, choć ostatecznie związek **41** został wyodrębniony z wydajnością 12% [14]. Glikozyłowanie pochodnej 8-azapuryny **42** za pomocą chlorku 2,3,5-tri-*O*-acetylo-*D*-rybofuranozylu **15b** w obecności sit molekularnych doprowadziło do powstania mieszaniny produktów podstawienia przy N9 (**43**), N8 i N7, które po częściowym rozdzielaniu udało się przekształcić w 8-azaguanozynę **41** i jej regioizomery, aczkolwiek z niskimi ogólnymi wydajnościami (Schemat 10) [30].

1.6. 8-AZAKSANTOZYNA

8-Azaksantozynę **46** najprościej otrzymuje się w wyniku deaminowania 8-azaguanozyny **41** (Schemat 11) [7, 11], ale można ją uzyskać także wraz z regioizomerem **47** wykorzystując 1,3-dipolarną cykloaddycję (reakcja Huisgena) azydku 2,3,5-tri-*O*-benzoilo- β -*D*-ribofuranozylu **29** i acetylenodikarboksylanu metylu **44**. Produkt cykloaddycji przekształcono w dwuamid **45**, z którego w warunkach przegrupowania Hoffmanna powstały związki **46** i **47** [31]. Jednocześnie wykazano, że wcześniej niezidentyfikowany produkt kondensacji soli chlorortęciowej **40b** z chlorkiem 2,3,5-tri-*O*-benzoilo-*D*-rybofuranozylu **15a** [10] był produktem glikozyłowania przy N7.

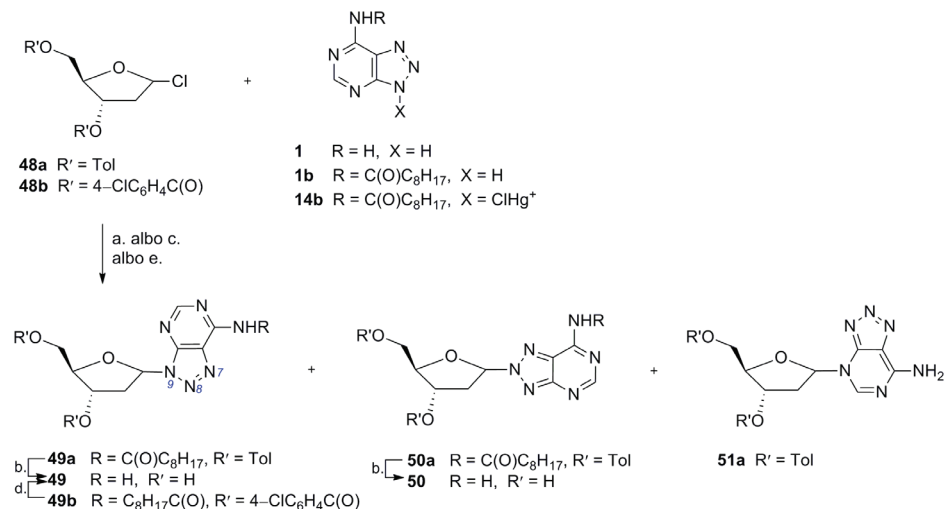


Schemat 11. Synteza 8-azaksantozyn **46** i **47**; odczynniki i warunki: a. benzen, 80°C; b. NH₃, MeOH; c. KBrO₃; d. Ba(NO₃)₂, AcOH

Scheme 11. Synthesis of 8-azaxanthosines **46** i **47**; reagents and conditions: a. benzene, 80°C; b. NH₃, MeOH; c. KBrO₃; d. Ba(NO₃)₂, AcOH

2. NUKLEOZYDY 8-AZA-2'-DEOKSPURYNOWE

2.1. 8-AZA-2'-DEOKSYADENOZYNA



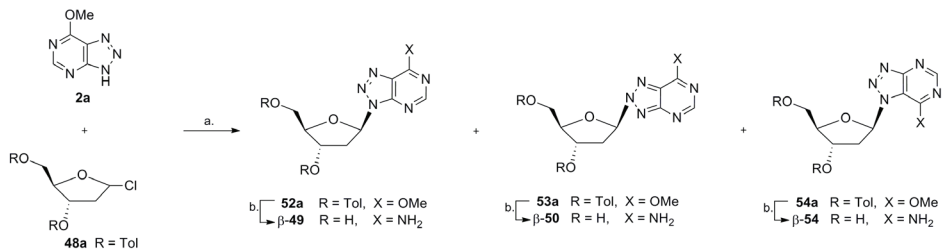
Schemat 12. Synteza 8-aza-2'-deoksyadenozyny **49** i jej regioizomerów; odczynniki i warunki: a. DBU, MeCN; b. NH_3 , EtOH; c. NEt_3 , benzen, Δ ; d. NH_3 , MeOH; e. K_2CO_3 , TDA-1, DMF

Scheme 12. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyadenosine **49** and its regioisomers; reagents and conditions: a. DBU, MeCN; b. NH_3 , EtOH; c. NEt_3 , benzene, Δ ; d. NH_3 , MeOH; e. K_2CO_3 , TDA-1, DMF

Glikozylowanie 8-azaadeniny **1** i jej *N*-podstawionych pochodnych za pomocą ochronionych 2'-deoksyfuranoz jest procesem znacznie bardziej złożonym w porównaniu do analogicznych reakcji z furanozami, ponieważ obok produktów podstawienia przy N9 i N8, powstawać mogą także pochodne podstawione przy innych atomach azotu, wszystkie jako mieszaniny α i β anomerów. Pierwsza synteza 8-aza-2'-deoksyadenozyny β -**49** polegająca na kondensacji soli chlorortęciowej ochronionej 8-azaadeniny **14b** z 2'-deoksyfuranozą **48a** [32] została uproszczona, gdy reakcją pomiędzy związkami **14b** i **48a** prowadzono generując anion za pomocą DBU (Schemat 12) [33]. Wprawdzie w jej wyniku utworzyła się mieszanina czterech związków (α - i β -**49a** oraz α - i β -**50a**), to końcowe produkty wydzielono chromatograficznie z akceptowalnymi wydajnościami. We wcześniejszej syntezie poddano kondensacji ochronioną 8-azaadeninę **1b** z 2'-deoksyfuranozą **48b** w obecności trietyloaminy we wrzącym benzenie i wyodrębniono tylko mieszaninę α i β anomerów podstawionych przy N9 (związki **49b**), którą rozdzielono chromatograficznie i po usunięciu grup ochronnych otrzymano czyste 8-aza-2'-deoksyadenozyny α -**49** i β -**49** (Schemat 12) [19]. Wśród produktów glikozylowania 8-azaadeniny **1** za pomocą 2'-deoksyfuranozy **48a** prowadzonego w obecności węglanu potasu i TDA-1 w DMF w temperaturze pokojowej zidentyfikowano związki α - i β -**49a**,

α - i β -**50a** oraz niewielkie ilości nieoczekiwanych produktów podstawienia przy N3, związki α - i β -**51a**, które rozdzielono chromatograficznie (Schemat 12) [34].

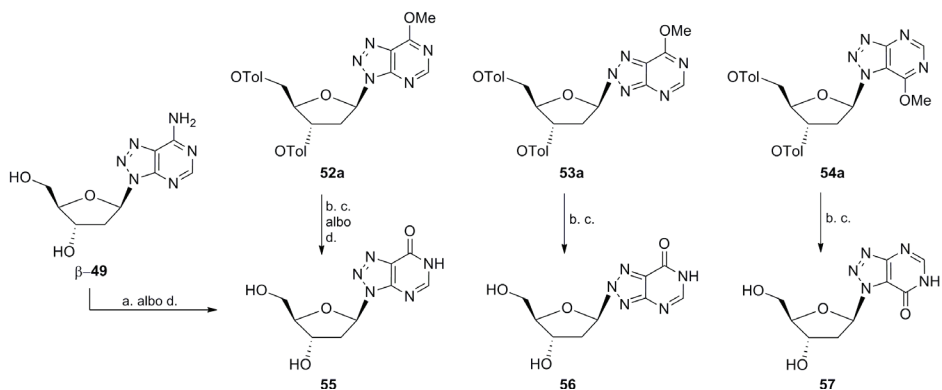
W poszukiwaniu warunków glikozylowania, w których powstawałyby mniej izomerów, zbadano przebieg reakcji 8-aza-6-metoksyperyony **2a** z 2'-deoksyfuranozą **48a** i ustalono, że tworzą się produkty podstawienia przy N9, N8 i N7 w proporcji 3:4:3, ale są to tylko anomery β , związki odpowiednio: **52a**, **53a** i **54a**. W obecności amoniaku usunięto grupy ochronne i jednocześnie wprowadzono do pierścienia grupę aminową uzyskując z dobrymi wydajnościami związki β -**49**, β -**50** i β -**54** (Schemat 13) [34].



Schemat 13. Synteza 8-aza-2'-deoksyadenozyny **49** i jej regioizomerów z 8-aza-6-metoksyperyony; odczynniki i warunki: a. NaH, MeCN; b. NH₃, MeOH

Scheme 13. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyadenosine **49** and its regioisomers from 8-aza-6-methoxypurine; reagents and conditions: a. NaH, MeCN; b. NH₃, MeOH

2.2. 8-AZA-2'-DEOKSYINOZYNA



Schemat 14. Synteza 8-aza-2'-deoksyinozyny **55** i jej regioizomerów **56** i **57**; odczynniki i warunki: a. NaNO₂, AcOH; b. MeONa, MeOH; c. NaOH; d. deaminaza adenyzy

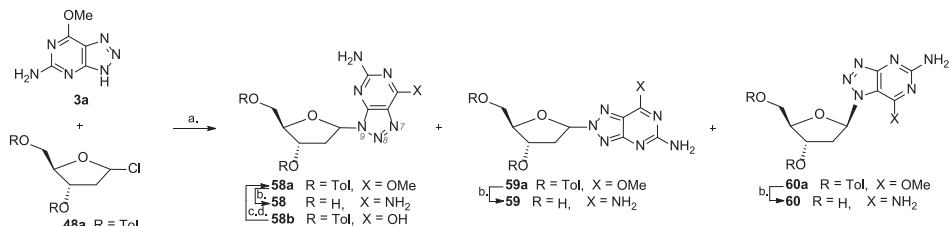
Scheme 14. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyinosine **55** and its regioisomers **56** and **57**; reagents and conditions: a. NaNO₂, AcOH; b. MeONa, MeOH; c. NaOH; d. adenosine deaminase

8-Aza-2'-deoksyinozynę **55** zsyntetyzowano w wyniku deaminowania 8-aza-2'-deoksyadenozyny β -**49** (Schemat 14) [19]. W podobnych warunkach z α -**49**

otrzymano 8-aza-2'-deoksyinozynę o konfiguracji α . Produkty glikozyłowania 8-aza-6-metoksyperyury 52a, 53a i 54a można w dwóch etapach przekształcić z dobrymi wydajnościami w odpowiednio: 8-aza-2'-deoksyinozynę 55 i związki 56 i 57 – regioizomery przy N8 i N7 (Schemat 14) [35]. Znane są metody syntezy 8-aza-2'-deoksyinozyny 55 w wyniku działania deaminazy adenozynej na 8-aza-2'-deoksyadenozyne β -49 [36], ale także na związek 52a [35].

2.3. 2-AMINO-8-AZA-2'-DEOKSYADENOZYNA

W reakcji 2-amino-8-aza-6-metoksyperyury 3a z 2'-deoksyfuranozą 48a (Schemat 15) utworzyła się mieszanina produktów podstawienia przy N9 (α - i β -58a), N8 (α - i β -59a) i przy N7 (60a) w proporcji 2:2:1, a w mieszaninach anomerów przeważały izomery o konfiguracji β (ca 4:1) [37]. Główne produkty glikozyłowania β -58a, β -59a i 60a poddano amonolizie wydzielając odpowiednio 2-amino-8-aza 2'-deoksyadenozyne β -58 oraz jej analogi strukturalne β -59 i 60. Zastąpienie grupy aminowej przy C6 przez grupę hydroksylową jest często wykorzystywanym przekształceniem niezależnie od tego, czy jest to realizowane na drodze chemicznej czy enzymatycznej. Interesująca jest zatem, możliwość wykonania procesu odwrotnego, którą ilustruje alternatywna metoda syntezy 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozynej β -58. Z pochodnej 58b 8-aza-2'-deoksyguanozyny w dwóch etapach powstał znany związek β -58a, prekursor β -58 [38].



Schemat 15. Synteza 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozynej β -58 oraz jej regioizomerów β -59 i 60; odczynniki i warunki: a. KOH, TDA-1. MeCN; b. NH₃, MeOH; c. (CF₃CO)₂O, pirydyna; d. MeONa, MeOH

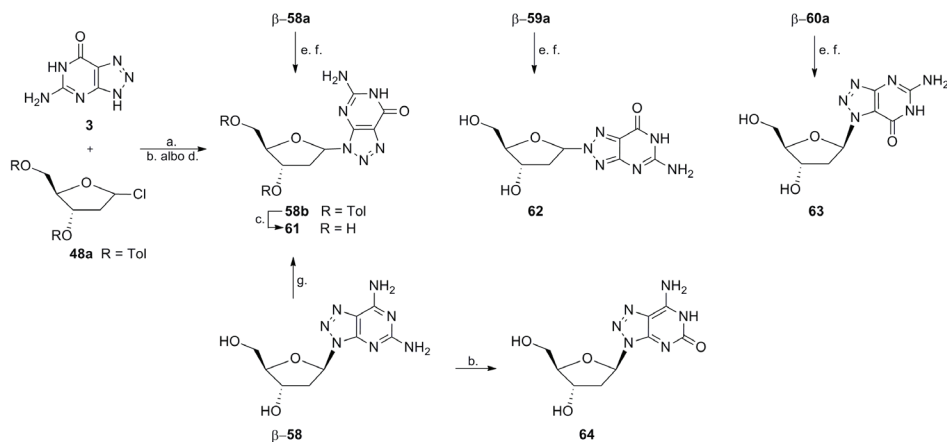
Scheme 15. Synthesis of 2-amino-8-aza-2'-deoxyadenosine β -58 and its regioisomers β -59 and 60; reagents and conditions: a. KOH, TDA-1. MeCN; b. NH₃, MeOH; c. (CF₃CO)₂O, pyridine; d. MeONa, MeOH

2.4. 8-AZA-2'-DEOKSYGUANOZOZYNA I 8-AZA-2'-DEOKSYIZOGUANOZOZYNA

W wyniku ogrzewania sililowej pochodnej 8-azaguaniny 3 z 2'-deoksyfuranozą 48a powstała mieszanina anomerów α i β produktów podstawienia przy N9, związki α - i β -58b (Schemat 16), z których po usunięciu grup ochronnych uzyskano 8-aza-2'-deoksyguanozyne β -61 i jej anomer α -61 [7]. W zoptymalizowanej wersji tej syntezy [39] ustalono, że anomery α -58b i β -58b powstają w jednakowych ilościach.

Ponadto wykazano, że nie tworzą się produkty podstawienia przy N7 i N8, ponieważ glikozylowanie przebiega w warunkach kontroli termodynamicznej. Alternatywnym substratem w syntezie 8-aza-2'-deoksyguanozyny β -**61** jest związek β -**58a** (Schemat 15); w podobny sposób można otrzymać jej izomery podstawione przy N8 (**62**) i N7 (**63**) [37]. 8-Aza-2'-deoksyguanozyna β -**61** powstaje z doskonałą wydajnością ze związku β -**58** w obecności deaminazy adenozyzny (Schemat 16), podczas gdy izomery β -**59** i **60** nie są substratami dla tego enzymu [37].

8-Aza-2'-deoksyizoguanozynę **64** uzyskano w wyniku selektywnego deaminowania 2-amino-8-aza-2'-deoksyadenozyny β -**58** (Schemat 16) [38].



Schemat 16. Synteza 8-aza-2'-deoksyguanozyn **61**, **62** i **63** oraz 8-aza-2'-deoksyizoguanozyny **64**; odczynniki i warunki: a. HMDS; b. 100°C; c. NH_3 , MeOH; d. 130°C; e. MeONa, MeOH; f. NaOH; g. deaminaza adenozyzny; h. NaNO_2 , AcOH

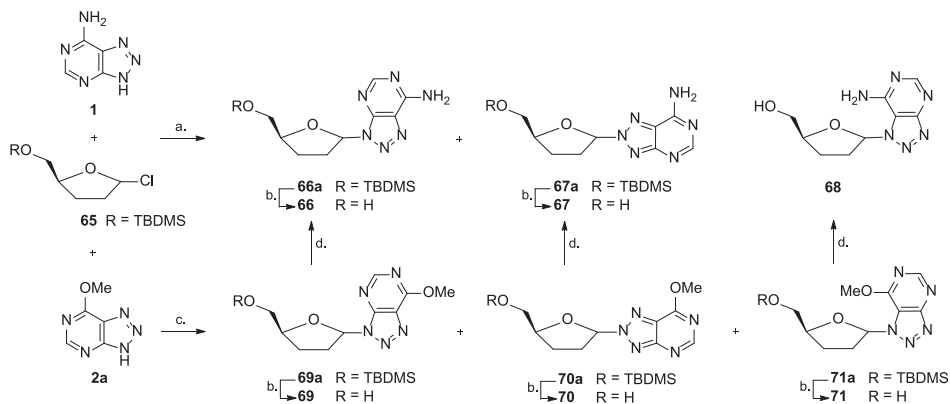
Scheme 16. Synthesis of 8-aza-2'-deoxyguanosines **61**, **62** and **63** as well as 8-aza-2'-deoxyisoguanosine **64**; reagents and conditions: a. HMDS; b. 100°C; c. NH_3 , MeOH; d. 130°C; e. MeONa, MeOH; f. NaOH; g. adenosine deaminase; h. NaNO_2 , AcOH

3. NUKLEOZYDY 8-AZA-2',3'-DIDEOKSPURYNOWE

3.1. 8-AZA-2',3'-DIDEOKSYADENOZYNA

Analogi 8-azapurynowe nukleozydów zawierających fragment 2',3'-dideoksyfuranozy zostały otrzymane w wyniku glikozylowania z udziałem chronionego chlorku furanozylu **65**. W reakcji z 8-azaadeniną **1** utworzyły się produkty podstawienia przy N9 i N8 jako mieszaniny α i β anomerów, odpowiednio związki α -**66a** i β -**66a** oraz α -**67a** i β -**67a**, z których po chromatografii i desylilowaniu wydzielono czyste izomery α -**66**, β -**66**, α -**67** i β -**67** (Schemat 17) [40]. Alternatywną, choć mniej dogodną metodą, jest glikozylowanie 8-aza-6-metoksyperyony **2a**. W jego wyniku utworzyła się mieszanina (1:1:1) produktów podstawienia przy N9, N8 i N7, przy czym

w każdym przypadku była to mieszanina (1:1) anomerów α i β , którą udało się rozdzielić chromatograficznie na poszczególne składniki (Schemat 17). Po usunięciu grupy ochronnej i reakcji z amoniakiem otrzymano sześć izomerycznych 8-aza-2',3'-dideoksyadenozyn α - i β -**66**, α - i β -**67** oraz α - i β -**68** (Schemat 17) [40].

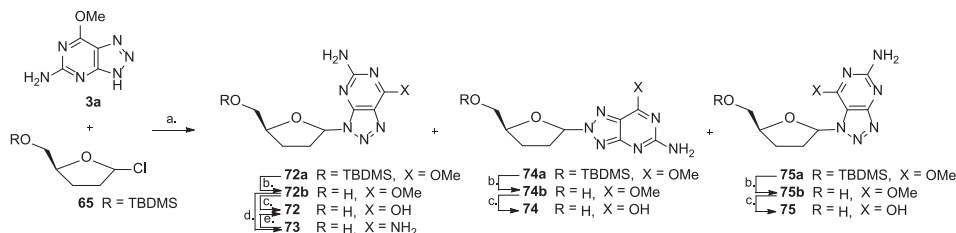


Schemat 17. Synteza 8-aza-2',3'-dideoksyadenozyn α - i β -**66** oraz ich regioizomerów α - i β -**67** i α - i β -**68**; odczynniki i warunki: a. K_2CO_3 , TDA-1, DMF, 20°C; b. Bu_4NF , THF; c. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; d. NH_3 , MeOH

Scheme 17. Synthesis of 8-aza-2',3'-dideoxyadenosines α - and β -**66** as well as their regioisomers α - and β -**67** and α - and β -**68**; reagents and conditions: a. K_2CO_3 , TDA-1, DMF, 20°C; b. Bu_4NF , THF; c. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; d. NH_3 , MeOH

3.2. 8-AZA-2',3'-DIDEOKSYGUANOZYNA

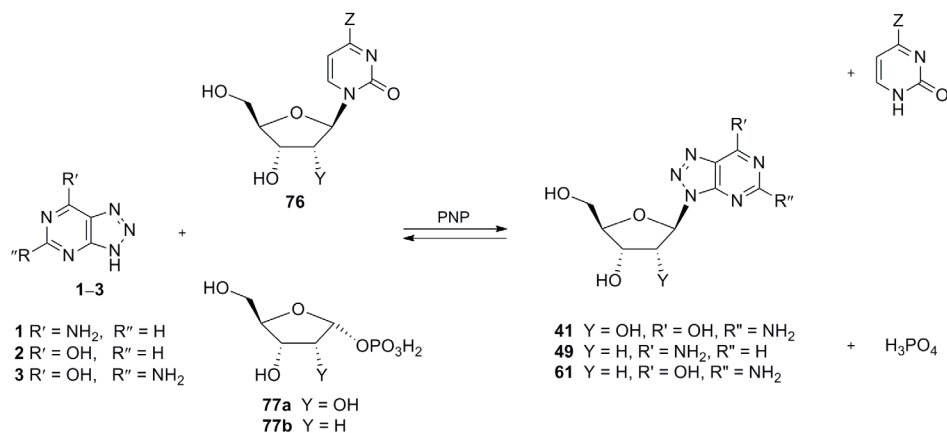
Podobnie jak podczas glikozylowania 8-aza-6-metoksyperyony **2a** za pomocą ochronionego chlorku furanozyli **65** (Schemat 17) w reakcji prowadzonej w identycznych warunkach z 2-amino-8-aza-6-metoksyperyoną **3a** tworzy się mieszanina produktów podstawienia przy N9, N8 i N7, tym razem w proporcji 2:2:1 i tak, jak było to poprzednio, są to mieszaniny anomerów α i β , które rozdzielono chromatograficznie. Po usunięciu ochrony sililowej i ostatecznym oczyszczeniu wydzielono 6 związków, które przekształcono w izomeryczne 8-aza-2',3'-dideoksyguanozyny α - i β -**72**, α - i β -**74** oraz α - i β -**75** (Schemat 18) [41]. Amonoliza pochodnej β -**72b** prowadzi do powstania analogu β -**73**, z którego pod wpływem deaminazy adenyzy otrzymano 8-aza-2',3'-dideoksyguanozynę β -**72**, a jednocześnie wykazano, że reszta cukrowa jest przyłączona do N9 [41].



Schemat 18. Synteza 8-aza-2,3'-dideoksyguanozyn α - i β -**72** oraz ich regioizomerów α - i β -**74** i α - i β -**75**; odczynniki i warunki: a. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; b. Bu₄NF, THF; c. NaOH, H₂O; d. NH₃, MeOH; e. deaminaza adenozyyny

Scheme 18. Synthesis of 8-aza-2,3'-dideoxyguanosines α - and β -**72** as well as their regioisomers α - and β -**74** and α - and β -**75**; reagents and conditions: a. KOH, TDA-1, MeCN, 20°C; b. Bu₄NF, THF; c. NaOH, H₂O; d. NH₃, MeOH; e. adenosine deaminase

4. ENZYMATYCZNE SYNTEZY NUKLEOZYDÓW 8-AZAPURYNOWYCH



Schemat 19. Biosynteza nukleozydów 8-azapurynowych

Scheme 19. Biosynthesis of 8-azapurine nucleosides

Aktywność biologiczna 8-azapuryn może być zaobserwowana po uprzednim ich przekształceniu w nukleozydy [42], a następnie w 5'-O-fosforany. Ten pierwszy proces może być również zrealizowany w reakcjach katalizowanych przez fosforylasy nukleozydowe (PNP) albo, jako reakcja transglikozylowania i wtedy źródłem reszty cukrowej jest odpowiedni nukleozyd pirymidynowy **76**, ewentualnie, jako reakcja glikozylowania z udziałem 1-O-fosforanu α -D-rybozy **77a** (Schemat 19). Jeżeli w reakcji katalizowanej przez enzym 8-azapuryny mają zastąpić w miejscu aktywnym enzymu kanoniczne zasady purynowe, to należy oczekiwać, że zostaną utworzone wyłącznie produkty podstawienia przy N9 i będą to anomery β . Użyteczność preparatywna takich procesów zależy będzie, zatem od efektywności wybranego enzymu. Chemiczne metody syntezy nukleozydów 8-azapurynowych wyczerpująco

przedstawiono w poprzednich rozdziałach. W tym rozdziale omówione zostaną najważniejsze osiągnięcia w syntezie enzymatycznej.

Już w roku 1954 opisano syntezę 8-azaguanozyny **41** i 8-aza-2'-deoksyguanozyny **61** z wydajnościami odpowiednio 28 i 73% wykorzystując PNP z wątroby konia [42]. Po fermentacji prowadzonej w obecności 8-azaguaniny **3** z udziałem *Bacillus cereus* wydzielono 8-azaguanozynę **41** z wydajnością 51%, ale w reakcji utworzyły się również pewne ilości 8-azaksantozyny **46** [43]. W reakcji transglikozylowania 8-azaguaniny **3** urydyną prowadzonej w obecności *Aeromonas hydrophila* wydzielono 8-azaguanozynę **41** z wydajnością 13% [44].

8-Azaguanozynę znakowaną izotopem ^{14}C w szkielecie D-rybozy zsyntetyzowano w reakcji katalizowanej przez PNP wychodząc z 8-azaguaniny **3** i 1-O-fosforanu [U- ^{14}C]-D-rybozy, który otrzymano z [U- ^{14}C]-inozyny [45].

8-Aza-2'-deoksyadenozynę β -**49** otrzymano z wydajnością 85% w reakcji 8-azaadeniny **1** z tymidyną katalizowanej deoksyrybotransferazą z *Lactobacillus helveticus* [36].

W obszernym studium sprawdzono efektywność katalityczną wyselekcjonowanego szczepu z *Escherichia coli* w syntezie nukleozydów 8-aza-2'-deoksyipurynowych z 8-azapuryn i 2'-deoksyurydyny. 8-Aza-2'-deoksyadenozynę β -**49** wydzielono z wydajnością 26% i konieczna była wcześniejsza ochrona grupy aminowej w 8-azaadeninie, ponieważ w przypadku użycia wolnej 8-azaadeniny **1** tworzyła się dodatkowo 8-aza-2'-deoksyinozyna **55**. Podobnie postąpiono w syntezie 8-aza-2'-deoksyguanozyny β -**61**, którą wyodrębniono z wydajnością 15%. Ważną obserwacją było ustalenie, że z 2-amino-8-azaadeniny **34** tworzy się produkt podstawienia przy N8 (związek **36**) [46].

W obecności *Bacillus stearothermophilus* z 2'-deoksyinozyny **55** i 8-azaadeniny **1** powstała z dobrą (52%) wydajnością 8-aza-2'-deoksyadenozyna β -**49** [47]. Wysokie wydajności 8-aza-2'-deoksyadenozyny β -**49** (66%) i 8-aza-2'-deoksyguanozyny β -**61** (60%) uzyskano w reakcji, odpowiednio, 8-azaadeniny **1** i 8-azaguaniny **3** z 2'-deoksyguanozyną, katalizowanej przez PNP z *E. coli* [48].

Jednakże w niektórych przypadkach reakcji enzymatycznych obserwowano tworzenie się również produktów glikozylowania przy N8 i N7 w 8-azaguaninie **3** i 2-amino-8-azaadeninie **34** [49, 50].

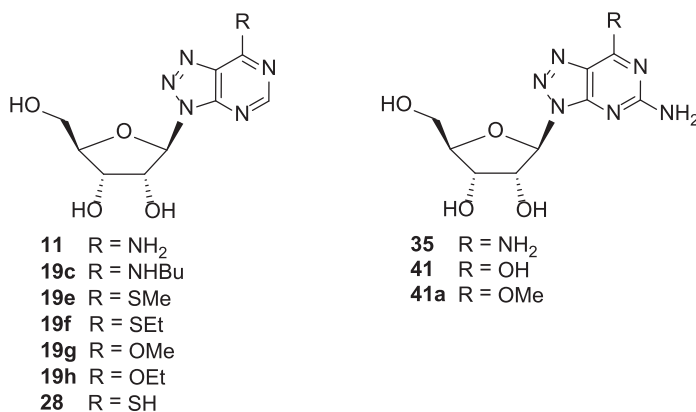
5. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

5.1. PRZECIWNOWOTWOROWA

Początkowo badania aktywności przeciwnowotworowej pochodnych 8-azapuryny i ich nukleozydów były prowadzone na zwierzętach. Udowodniono aktywność 8-azaguaniny **3** wobec nowotworów wszczepialnych gruczolakomięśaka (ang. *adenosarcoma* 755) i chłoniaka (ang. *Lymphoma* 2), a także białaczki P1534.

Jednocześnie wykazano brak aktywności wobec innych nowotworów [51]. Co ważne, hamowanie wzrostu nowotworu przez 8-azaguaninę **3** zanikało w obecności guaniny [52]. Aktywność 8-azainozyny **27** wobec komórek mysiej białaczki limfatycznej L1210 i gruczolakomięśaka oceniono jako bardzo wysoką, *N,N*-dime-tylo-8-azaadenozyny **19a** wobec L1210 – jako nieznaczną, zaś 8-azaadenozyna **11** i izomery podstawione przy N8 (np. **16** i **20b**) okazały się nieaktywne [7].

Badania na liniach komórkowych pozwoliły na dokładniejszą ocenę aktywności wobec wybranych nowotworów. Efektywne hamowanie wzrostu komórek nowotworowych naskórka (ang. *human epidermoid carcinoma No. 2*; H.Ep.2) obserwowano dla 8-azaadenozyny **11** ($ED_{50} = 1,0 \mu\text{M}$), która była bardziej aktywna niż 8-aza-2'-deoksyadenozyna β -**49** ($ED_{50} = 11,0 \mu\text{M}$) i dwudziestokrotnie bardziej aktywna w porównaniu z 8-azaadeniną **1**. Wysoką aktywność wykazywały również analogi 8-azaadenozyny α -**22** i β -**21** zawierające w części cukrowej reszty o konfiguracji arabinozy i ksylozy ($ED_{50} = 2,6$ i $5,0 \mu\text{M}$). Potwierdzono wysoką aktywność 8-azainozyny **27** ($ED_{50} = 3,5 \mu\text{M}$) i stwierdzono niewielką efektywność 8-aza-2'-deoksyinozyny **55** ($ED_{50} = 80 \mu\text{M}$) [19]. Jednak najaktywniejszym okazał się rybonukleozyd 8-aza-6-(metylotio)puryny **19e** ($ED_{50} = 0,02 \mu\text{M}$), podczas gdy 8-aza-6-(metylotio)puryna **18** była nietoksyczna ($ED_{50} > 300 \mu\text{M}$). W grupie bardzo aktywnych cząsteczek ($ED_{50} = 0,1\text{--}1,0 \mu\text{M}$) znalazły się 8-azaadenozyna **11**, kilka innych podstawionych przy C6 pochodnych 8-azapuryny (**19c**, **19f**–**19h**) oraz związek **19b** (trioctan **19e**) i 8-azatioinozyna **28** [17], a także 2-amino-8-azaadenozyna **35** ($IC_{50} = 0,7 \mu\text{M}$) (Rys. 3) [29]. Należy odnotować fakt znacznego zwiększenia cytotoksyczności 8-azaadenozyny **11** w stosunku do komórek nowotworowych naskórka H.Ep.2 ($IC_{50} = < 0,02 \mu\text{M}$) w obecności pentostatyny [29]. 8-Azaguanozyna **41**, jak i jej 6-*O*-metylowa pochodna **41a** okazały się również cytotoksyczne wobec tych komórek ($ED_{50} = 2 \mu\text{M}$) [30].



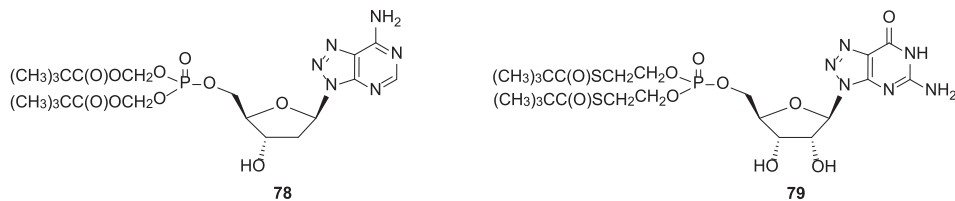
Rysunek 3. Przykłady nukleozydów 8-azapurynowych o aktywności przeciwnowotworowej
 Figure 3. Examples of anti-tumor 8-azapurine nucleosides

Aktywność 8-azaadenozyny **11** jak również związków **19e** i **19g** [17] oraz 8-azaguanozyny **41** i jej 6-*O*-metylowej pochodnej **41a** [30] w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych białaczki mysiej L1210 oceniono przez uśredniony wzrost czasu przeżycia myszy, który określono odpowiednio na 39, 23 i 29% [17] oraz 32 i 29% [30] i była mniejsza niż w przypadku 8-azainozyny **27** (42–60%) [52].

2-Amino-8-aza-2'-deoksyadenozyna β -**58** jest silnie cytotoksyczna w stosunku do linii komórkowych czerniaka MM96L ($D_{37} = 0,30 \mu\text{M}$) i MM127 ($D_{37} = 0,65 \mu\text{M}$) oraz umiarkowanie wobec MM253c1 ($D_{37} = 5,2 \mu\text{M}$). Dla porównania, cytotoksyczność 2'-deoksyadenozyny dla tych samych linii jest co najmniej dwa rzędy wielkości mniejsza i wynosi odpowiednio: $D_{37} = 95, 61$ i $2100 \mu\text{M}$ [53].

8-Azanebularyna **9** jest inhibitorem wzrostu komórek nowotworowych limfoblastów T MOLT-4 T ($IC_{50} = 7 \mu\text{M}$), natomiast 8-aza-2'-deoksynebularyna jest mało aktywna ($IC_{50} = 600 \mu\text{M}$). Przy stężeniu 8-azanebularyny wynoszącym $5 \mu\text{M}$ zdolność hamowania wzrostu tych komórek przez 2'-deoksyadenozynę bardzo wzrosła ($IC_{50} = 1,5 \mu\text{M}$), jeżeli weźmie się pod uwagę fakt, że sama 2'-deoksyadenozyna wykazuje marginalną aktywność ($IC_{50} = 200 \mu\text{M}$) [54].

8-Aza-2'-deoksyadenozyna β -**49** jest bardzo słabym inhibitorem komórek CEM i wykazuje cytotoksyczność ($IC_{50} = 190 \mu\text{M}$) dopiero w obecności deoksykoformycyny, która jest silnym inhibitorem deaminazy adenozy. Po przekształceniu 8-aza-2'-deoksyadenozyny β -**49** w 5'-monofosforan **78** (Rys. 4) zawierający ugrupowania nadające cząsteczce charakter proleku okazało się, że jego aktywność (również w obecności deoksykoformycyny) znacznie wzrosła ($IC_{50} = 15 \mu\text{M}$), co wskazało potencjalny kierunek modyfikacji innych nukleozydów 8-azapurynowych [33].



Rysunek 4. Proleki zawierające szkielet nukleozydów 8-azapurynowych
Figure 4. 8-Azapurine nucleosides as prodrugs

8-Azaguanozyna **41** wykazuje zróżnicowaną cytotoksyczność ($IC_{50} = 1 - >50 \mu\text{M}$) wobec wielu linii komórkowych [55]. Jednakowoż i fosforan **79** (Rys. 4) okazał się mniej aktywny od wyjściowego nukleozydu nawet o jeden rząd wielkości [55].

5.2. PRZECIWWIRUSOWA

Już w początkowej fazie badań zauważono, że 8-azaadenina **1** i 8-azaguanina **3** hamują rozwój mozaiki tytoniowej na roślinach [56].

Aktywnością przeciwwirusową analogów strukturalnych 8-azaadenozyny zawierających resztę cukrową o konfiguracji arabinozy zainteresowano się dlatego, że 9-(β -D-arabino-furanozylo)adenina wykazywała wysoką zdolność do hamowania rozwoju wielu wirusów. Rzeczywiście związek α -**22** wykazywał aktywność w badaniach *in vitro* wobec wirusów opryszczki typu 1 i 2 (HSV-1, HSV-2) i krowianki (*Vaccinia Virus*) na poziomie zbliżonym do efektywności 9-(β -D-arabino-furanozylo)adeniny użytej jako wzorzec, podczas gdy oba związki miały niewielką i porównywalną cytotoksyczność wobec komórek gospodarza [21]. Wkrótce potwierdzono wysoką aktywność *in vitro* α -**22** wobec wirusa HSV, a jednocześnie jego cytotoksyczność okazała się na tyle niska, aby uznać ten związek za interesujący. Równolegle wykazano, że 8-azaadenozyna **11** i 8-azainozyna **27** nie wykazują aktywności przeciwwirusowej [57].

Jednakże w badaniach *in vivo* na myszach związek α -**22** nie wykazywał żadnej aktywności wobec HSV-1 w przeciwieństwie do 9-(β -D-arabino-furanozylo)adeniny [58].

Wysoka aktywność trifosforanu 2',3'-dideoksyadenozyny wobec odwrotnej transkryptazy wirusa ludzkiego niedoboru odporności HIV stanowiła inspirację do zsyntetyzowania i zbadania aktywności trifosforanów 8-azaadenozyny ($IC_{50} = 42 \mu M$), 2-amino-8-azaadenozyny ($IC_{50} = 27 \mu M$), i 8-azaguanozyny ($IC_{50} = 93 \mu M$). Okazało się jednak, że są one około 100 razy mniej aktywne w porównaniu z trifosforanem 2',3'-dideoksyadenozyny, a ponadto wykazano, że trifosforany izomerów podstawionych przy N8 (β -**67** i β -**74**) są nieaktywne [40, 41]. 8-Azaadenozyna wykazuje znaczną aktywność wobec HIV-1 ($EC_{50} = 3,8 \mu M$) i ma dobry indeks selektywności ($SI = 37$) [59].

8-Azaadenozyna **11** przy niskiej cytotoksyczności ($CC_{50} > 50 \mu M$) okazała się aktywna przeciw wirusom Lassa ($EC_{50} = 0,38 \mu M$) i Ebola ($EC_{50} = 0,68 \mu M$) w badaniach wykorzystujących odpowiednie minigenomy [60].

5.3. PRZECIWBAKTERYJNA

Hamowanie wzrostu bakterii *Escherichia coli* przez 8-azaadeninę **1**, 8-azahypoksantynę **2** i 8-azaguaninę **3** jest dobrze udokumentowane [1, 56], podobnie jak aktywność 8-azaguaniny **3** i 8-azaksantyny **4** wobec *Bacillus cereus*. W przypadku *B. cereus* udowodniono, że znaczne ilości 8-azaguaniny (do 40%) są włączane do łańcucha kwasu rybonukleinowego (RNA) zastępując wyłącznie guaninę, a jednocześnie silnie hamowany był ich wzrost. Jeżeli jednak do szczepu, który wzrastał w obecności 8-azaguaniny dodana zostanie guanina, to szybko zastępuje 8-azaguaninę w strukturze bakteryjnego RNA [6, 56, 61].

5.4. PRZECIWPIERWOTNIAKOWA

W obecności 8-azaguaniny **3** wzrost pierwotniaków *Tetrahymena geleii* jest praktycznie zahamowany, a dodanie guaniny natychmiast odwraca inhibicję. 2-Amino-8-azaadenina **34** wykazuje cechy słabego inhibitora, a 8-azahypoksantyna **2** nie jest aktywna [4].

Wśród analogów strukturalnych puryn 8-azainozyna **27** okazała się niewystarczająco aktywna wobec *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi* i *Trypanosoma gambiense*, aby mogła być wykorzystana terapeutycznie, a dodatkowo stwierdzono, że jest cytotoksyczna ($ED_{50} = 2 \mu\text{M}$) [62, 63].

8-Azaadenozyna **11** jest silnym inhibitorem wzrostu innego pierwotniaka *Giardia lamblia*, podczas gdy 8-azaadenina **1** jest nieaktywna [64].

PODSUMOWANIE

Układ 8-azapuryny można łatwo skonstruować z odpowiednio podstawionych 4,5-diaminopirymidyn w wyniku zamknięcia pierścienia 1,2,3-triazolu w reakcji z kwasem azotowym(III). Alternatywna droga syntezy tego układu wykorzystuje reakcję podstawionych 1,2,3-triazoli z 2-cyanoacetamidem i była zastosowana również do otrzymywania modyfikowanych nukleozydów.

Najczęściej wykorzystywana metoda syntezy nukleozydów 8-azapurynowych polega na glikozylovaniu analogów kanonicznych nukleozasad zawierających pierścień 8-azapuryny za pomocą pochodnych D-rybozy, ale także D-arabinozy i D-ksylozy oraz 2'-deoksy- lub 2',3'-dideoksy-D-rybozy. W zależności od warunków prowadzenia reakcji glikozylovania podstawionych 8-azapuryn podstawienie może mieć miejsce przy N9, N8 i N7. W podwyższonych temperaturach, w warunkach kontroli termodynamicznej reakcji, w przewodzie tworzą się produkty podstawienia przy N9, które jako jedyne były wyodrębniane początkowo. W warunkach kontroli kinetycznej często obserwowano powstawanie nawet równomolowych mieszanin produktów podstawienia przy N9, N8 i N7. Stereochemiczny przebieg glikozylovania podstawionych 8-azapuryn i kanonicznych nukleozasad purynowych jest taki sam. O ile w przypadku reakcji z pochodnymi rybozy zagwarantowane jest tworzenie się anomerów o konfiguracji β , to dla pochodnych arabinozy, ksylozy, 2'-deoksy- lub 2',3'-dideoksy-D-rybozy obserwuje się powstawanie mieszanin α i β anomerów. Wpływa to w oczywisty sposób na wydajność, z jaką pozyskuje się poszczególne związki, ale współczesne techniki rozdzielcze pozwalają na wydzielenie ich w stanie czystym. Z drugiej strony posiadanie wielu modyfikowanych nukleozydów bardzo zbliżonych strukturalnie powiększa pulę związków w badaniach zależności struktura-aktywność biologiczna.

Pierwsze obserwacje aktywności przeciwnowotworowej i przeciwbakteryjnej 8-azapuryn wzbudziły ogromne zainteresowanie tą klasą związków, jako anty-metabolitów z potencjalnymi aplikacjami klinicznymi. Biorąc pod uwagę dzisiaj-

sze wymagania aktywności w badaniach *in vitro* jedynie efektywność inhibująca rybonukleozydu 8-aza-6-(metylotio)puryny **19e** wobec komórek nowotworowych naskórka H.Ep.2 ($ED_{50} = 0,02 \mu\text{M}$) stanowiłaby podstawę do dalszych prac.

Jednakże w przeciwieństwie do nukleozydów purynowych i 8-azapuryn (za wyjątkiem 8-azaguaniny) nukleozydy 8-azapurynowe wykazują bardzo ważną właściwość, jaką jest fluorescencja. Później wykazano, że, jej efektywność zależy od pH środowiska. W ten sposób uzyskano nowe narzędzie badawcze coraz efektywniej wykorzystywane w chemii kwasów nukleinowych [65].

Podsumowując, analogi 8-azapurynowe nukleozydów stanowią interesującą klasę związków o dość szerokim spektrum aktywności biologicznej, co potwierdzają dotychczasowe wyniki badań przedstawione w powyższym opracowaniu zawężonym do analogów z pierścieniem tetrahydrofuranowym. Poszukiwanie aktywnych cząsteczek w tej klasie analogów nukleozydów jest ukierunkowane na modyfikacje pierścienia cukrowego zastępując go przez inny układ cykliczny, a ostatnio także przez ugrupowania zawierające sfunkcjonalizowane łańcuchy alifatyczne. Drugi kierunek modyfikacji, który można zrealizować zarówno dla cząsteczek zawierających pierścienie cukrowe, ale również inne fragmenty cykliczne i acykliczne, polega na zastąpieniu grupy fosforanowej $[(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{O}-\text{C}(5')]$ przez bioizosteryczną grupą fosfonianową $[(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})-\text{CH}_2-]$. Takie modyfikacje są uzasadnione tym, że proces wewnątrzkomórkowej fosforylacji nukleozydów, jak również ich strukturalnych analogów jest mało wydajny, a jednocześnie jest to jeden z istotniejszych etapów wpływający na aktywność związku. W ten sposób omija się pierwszy etap fosforylacji, a utworzone fosfoniany są trwałe w warunkach hydrolizy enzymatycznej.

PODZIĘKOWANIE

Autorzy pragną serdecznie podziękować Panu prof. dr. hab. Andrzejowi E. Wróblewskiemu za bezcenną pomoc i udzielone wskazówki. Praca realizowana w ramach badań statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (503/3-014-1/503-06-300 i 502-03-/3-014-01/502-34-076).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R.O. Roblin Jr., J.O. Lampen, J.P. English, Q.P. Cole, J.R. Vaughan Jr., J. Am. Chem.Soc., 1945, **67**, 290.
- [2] G.W. Kidder, V.C. Dewey, R.E. Parks Jr., G.L. Woodside, Science, 1949, **109**, 511.
- [3] K.S. Sugiura, G.H. Hitchings, L.F. Cavalieri, C.Ch. Stock, Cancer Res., 1950, **10** (3), 178.
- [4] G.W. Kidder, V.C. Dewey, J. Biol. Chem., 1949, **179**, 181.
- [5] K. Anzai, J. Nagatsu, S. Suzuki, J. Antibiot. Ser. A, 1961, **14**, 340.
- [6] G.H. Mandel, R. Markham, Biochem. J., 1958, **69**, 297.
- [7] W. Hutzenlaub, R.L. Tolman, R.K. Robins, J. Med. Chem., 1972, **15**, 879.

- [8] V. Nair, S.D. Chamberlain, *Synthesis*, 1984, 401.
- [9] E.A. Véliz, LaHoma M. Easterwood, P.A. Beal, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 10867.
- [10] B.L. Haudenschild, O. Maydanovych, E.A. Véliz, M.R. Macbeth, B.L. Bass, P.A. Beal, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 11213.
- [11] J. Davoll, *J. Chem. Soc.*, 1958, 1593.
- [12] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, S.J. Clayton, *J. Heterocycl. Chem.*, 1970, **7**, 215.
- [13] F. Seela, I. Münster, U. Löchner, H. Rosemeyer, *Helv. Chim. Acta*, 1998, **81**, 1139.
- [14] B.C. Bookser, N.B. Raffaele, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 173.
- [15] J.B. Miller, *J. Org. Chem.*, 1960, **25**, 1279.
- [16] K.J.M. Andrews, W.E. Barber, *J. Chem. Soc.*, 1958, 2768.
- [17] R.D. Elliott, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, 1977, **20**, 116.
- [18] J.A. Montgomery, R.D. Elliott, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1972, 1279.
- [19] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, *J. Med. Chem.*, 1972, **15**, 305.
- [20] J.A. Montgomery, A.T. Shortnacy, G. Arnett, W.M. Shannon, *J. Med. Chem.*, 1977, **20**, 401.
- [21] C.W. Smith, R.W. Sidwell, R.K. Robins, R.L. Tolman, *J. Med. Chem.*, 1972, **15**, 883.
- [22] R.L. Tolman, C.W. Smith, R.K. Robins *J. Am. Chem. Soc.*, 1972, **94**, 2530.
- [23] G. Biagi, I. Giorgi, O. Livi, V. Scartoni, A. Lucacchini, *Farmaco*, 1992, **47**, 1457.
- [24] R.J. Rousseau, R.K. Robins, L.B. Townsend, *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, **90**, 2661.
- [25] L.L. Bennett Jr., P.W. Allan, *Cancer Res.*, 1976, **36**, 3917.
- [26] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, *J. Label. Comp. Radiopharm.*, 1978, **15**, 727.
- [27] F. Chretien, B. Gross, *Tetrahedron*, 1982, **38**, 103.
- [28] J.A. Montgomery, H.J. Thomas, *J. Org. Chem.*, 1971, **36**, 1962.
- [29] J.A. Montgomery, A.T. Shortnacy, J.A. Secrist III, *J. Med. Chem.*, 1983, **26**, 1483.
- [30] R.D. Eliot, J.A. Montgomery, *J. Med. Chem.*, 1976, **19**, 1186.
- [31] J. Baddiley, J.G. Buchmanan, G.O. Osborne, *J. Chem. Soc.*, 1958, 3606.
- [32] G.L. Tong, W.W. Lee, L. Goodman, S. Frederiksen, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1965, **112**, 76.
- [33] J.D. Rose, W.B. Parker, H. Someya, S.C. Shaddix, J.A. Montgomery, J.A. Secrist III, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 4505.
- [34] Z. Kazimierzczuk, U. Binding, F. Seela, *Helv. Chim. Acta*, 1989, **72**, 1527.
- [35] F. Seela, A.M. Jawalekar, I. Münster, *Helv. Chim. Acta*, 2005, **88**, 751.
- [36] S. Frederiksen, *Biochim. Biophys. Acta, Special. Sec. Nucl. Acids Relat. Subj.*, 1964, **87**, 574.
- [37] F. Seela, S. Lampe, *Helv. Chim. Acta*, 1993, **76**, 2388.
- [38] D. Jiang, F. Seela, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 4016.
- [39] F. Seela, D. Jiang, K. Xu, *Org. Biomol. Chem.*, 2009, **7**, 3463.
- [40] F. Seela, K. Mersmann, *Helv. Chim. Acta*, 1992, **75**, 1885.
- [41] F. Seela, K. Mersmann, *Helv. Chim. Acta*, 1993, **76**, 2184.
- [42] M. Friedkin, *J. Biol. Chem.*, 1954, **209**, 295.
- [43] J. Kára, J. Škoda, F. Šorm, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1961, **26**, 1386.
- [44] M. Nobile, M. Terreni, E. Lewkowicz, A.M. Iribarren, *Biocatal. Biotransform.*, 2010, **28**, 395.
- [45] M.G. Tozzi, M. Camici, A. Del Corso, P.L. Ipata, *J. Label. Comp. Radiopharm.*, 1989, **27**, 533.
- [46] I. Votruba, A. Holy, H. Dvorakova, J. Gunter, D. Hockova, H. Hrebabecky, T. Cihlar, M. Masojidkova, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1994, **59**, 2303.
- [47] S. Pal, V. Nair, *Biotechnol. Lett.*, 1997, **19**, 349.
- [48] V.A. Stepchenko, F. Seela, R.S. Esipov, A.I. Miroshnikov, Y.A. Sokolov, I.A. Mikhailopulo, *Synlett*, 2012, **23**, 1541.
- [49] A. Stachelska-Wierzchowska, J. Wierzchowski, A. Bzowska, B. Wielgus-Kutrowska, *Molecules*, 2016, **21**, 44, doi:10.3390/molecules21010044.

- [50] A. Stachelska-Wierzchowska, J. Wierzchowski, B. Wielgus-Kutrowska, G. Mikleušević, *Molecules*, 2013, **18**, 12587.
- [51] G.W. Kidder, V.C. Dewey, R.E. Parks Jr., G.L. Woodside, *Cancer Res.*, 1951, **11**, 204.
- [52] L. Lee Bennett Jr., M.H. Vail, P.W. Allan, W.R. Laster Jr., *Cancer Res.*, 1973, **33**, 465.
- [53] P.G. Parsons, E.P.W. Bowman, R.L. Blakley, *Biochem. Pharmacol.*, 1986, **35**, 4025.
- [54] D.S. Shewach, S.H. Krawczyk, O.L. Acevedo, L.B. Townsend, *Biochem. Pharmacol.*, 1992, **44**, 1697.
- [55] J.D. Rose, W.B. Parker, J.A. Secrist III, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, 2005, **24**, 809.
- [56] J.D. Smith, R.E.F. Matthews, *Biochem. J.*, 1957, **66**, 323.
- [57] L. Lee Bennett Jr., W.M. Shannon, P.W. Allan, G. Arnett, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1975, **255**, 342.
- [58] L. Lee Bennett Jr., P.W. Allan, S.C. Shaddix, W.M. Shannon, G. Arnett, L. Westbrook, J.C. Drach, C.M. Reinke, *Biochem. Pharmacol.*, 1981, **30**, 2325.
- [59] M.J. Dapp, L. Bonnac, S.E. Patterson, L.M. Mansky, *J. Virol.*, 2014, **88**, 354.
- [60] S.R. Welch, L. Wiggleton Guerrero, A.K. Chakrabarti, L.K. McMullan, M. Flint, G.R. Bluemling, G.R. Painter, S.T. Nichol, Ch.F. Spiropoulou, C.G. Albariño, *Antiviral Res.*, 2016, **136**, 9.
- [61] H.G. Mandel, *J. Biol. Chem.*, 1957, **225**, 137.
- [62] J.J. Marr, R.L. Berens, N.K. Cohn, D.J. Nelson, R.S. Klein, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1984, **25**, 292.
- [63] S.W. LaFon, D.J. Nelson, R.L. Berens, J.J. Marr, *J. Biol. Chem.*, 1985, **260**, 9660.
- [64] R.L. Berens, J.J. Marr, *Biochem. Pharmacol.*, 1986, **35**, 4191.
- [65] J. Wierzchowski, J.M. Antosiewicz, D. Shugar, *Mol. Biosyst.*, 2014, **10**, 2756.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 marca 2017

ATROPOSELEKTYWNA SYNTEZA NATURALNYCH CHIRALNYCH OSIOWO ZWIĄZKÓW BIARYLOWYCH. CZĘŚĆ I

ATROPOSELECTIVE SYNTHESIS OF NATURAL AXIALLY CHIRAL BIARYL COMPOUNDS. PART I

**Renata Kołodziejska¹, Agnieszka Tafelska-Kaczmarek²,
Renata Studzińska³**

¹ *Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK Toruń
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

² *Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemii, UMK Toruń
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń*

³ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK Toruń
ul. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz*

Abstract

Wprowadzenie

1. Określenie konfiguracji absolutnej chiralnych osiowo biaryli
2. Podział chiralnych związków biarylowych i ich trwałość
3. Synteza chiralnych osiowo biaryli
 - 3.1. Atroposelektywna konwersja achiralnych i konformacyjnie niestabilnych związków biarylowych
 - 3.1.1. Desymetryzacja achiralnych biaryli
 - 3.1.2. Modyfikacje niestabilnych chiralnych osiowo związków biarylowych
 - 3.2. Otrzymanie chiralnych biaryli w asymetrycznej syntezie pierścieni arylowych

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

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

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

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

ABSTRACT

In early twentieth century, it was already known that chemical compounds might be chiral without containing the chiral atoms. The presence of the stereogenic center is a sufficient but not necessary condition that the molecule appears in two forms which are mirror images. In certain cases, the limit of free rotation in the molecule may result in asymmetry, e.g. inhibition of rotation around single bond leads to axial isomers. This is the kind of conformational isomerism, which according to the nomenclature is called atropisomerism [1, 2]. The most often optically active molecules without stereogenic atoms, possessing an axial chirality are biaryls, which are commonly found in nature. In most cases, pharmacological activity of biaryls is associated with the presence of axial chirality (Figs 1, 2; Scheme 1) [1–14]. Generally chiral biaryls are divided into bridged biaryls (Scheme 4–6) [15–24], and biaryls, which do not contain the additional ring (Scheme 2, 3) [25–33]. The thermal stability of both enantiomeric/diastereomeric forms is an essential precondition for atropisomerism. For a given temperature, conformationally stable isomers may coexist when their a half-life is at least 1000 s, which gives the minimum energy barrier of 93 kJ mol⁻¹ at 300 K. Chiral biaryls can be achieved by either desymmetrization of stable but achiral biaryls by modifying one of the groups on the aromatic moiety (Scheme 7–9) [1, 34, 35], or by dynamic kinetic resolution of racemic mixtures of the conformationally unstable chiral substrates. The synthesis of the chirally stable biaryls from the chiral labile substrates is most frequently the result of the extra substituent addition (Scheme 10) [36], and formation or cleavage of a bridge (Scheme 11–16) [37–54]. The axially chiral biaryls can also be obtained in the atroposelective transformation of the alkyl substituent of the arene ring into a second aromatic ring in the presence of an organometallic catalyst (Scheme 17, 18) [55, 56].

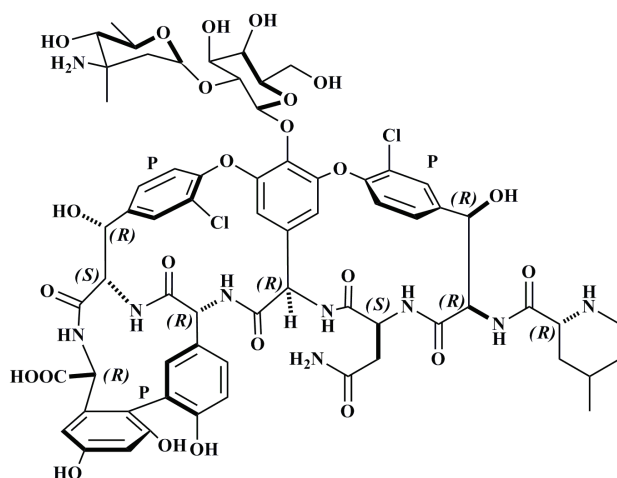
Keywords: natural axially chiral biaryl compounds, bridged and unbridged biaryls, atropisomerization, atroposelective synthesis of axially chiral biaryls

Słowa kluczowe: naturalne chiralne osiowo związki biarylowe, mostkowane i otwarto-łańcuchowe biaryle, atropoizomeryzacja, atroposelektywna synteza chiralnych osiowo biaryli

WPROWADZENIE

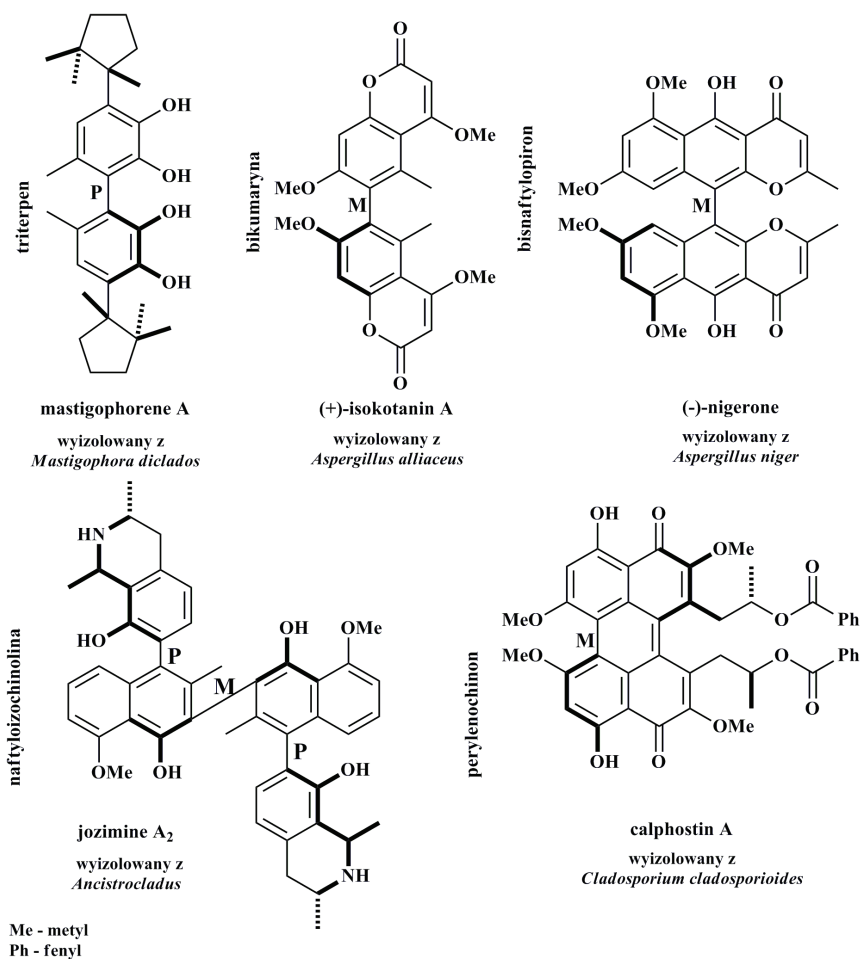
Już na początku XX wieku było wiadomo, że cząsteczki chemiczne mogą być chiralne nie zawierając chiralnego atomu. Obecność centrum stereogenicznego jest warunkiem wystarczającym, ale niekoniecznym aby cząsteczka występowała w dwóch formach będących lustrzanym odbiciem nienakładalnym na siebie. W niektórych przypadkach ograniczenie swobody rotacji w cząsteczce może powodować pojawienie się asymetrii. Na przykład zahamowanie rotacji wokół pojedynczego wiązania prowadzi do izomerów osiowych. Jest to rodzaj izomerii konformacyjnej, który zgodnie z nomenklaturą nosi nazwę atropoizomerii [1, 2]. Po raz pierwszy wzmianka o związkach chiralnych osiowo pojawiła się w 1922 roku [3]. Natomiast termin atropoizomery został wprowadzony 11 lat później przez Richarda Kuhna [4].

Optycznie czynne cząsteczki niezawierające stereogenicznych atomów wykazujące tzw. chiralność osiową to najczęściej biaryle, które należą do interesującej grupy związków powszechnie występującej w przyrodzie. W większości przypadków ich działanie farmakologiczne jest związane z obecnością chiralności osiowej. Jednym z przedstawicieli tej klasy związków jest słynny antybiotyk heptapeptyd wankomycyna (Rys. 1).

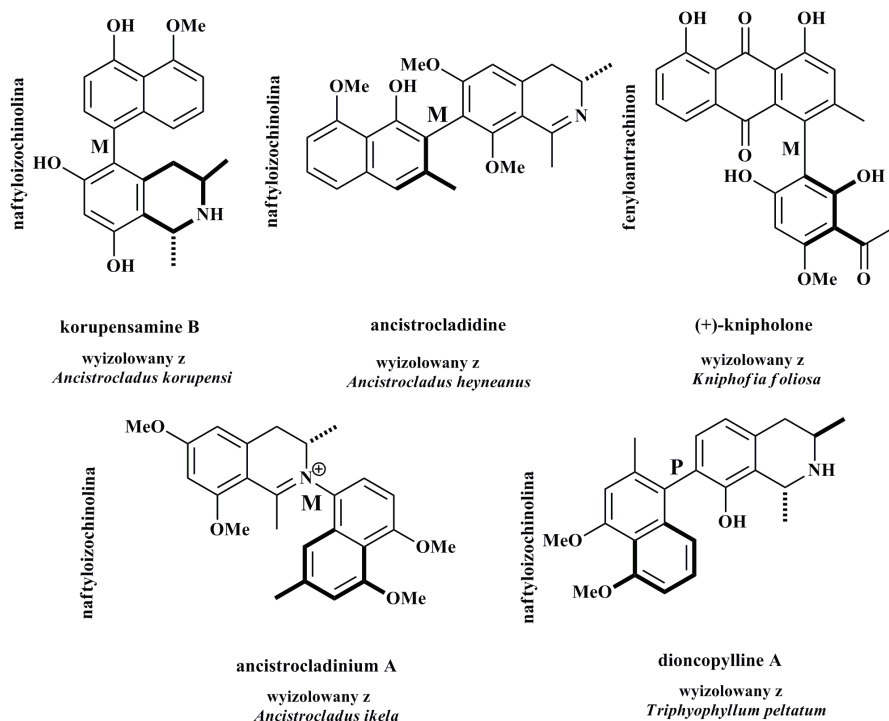


Rysunek 1. Struktura wankomycyny
Figure 1. The structure of vancomycin

Do grona naturalnych chiralnych osiowo biaryli można zaliczyć również dime-ryczne seskwiterpeny, bikumaryny, bisnaftylopirony, perylenochinony oraz niesymetryczne biaryle na przykład fenylaoantrachinony czy C-C lub N-C naftyloizo-chinoliny [5–13]. Na Rysunku 2 i 3 przedstawiono wybrane przykłady naturalnych chiralnych symetrycznych i niesymetrycznych biaryli. Chiralne biaryle są wykorzystywane jako farmaceutyki oraz reagenty i/lub katalizatory w szeroko pojętej syntezie asymetrycznej [14].



Rysunek 2. Przykłady symetrycznych naturalnych chiralnych osiowo związków biarylowych
 Figure 2. Selected examples of symmetrical naturally occurring axially chiral biaryl compounds

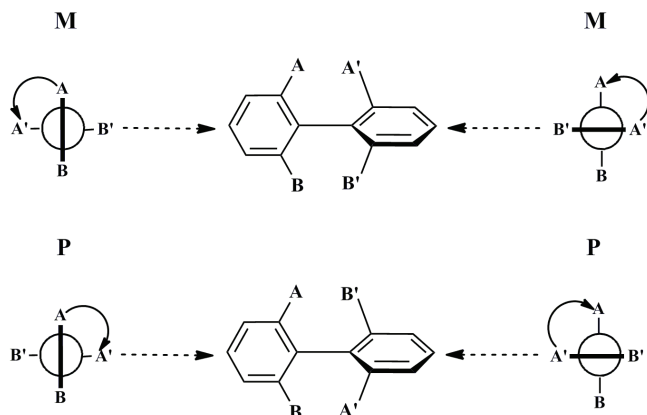


Rysunek 3. Przykłady niesymetrycznych naturalnych chiralnych osiowo związków biarylowych
 Figure 3. Selected examples of unsymmetrical naturally occurring axially chiral biaryl compounds

1. OKREŚLENIE KONFIGURACJI ABSOLUTNEJ CHIRALNYCH OSIOWO BIARYLI

Chiralne biaryle, dla których chcemy określić konfigurację absolutną to związki, które posiadają dwa (najczęściej różne) podstawniki po obu stronach osi, na przykład $A \neq B$ i $A' \neq B'$ (Schemat 1). W celu wyznaczenia konfiguracji należy w pierwszej kolejności określić, który z podstawników jest ważniejszy (A (A') lub B (B')) według reguł Cahna-Ingolda-Preloga (CIP). Ustalamy, że podstawnik A (A') jest podstawnikiem o wyższym priorytecie. Jeśli będziemy poruszać się od ważniejszego podstawnika znajdującego się najbliżej obserwatora (pierścień proksymalny) do ważniejszego podstawnika w pierścieniu dystalnym (pierścień znajdujący się dalej od obserwatora) na przykład $A \rightarrow A'$ zgodnie z kierunkiem wskazówek zegara to biaryl będzie miał konfigurację absolutną P (plus). Natomiast skręt o 90 stopni w przeciwną stronę (niezgodnie z kierunkiem wskazówek zegara) od podstawnika $A \rightarrow A'$ daje izomer o konfiguracji absolutnej M (minus) – Schemat 1. Reguły CIP w określaniu konfiguracji biaryli są złagodzone i dla chiralnych związków, w których $A = A'$ i $B = B'$ można również wyznaczyć konfigurację absolutną. W takim przypadku dla dwóch par takich samych podstawników została wprowadzona

dodatkowa zasada: grupy znajdujące się w pierścieniu proksymalnym są ważniejsze niż podstawniki w pierścieniu dystalnym [1, 2, 14].



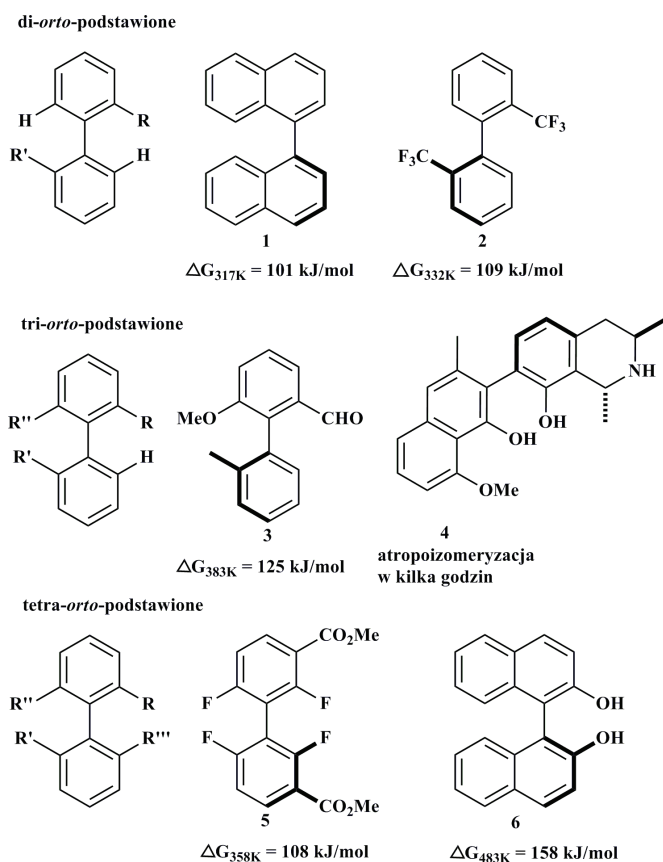
Schemat 1. Określenie konfiguracji absolutnej w chiralnych osiowo związkach biarylowych [1]
 Scheme 1. Assignment of absolute configuration in chiral biaryl compounds [1]

2. PODZIAŁ CHIRALNYCH ZWIĄZKÓW BIARYLOWYCH I ICH TRWAŁOŚĆ

Generalnie chiralne biaryle możemy podzielić na biaryle mostkowane (obecność dodatkowego pierścienia mostkującego) oraz biaryle, które nie zawierają dodatkowego pierścienia, tzw. biaryle otwarto-łańcuchowe.

Warunkiem występowania atropoizomerii jest stabilność obu enancjomerycznych/diastereomerycznych form w określonej temperaturze. Najczęściej wystarczy aby średni czas życia wynosił ponad 1000 s (16,7 min), co daje minimalną barierę energetyczną (bariera energetyczna 93 kJ mol^{-1} (22 kcal mol^{-1}) w 300 K (27°C)), która jest niezbędna aby w danej temperaturze mogły współistnieć trwale konformacyjnie izomery. Wymagana minimalna bariera energetyczna jest zależna od temperatury. W niskiej temperaturze nawet labilne konformacyjnie chiralne biaryle z małą zawadą przestrzenną można rozdzielić na dwa atropoizomery. Natomiast w wysokiej temperaturze często zachodzi proces atropoizomeryzacji (racemizacji) pomimo stabilności izomerów w temperaturze pokojowej. W przypadku niemostrkowanych biaryli występowanie atropoizomerii jest uwarunkowane obecnością dużych objętościowo podstawników w pobliżu osi. Mostkowane biaryle natomiast powinny posiadać sztywne i długołańcuchowe pierścienie. W niektórych przypadkach stabilne chiralne biaryle mogą być podatne na atropoizomeryzację pod wpływem chemicznych lub fotochemicznych czynników, dlatego ważne jest właściwe przechowywanie próbki, aby nie indukować racemizacji [1].

Niemostkowane biaryle, tzw. otwarto-łańcuchowe zarówno mono- jak również większość dipodstawionych są nietrwałe w temperaturze pokojowej. Dipodstawione biaryle mogą występować jako atropoizomery w tej temperaturze tylko jeśli podstawniki znajdują się w pobliżu osi i są duże objętościowo. Na Schemacie 2 przedstawiono dwa przykłady dipodstawionych biaryli – 1,1-binaftyl (związek 1) i 2,2-bis(trifluorometylo)bifenyl (związek 2) – stabilnych w temperaturze pokojowej [15–17].



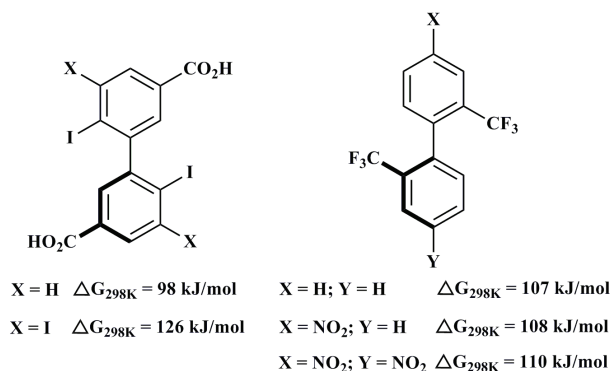
Schemat 2. Konfiguracyjnie stabilne di-, tri- i tetra-orto-podstawione związki biarylowe [1]

Scheme 2. Configurationally stable di-, tri- and tetra-ortho-substituted biaryl compounds [1]

Tri-orto-podstawione podobnie jak dipodstawione mogą być stabilne jeśli podstawniki są duże objętościowo. Na przykład związek 3 na Schemacie 2 może występować jako trwały chiralny osiowo izomer [18, 19]. Mniejsza zawada przestrzenna w pobliżu osi zmniejsza stabilność tripodstawionych biaryli i tak na przykład jeden z alkaloidów, związek 4, jest stabilny w temperaturze pokojowej tylko przez około

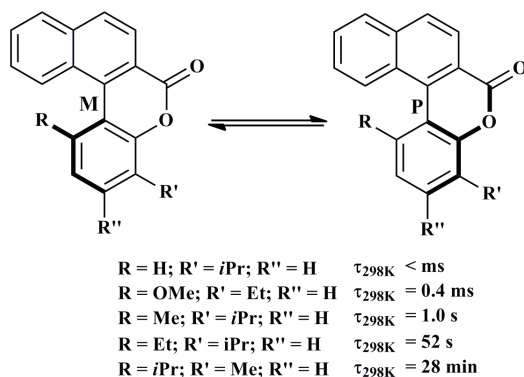
kilka godzin [20]. Szczególnie stabilne konformacyjnie są tetra-*orto*-podstawione związki biaryłowe, nawet jeśli podstawniki są małe jak na przykład w tetrafluorobifenylu – związek 5 na Schemacie 2 [21]. Zwiększenie zawady przestrzennej wpływa na zahamowanie rotacji wokół osi, a tym samym na trwałość atropoizomerów. 1,1'-(Bis-2-naftol) (związek 6) jest przykładem tetrapodstawionego biarylu o bardzo dużej trwałości z ekstremalnie wysoką barierą rotacji ($\Delta G_{483K} = 158 \text{ kJ/mol}$) [22].

Generalnie trwałość *orto*-atropoizomerów jest wynikiem sterycznych oddziaływań, które wzrastają wraz ze wzrostem promieni Van der Waalsa (I>Br>Me>C<I>NO₂>CO₂H>OMe>F>H). Na zwiększenie bariery rotacji mają wpływ również podstawniki w pozycji *meta* oraz *para*, zarówno wielkość tych podstawników, jak i ich charakter chemiczny [1, 23, 24]. Na Schemacie 3 przedstawiono wpływ podstawników w pozycji *meta* i *para* na konfiguracyjną stabilność związków biaryłowych.



Schemat 3. Wpływ podstawników w pozycji *meta* i *para* na konfiguracyjną stabilność związków biaryłowych
 Scheme 3. The effect of *meta* and *para* substituents on the configurational stability of biaryl compounds

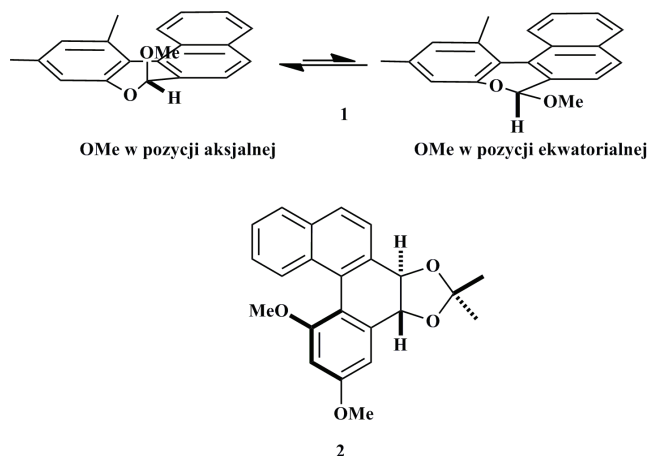
Stabilność konformacyjna mostkowanych biaryli jest uzależniona od wielkości mostka. Obecność pojedynczego atomu mostkującego (tworzenie pięcioczłonowych pierścieni) nie prowadzi do stabilnych antropoizomerów w temperaturze pokojowej. Sześcioczłonowy pierścień nieznacznie utrudnia obrót wokół osi, trwałość izomerów w takim przypadku zależy od wielkości podstawników w pozycji *orto*. Na przykład benzenonaftylopiranony (Schemat 4) szybko ulegają atropoizomeryzacji w temperaturze pokojowej (średni czas życia tych związków jest mniejszy od 1 min) jeśli podstawniki są małe (R – H, OMe, Me, Et). Natomiast duży objętościowo podstawnik izopropylowy w pozycji *orto* zwiększa stabilność atropoizomeru. Średni czas życia tego związku w 298 K wynosi 28 min [25, 26].



Schemat 4. Atropoizomeryzacja pochodnych benzenonaftylopiranonu

Scheme 4. Atropisomerization of benzonaphthopyranone derivatives

W przypadku innego biarylu z sześcioczłonowym pierścieniem (związek 1 na Schemacie 5) większa stabilność jednej z atropoizomerycznych form jest wynikiem przesunięcia równowagi w kierunku bardziej trwałego termodynamicznie konformeru z grupą $-OMe$ w pozycji aksjalnej. Nadal jednak proces atropoizomeryzacji przebiega szybko i bariera rotacji jest zbyt mała, aby związek ten występował postaci dwóch atropoizomerów w temperaturze pokojowej [27, 28]. Biaryl, który zawiera dwa atomy mostkujące związek 2 na Schemacie 5 występuje jako pojedynczy diastereoizomer czyli preferowany termodynamicznie diekwatorialny konformer [29].



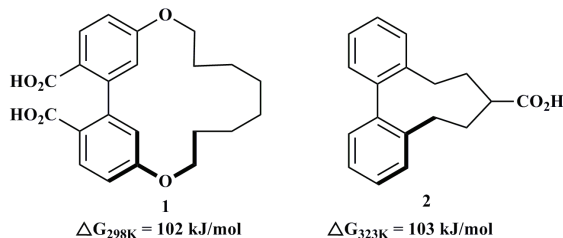
Schemat 5. Związki biarylowe z sześcioczłonowym mostkiem

Scheme 5. The six-membered bridged biaryl compounds

Najtrwalsze spośród mostkowanych biaryli są związki zawierające siedmioczłonowe pierścienie nawet pomimo braku dużych objętościowo podstawników w pobliżu osi. Stabilność jest porównywalna z niemostkowanymi i *orto*-podstawio-

nymi analogami [30, 31]. Bardzo często tego typu związki są stabilizowane poprzez dodatkowe wiązania wodorowe.

W przypadku biaryli o większych mostkach występowanie atropoizomerów jest możliwe dzięki geometrycznym ograniczeniom rotacji pierścieni biarylowych, obecność nawet niewielkich objętościowo zawał przestrzennych w pobliżu osi zapewnia stabilność konfiguracyjną biaryli. Związki 1 i 2 na Schemacie 6 to przykłady takich mostkowanych biaryli, które posiadając tylko dwa podstawniki obok osi są stabilne w temperaturze pokojowej [32, 33].



Schemat 6. Związki biarylowe zawierające makrocycliczne mostki

Scheme 6. Macrocyclic bridged biaryl compounds

3. SYNTEZA CHIRALNYCH OSIOWO BIARYLI

Najczęściej chiralne osiowo biaryle otrzymuje się w atroposelektywnej intra- lub intermolekularnej reakcji sprzężenia odpowiednio zmodyfikowanych fragmentów arylowych, które szczegółowo zostaną omówione w Części II. Oprócz konwencjonalnych atroposelektywnych metod syntezy biaryli stosuje się również alternatywne strategie:

1. atroposelektywną konwersję achiralnych lub konformacyjnie niestabilnych biaryli w asymetryczne produkty chiralne osiowo,
2. wyspecjalizowane metody, w których niearylowe fragmenty pierścienia aromatycznego zostają przekształcone w drugi pierścień arylowy [1].

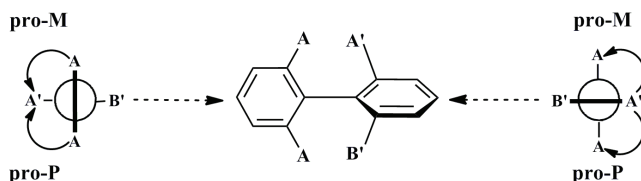
3.1. ATROPOSELEKTYWNA KONWERSJA ACHIRALNYCH I KONFORMACYJNIE NIESTABILNYCH ZWIĄZKÓW BIARYLOWYCH

Atroposelektywną konwersję przeprowadza się w reakcji desymetryzacji stabilnych, prostereogenicznych biaryli oraz z niestabilnych konformacyjnie chiralnych substratów w wyniku dynamicznego rozdziału kinetycznego mieszanin racemicznych. Z symetrycznych substratów związki chiralne uzyskuje się poprzez modyfikację prochiralnych grup w reszcie aromatycznej. Natomiast utworzenie chiralnie stabilnych biaryli z chiralnych labilnych substratów jest najczęściej wynikiem wprowadzenia dodatkowego podstawnika oraz utworzeniem lub usunięciem mostka.

Niezależnie od zastosowanej metody w efekcie końcowym otrzymuje się trwałe konformacyjnie produkty o określonej konfiguracji [1].

3.1.1. Desymetryzacja achiralnych biaryli

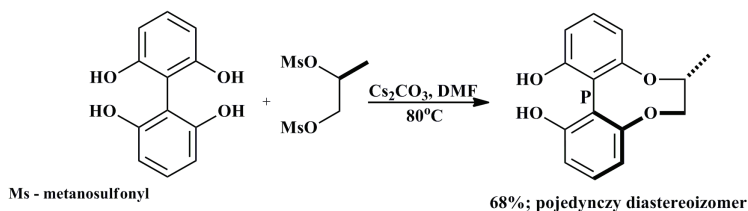
Prostereogeniczne biaryle posiadają prochiralne, czyli homotopowe podstawniki pro-M i pro-P (na Schemacie 7 podstawniki A). O podstawniku pro-M mówimy, jeśli poruszamy się od ważniejszego podstawnika w pierścieniu proksymalnym (na przykład podstawnik A') do ważniejszego podstawnika w pierścieniu dystalnym (na przykład podstawnik A) niezgodnie z kierunkiem wskazówek zegara. Natomiast w przypadku podstawnika pro-P zwrot od A' do A jest zgodny z kierunkiem wskazówek zegara.



Schemat 7. Prostereogeniczne związki biarylowe

Scheme 7. Prostereogenic biaryl compounds

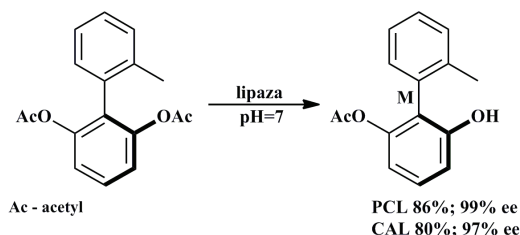
Generalnie desymetryzacja prostereogenicznych związków biarylowych przebiega dwuetapowo. W pierwszym etapie uzyskuje się achiralne biaryle w nieselektywnej reakcji sprzęgania. W następnym symetryczne związki biarylowe przekształca się w chiralne osiowo produkty w wyniku modyfikacji w reszcie arylowej atropoenancjotopowych lub atropodiastereotopowych podstawników. Na przykład w achiralnym tetra-*ortho*-hydroksybifenylu utworzenie ośmiocłonowego dieterowego mostka prowadzi do otrzymania optycznie czystego biarylu o konfiguracji P (Schemat 8) [34]. Eteryfikacja odbywa się przy użyciu chiralnego dimetanosulfonianu.



Schemat 8. Desymetryzacja tetra-*ortho*-hydroksybifenylu

Scheme 8. Desymmetrization of tetra-*ortho*-hydroxybiphenyl

Desymetryzacja biaryli może odbywać się również poprzez reakcję enzymatyczną. Symetryczny 2,6-diacetoksy-2'-metylobiaryl w enancjoselektywnej reakcji hydrolizy jednej prochiralnej grupy (pro-P) przekształcony został w chiralny osiowo produkt o konfiguracji M z wysokim nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 9) [35]. Czystość optyczną zapewnił katalizator enzymatyczny: lipaza *Candida antarctica* (CAL) lub *Pseudomonas cepacia* (PCL).

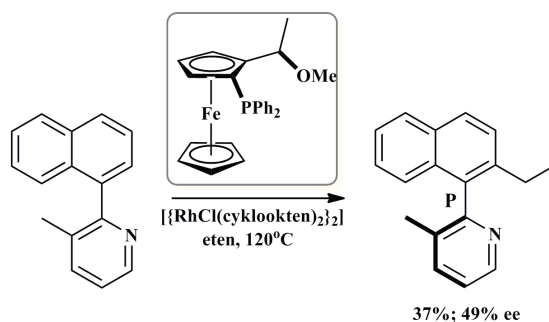


Schemat 9. Atropoenancjotopowa enzymatyczna reakcja deacylowania katalizowana lipazą PCL (*Pseudomonas cepacia*) i CAL (*Candida antarctica*)

Scheme 9. Atropoenantiotopos-differentiating enzymatic O-deacetylation using PCL (*Pseudomonas cepacia* lipase) and CAL (*Candida antarctica* lipase)

3.1.2. Modyfikacja niestabilnych chiralnych osiowo związków biarylowych

Atroposelektywna konwersja chiralnych osiowo, ale konformacyjnie niestabilnych związków biarylowych może odbyć się poprzez wprowadzenie dodatkowego podstawnika w pozycję *ortho*. Murai i współpracownicy przestawili stereoselektywną reakcję alkilowania 2-(1-naftylo)-3-metylopirydyny. Uzyskano w obecności chiralnego katalizatora biaryl z umiarkowanym 49% nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 10) [36].

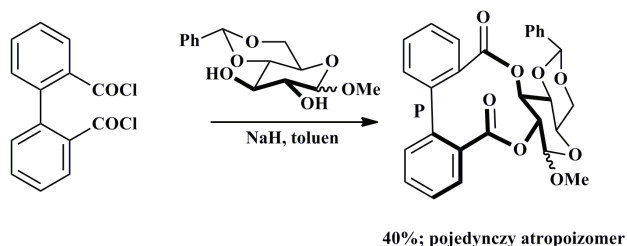


Schemat 10. Atroposelektywna reakcja *ortho* etylowania

Scheme 10. Atroposelective *ortho* ethylation

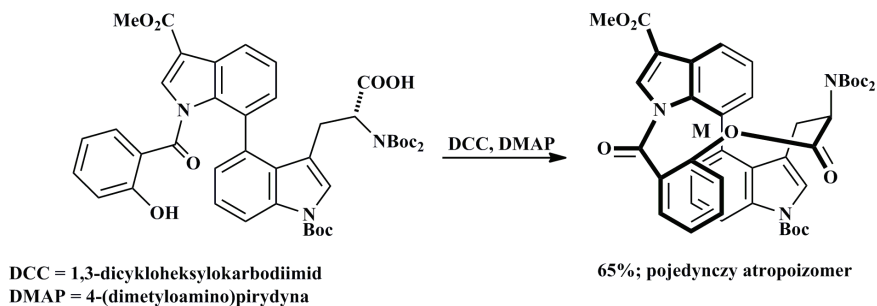
Wprowadzenie dodatkowego pierścienia w niektórych przypadkach zmniejsza możliwość obrotu wokół osi w porównaniu z układami otwartymi, dlatego jest to jedna z metod generowania trwałych osiowo biaryli z labilnych substratów. Na

przykład z racemicznej mieszaniny niestabilnych dichlorków 2,2'-dibenzoilowych w reakcji z pochodną glukopiranozy otrzymuje się optycznie czysty biarylowy produkt z cukrowym mostkiem o konfiguracji P (Schemat 11) [37].



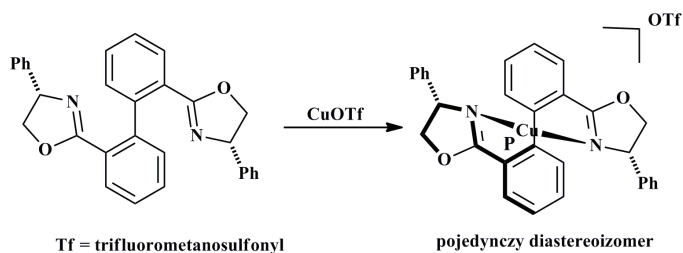
Schemat 11. Dynamiczny rozdział kinetyczny dichlorku 2,2'-dibenzoilu
Scheme 11. Dynamic kinetic resolution of 2,2'-dibenzoyl dichloride

Stosując tą metodę uzyskano naturalnie występujący produkt diazonamide A poprzez atropodiastereoselektywną makrolaktonizację. Pierścień powstał w wyniku reakcji estryfikacji grup funkcyjnych labilnego bisindolu prowadząc do pojedynczego izomeru o konfiguracji M (Schemat 12) [38]. Duży objętościowo podstawnik (grupa NBoc₂) zapewnił wyjątkową selektywność reakcji.

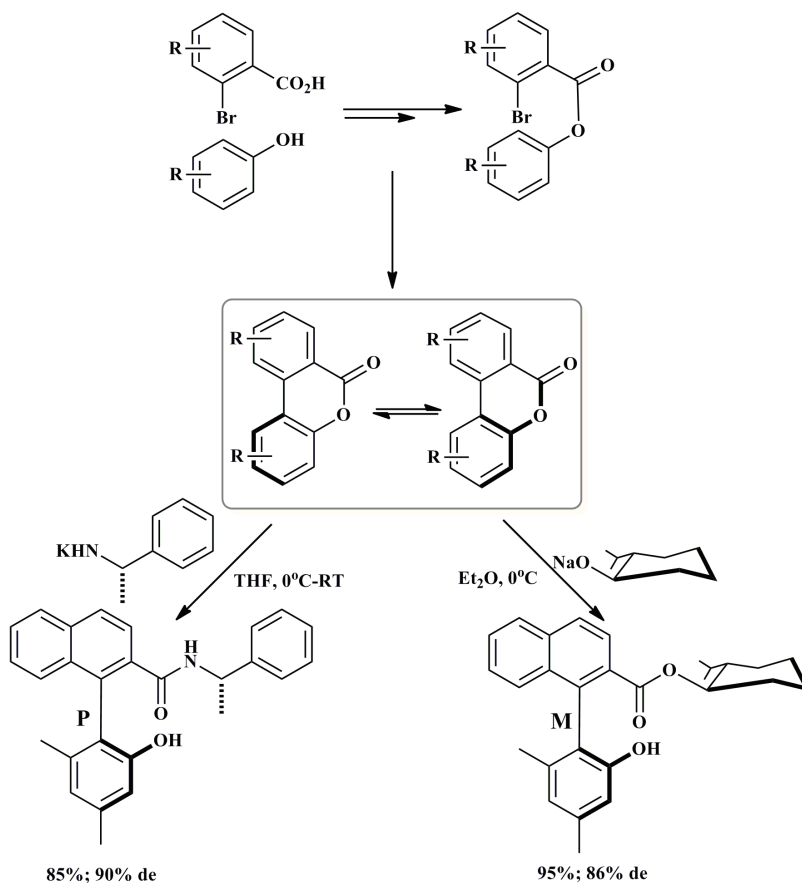


Schemat 12. Atropodiastereoselektywna synteza diazonamide A w reakcji makrolaktonizacji
Scheme 12. Atropodiastereoselective synthesis of the diazonamide A by macrolactonization

Alternatywnie rozdział kinetyczny racemicznych biaryli prowadzi się również poprzez chelatowanie metalami przejściowymi. Na przykład dodatek triflattu miedzi(I) (CuOTf) do 2,2'-bis(2-oksazolinylo)bifenylu daje pojedynczy diastereoizomer w postaci chiralnego kompleksu o konfiguracji P (Schemat 13) [39, 40].

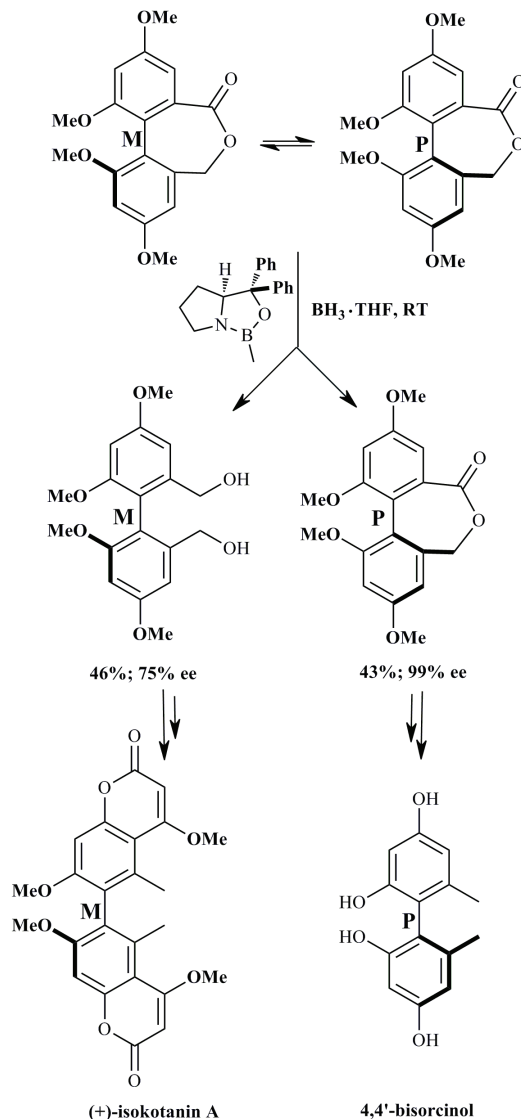


Schemat 13. Atroposelektywne mostkowanie pochodnej 2,2'-bis(2-oksazoliny)bifenylu
 Scheme 13. Atropodiastereoselective bridging of 2,2'-bis(2-oxazoliny)biphenyl derivatives



Schemat 14. Atroposelektywne otwarcie pierścienia laktonowego
 Scheme 14. Atroposelective ring opening of the lactones

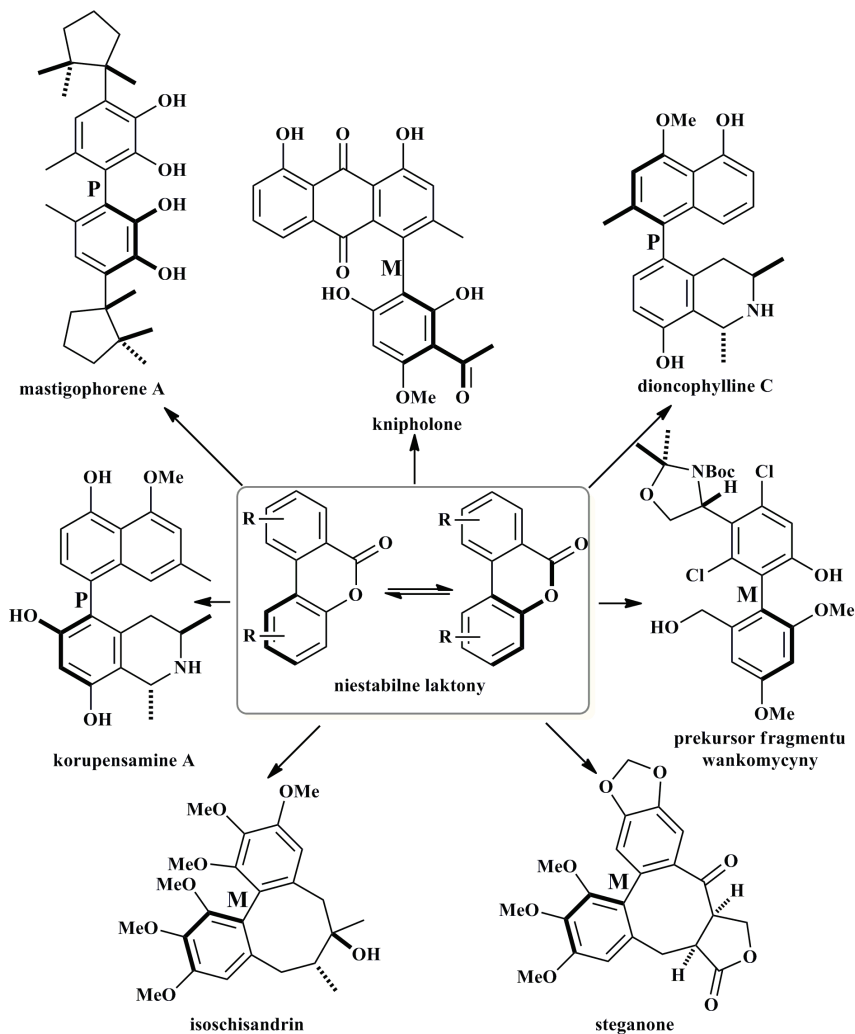
W metodzie stereoselektywnego usunięcia mostka przekształca się labilne mostkowe biaryle, najczęściej laktony, w trwałe konformacyjnie otwarto-łańcuchowe produkty. Na przykład w katalizowanej palladem nieselektywnej reakcji sprzęgania, kwasu *ortho*-bromobenzoesowego z fenolem otrzymane niestabilne laktony przekształcono w niemostkowane analogi w atroposelektywnej reakcji otwarcia pierścienia (Schemat 14). Otwarcie pierścienia może odbywać się przy udziale chiralnych nukleofili: soli potasowej (*S*)-1-fenyletyloaminy oraz (*R*)-mentolanu sodu do odpowiednich amidów oraz estrów z wysoką diastereoselektywnością [41–43].



Schemat 15. Atroposelektywna synteza (*P*)-4,4'-bisoricinolu i (+)-isokotanin A

Scheme 15. Atropoenantioselective synthesis of (*P*)-4,4'-bisoricinol and (+)-isokotanin A

Wiele biaryli otrzymanych w stereoselektywnej reakcji otwierania pierścienia stanowią prekursorzy w syntezie związków naturalnych. Na przykład, stosując metodę kinetycznego rozdziału, w wyniku selektywnej reakcji redukcji racemicznego siedmioczłonowego laktonu boranem w obecności katalizatora (S)-CBS (okszazaborolidyna) otrzymano diol o konfiguracji M i P-lakton. Uzyskany diol stanowi kluczowy reagent w syntezie (+)-isokotanin A – naturalnej bikumaryny pochodzącej z przetrwalików *Aspergillus alliaceus*. Natomiast nieprzereagowany lakton o konfiguracji P posłużył jako prekursor P-4,4'-bisorcinolu (Schemat 15) [44].



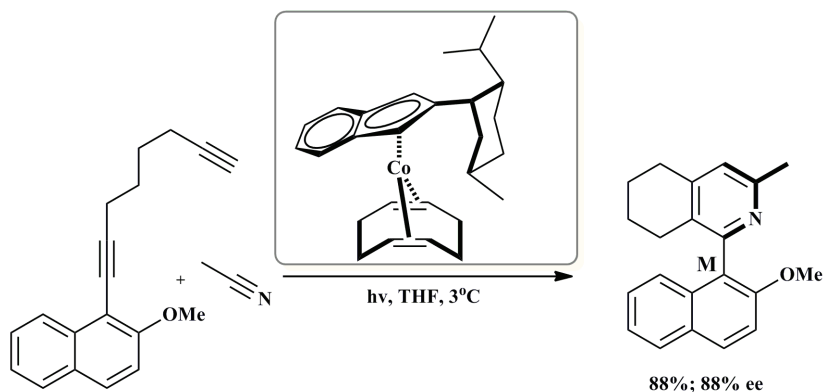
Schemat 16. Synteza chiralnych osiowo naturalnych biaryli metodą laktonową

Scheme 16. Synthesis of axially chiral biaryl natural products by lactone method

Stosując tzw. metodę laktonową można otrzymać szereg aktywnych biologicznie związków naturalnych, takich jak: steganone [45], isoschizandrin [46], korupensamine A [47, 48], mastigophorene A [49, 50], knipholone [51, 52], dioncophylline C [53] oraz prekursor w syntezie wankomycyny [54] (Schemat 16).

3.2. OTRZYMANIE CHIRALNYCH BIARYLI W ASYMETRYCZNEJ SYNTYZIE PIERŚCIENI ARYLOWYCH

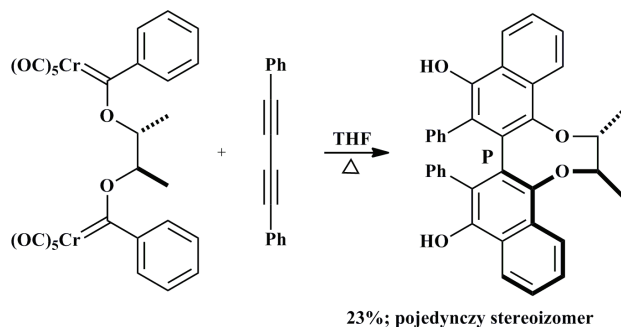
Chiralne osiowo biaryle można również otrzymać w atroposelektywnej reakcji przekształcenia alkilowego podstawnika pierścienia aromatycznego w drugi pierścień aryłowy w obecności katalizatora metaloorganicznego. Za pomocą tej metody grupa Gutnova i Hellera syntetyzowała chiralne osiowo 2-arylopirydyny w wyniku asymetrycznej [2+2+2] cykloaddycji. Do reakcji użyto 1-naftylodiynu z alkilowymi lub aryłowymi nityrami oraz chiralny związek kobaltu jako katalizator. Otrzymano M-pirydyny z dobrą wydajnością zarówno chemiczną jak i optyczną (Schemat 17) [55].



Schemat 17. Atroposelektywna synteza 1-arylo-5,6,7,8-tetrahydroizochinoliny w asymetrycznej [2+2+2] cykloaddycji

Scheme 17. Atropoenantioselective synthesis of the 1-aryl-5,6,7,8-tetrahydroisochinolines by asymmetric [2+2+2] cycloaddition

Wulff i współpracownicy przeprowadzili syntezę biaryli z wykorzystaniem kompleksów chromu (reakcja Wulffa-Dötza). W jednoetapowej reakcji karbenowych kompleksów chromu połączonych chiralnym mostkiem z pochodną buta-1,3-diynu otrzymano optycznie czysty stereoizomer o konfiguracji P (Schemat 18) [56].



Schemat 18. Synteza chiralnego osiowo biarylu w reakcji Wulffa-Dötza

Scheme 18. Synthesis of chiral axially biaryl in Wulff-Dötz reaction

UWAGI KOŃCOWE

Atropoizomery należą do izomerów konformacyjnych, które powstają dzięki zahamowanej rotacji wokół pojedynczego wiązania w związkach biarylowych. Trwałe chiralne osiowo biaryle o określonej konfiguracji występujące w przyrodzie posiadają interesujące właściwości farmakologiczne. Mają również zastosowanie jako substancje pomocnicze oraz ligandy w syntezie asymetrycznej. Szereg chiralnych czystych optycznie związków biarylowych otrzymuje się w wyspecjalizowanych atroposelektywnych metodach, na przykład w reakcjach desymetryzacji prostereogenicznych biaryli, w dynamicznym rozdziale kinetycznym niestabilnych chiralnych biaryli oraz w asymetrycznych syntezach pierścieni arylowych z fragmentów niarylowych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G. Bringmann, A.J.P. Mortimer, P.A. Keller, M.J. Gresser, J. Garner, M. Breuning, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 5384.
- [2] M.C. Kozłowski, B.J. Morgan, E.C. Linton, *Chem Soc Rev.*, 2009, **38**, 3193.
- [3] C.H. Christie, J. Kenner, *J. Chem. Soc.*, 1922, **121**, 614.
- [4] R. Kuhn, „Molekulare Asymmetrie” in *Stereochemie*, Franz-Deutike (Red.), Leipzig-Wien 1933.
- [5] G. Bringmann, T. Gulder, T.A.M. Gulder, M. Breuning, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 563.
- [6] G. Bringmann, R. Seupel, D. Feineis, G. Zhang, M. Xua, J. Wuc, M. Kaiser, R. Brun, E.-J. Seo, T. Efferth, *Fitoterapia*, 2016, **115**, 1.
- [7] G. Bringmann, A. Irmer, T. Büttner, A. Schaumlöffel, G. Zhang, R. Seupel, D. Feineis, K. Fester, *J. Nat. Prod.*, 2016, **79**, 2094.
- [8] G. Bringmann, G. Zhanga, A. Hagera, M. Moosa, A. Irmera, R. Bargoub, M. Chatterjeeb, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 5778.
- [9] G. Bringmann, B. Hertlein-Amslinger, I. Kajahn, M. Dreyer, R. Brun, H. Moll, A. Stich, K.N. Ioset, W. Schmitz, L.H. Ngoc, *Phytochemistry*, 2011, **72**, 89.

- [10] G. Bringmann, B.K. Lombe, C. Steinert, K.N. Ioset, R. Brun, F. Turini, G. Heubl, V. Mudogo, *Org. Lett.*, 2013, **15**, 11.
- [11] G. Bringmann, A. Irmer, S. Rüdener, J. Mutanyatta-Comar, R. Seupel, D. Feineis, *Tetrahedron*, 2016, **72**, 2906.
- [12] G. Bringmann, N. Manchala, T. Büttner, B. Hertlein-Amslinger, R. Seupel, *Chem. Eur. J.*, 2016, **22**, 1.
- [13] R. Seupel, B. Hertlein-Amslinger, T. Gulder, P. Stawski, M. Kaiser, R. Brun, G. Bringmann, *Org. Lett.*, 2016, **18**, 6508.
- [14] G. Bringmann, C. Günther, M. Ochse, O. Schupp, S. Tasler, *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Springer-Verlag, Wien, New York 2001.
- [15] A.K. Coulter, L.M. Clemens, *J. Phys. Chem.*, 1964, **68**, 651.
- [16] A.S. Cooke, M.M. Harris, *J. Chem. Soc.*, 1963, 2365.
- [17] C. Wolf, W.A. König, C. Roussel, *Liebigs Ann.*, 1995, 781.
- [18] A.I. Meyers, R. J. Himmelsbach, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 682.
- [19] R.W. Baker, Z. Brkic, M.V. Sargent, B.W. Skelton, A.H. White, *Aust. J. Chem.*, 2000, **53**, 925.
- [20] G. Bringmann, K. Messer, K. Wolf, J. Mühlbacher, M. Grüne, R. Brun, A.M. Louis, *Phytochemistry*, 2002, **60**, 389.
- [21] N. Hasaka, M. Okigawa, I. Kouno, N. Kawano, *Bull. Chem. Soc., Jpn.* 1982, **55**, 3828.
- [22] L. Meca, D. Řeha, Z. Havlas, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 5677.
- [23] K. Mislow, M.A.W. Glass, H.B. Hopps, E. Simon, G.H.Jr. Wahl, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 1710.
- [24] G. Bott, L.D. Field, S. Sternhell, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 5618.
- [25] K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, G. Bringmann, T. Hartung, O. Schupp, *Z. Kristallogr.*, 1992, **202**, 271.
- [26] G. Bringmann, T. Hartung, L. Göbel, O. Schupp, C.L.J. Ewers, B. Schöner, R. Zagst, K. Peters, H.G. von Schnering, C. Burschka, *Liebigs Ann. Chem.*, 1992, 225.
- [27] G. Bringmann, M. Heubes, M. Breuning, L. Göbel, M. Ochse, B. Schöner, O. Schupp, *J. Org. Chem.* 2000, **65**, 722.
- [28] G. Bringmann, M. Breuning, H. Endress, D. Vitt, K. Peters, E.- M. Peters, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 10677.
- [29] G. Bringmann, P. A. Keller, K. Rölting, *Synlett*, 1994, 423.
- [30] M. Hatsuda, H. Hiramatsu, S. Yamada, T. Shimizu, M. Seki, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 4437.
- [31] S. Superchi, D. Casarini, A. Laurita, A. Bavoso, C. Rosini, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 451.
- [32] R. Adams, N. Kornblum, *J. Am. Chem. Soc.*, 1941, **63**, 188.
- [33] K. Mislow, S. Hyden, H. Schaefer, *J. Am. Chem. Soc.*, 1962, **84**, 1449.
- [34] T. Harada, S. Ueda, T. Yoshida, A. Inoue, M. Takeuchi, N. Ogawa, A. Oku, M. Shiro, *J. Org. Chem.*, 1994, **59**, 7575.
- [35] T. Matsumoto, T. Konegawa, T. Nakamura, K. Suzuki, *Synlett*, 122, 2002.
- [36] F. Kakiuchi, P. Le Gendre, A. Yamada, H. Ohtaki, S. Murai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 2647.
- [37] G. Capozzi, C. Ciampi, G. Delogu, S. Menichetti, C. Nativi, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 8787.
- [38] K.S. Feldman, K.J. Eastman, G. Lessene, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 3525.
- [39] Y. Imai, W. Zhang, T. Kida, Y. Nakatsuji, I. Ikeda, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 2681.
- [40] Y. Imai, W. Zhang, T. Kida, Y. Nakatsuji, I. Ikeda, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 3326.
- [41] G. Bringmann, T. Hartung, L. Göbel, O. Schupp, C.L.J. Ewers, B. Schöner, R. Zagst, K. Peters, H.G. Von Schnering, C. Burschka, *Liebigs Ann. Chem.*, 1992, 225.
- [42] K. Kamikawa, K. Norimura, M. Furusyo, T. Uno, Y. Sato, A. Konoo, G. Bringmann, M. Uemura, *Organometallics*, 2003, **22**, 1038.

- [43] K. Kamikawa, M. Furusyo, T. Uno, Y. Sato, A. Konoo, G. Bringmann, M. Uemura, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 3667.
- [44] G. Bringmann, J. Hinrichs, P. Henschel, J. Kraus, K. Peters, E.-M. Peters, *Eur. J. Org. Chem.*, 2002, 1096.
- [45] H. Abe, S. Takeda, T. Fujita, K. Nishioka, Y. Takeuchi, T. Harayama, *Tetrahedron Lett.*, 2004, **45**, 2327.
- [46] G.A. Molander, K.M. George, L.G. Monovich, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 9533.
- [47] G. Bringmann, M. Ochse, *Synlett*, 1998, 1294.
- [48] G. Bringmann, M. Ochse, R. Götz, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 2069.
- [49] G. Bringmann, J. Hinrichs, T. Pabst, P. Henschel, K. Peters, E.-M. Peters, *Synthesis*, 2001, 155.
- [50] Bringmann G., Pabst T., Henschel P., Kraus J., Peters K., Peters E.-M., D. S. Rycroft, J. Connolly, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, **9127**, 2000.
- [51] G. Bringmann, D. Menche, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 1687.
- [52] G. Bringmann, D. Menche, J. Kraus, J. Mühlbacher, K. Peters, E.-M. Peters, R. Brun, M. Bezabih, B.M. Abegaz, *J. Org. Chem.*, 2002, **67**, 5595.
- [53] G. Bringmann, J. Holenz, R. Weirich, M. Rübenacker, C. Funke, M.R. Boyd, R.J. Gulakowski, G. François, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 497.
- [54] G. Bringmann, D. Menche, J. Mühlbacher, M. Reichert, N. Saito, S.S. Pfeiffer, B.H. Lipshutz, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 2833.
- [55] A. Gutnov, B. Heller, C. Fischer, H.-J. Drexler, A. Spannenberg, B. Sundermann, C. Sundermann, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 3795.
- [56] J. Bao, W.D. Wulff, M.J. Fumo, E.B. Grant, D.P. Heller, M.C. Whitcomb, S.-M. Yeung, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 2166.

Praca wpłynęła do Redakcji 4 lutego 2017

ATROPOSELEKTYWNA SYNTEZA NATURALNYCH CHIRALNYCH OSIOWO ZWIĄZKÓW BIARYLOWYCH. CZĘŚĆ II

ATROPOSELECTIVE SYNTHESIS OF NATURAL AXIALLY CHIRAL BIARYL COMPOUNDS. PART II

**Renata Kołodziejska¹, Agnieszka Tafelska-Kaczmarek²,
Renata Studzińska³**

¹ *Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK Toruń
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

² *Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemii, UMK Toruń
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń*

³ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK Toruń
ul. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz*

Abstract

Wprowadzenie

1. Atroposelektywna wewnątrzcząsteczkowa reakcja sprzęgania.
2. Atroposelektywna międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania.
 - 2.1. Międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania z chiralnym *orto* podstawnikiem
 - 2.2. Międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania z chiralną grupą opuszczającą
 - 2.3. Międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania z chiralnym związkiem kompleksowym
 - 2.4. Międzycząsteczkowa reakcja oksydacyjnego sprzęgania
 - 2.5. Międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania w neutralnych warunkach redoks

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

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

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

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

ABSTRACT

A direct aryl-aryl coupling reaction is the most common method for the synthesis of axially chiral biaryls. Atroposelective coupling can be accomplished by three main strategies (Scheme 1) [1, 11]:

- a) intramolecular coupling reaction between two aryl substrates by the use of the chiral tether as a source of asymmetric information (Scheme 2),
- b) intermolecular reaction of the modified aryl compounds containing a chiral auxiliary. A source of chiral information can be a planar-chiral element, the chiral leaving group, and the chiral *ortho* substituent (Scheme 12, 16, 17),
- c) intermolecular coupling in the presence of chiral additives, for example, stoichiometric or catalytic oxidation in the presence of the transition metal complexes containing chiral ligands, and the redox-neutral coupling reactions catalyzed by transition metal complexes with chiral bidentate N/P-ligands (Scheme 18, 20–22).

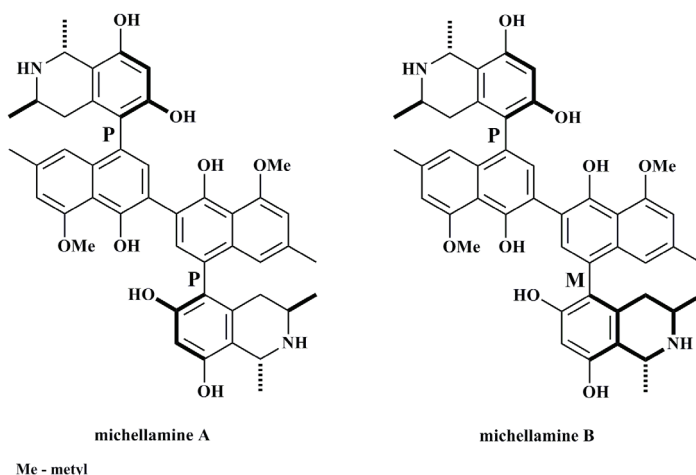
These methods have been applied in the synthesis of various biologically active compounds. For example, Lipshutz et al. obtained a fragment of the antibiotic vancomycin [15], and *O*-permethyltellimagrandin II [16]. Lin and coworkers synthesized (P)-kotanin [17], the natural metabolite from *Aspergillus glaucus* (Scheme 3). Waldvogel and coworkers [19] received steganacin derivative, a cytostatic drug (Scheme 5). Coleman et al. in the oxidative dimerization reaction of aryls with a chiral *ortho* substituents obtained a precursor in the synthesis of calphostin A (Scheme 8) [26]. Meyers and coworkers [27, 28] applied the Ullmann homocoupling for the synthesis of gossypol (Scheme 9). The oxidative coupling of phenols allows to obtain the natural precursor of nigerone (Scheme 13) [42]. Whereas the calphostin [18] derivative, an inhibitor of protein kinase C, was obtained by the oxidative coupling reaction (Scheme 4). The schizandrin [23] from *Schisandra chinensis* and isodiospyrin [24] from *Diospyros morrisiana* were obtained by intermolecular coupling reaction of aryl substrates with the chiral *ortho* substituents (Scheme 7).

Keywords: axially chiral biaryls, intramolecular coupling, intermolecular coupling

Słowa kluczowe: chiralne osiowo biaryle, wewnątrzcząsteczkowa reakcja sprzęgania, międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania

WPROWADZENIE

Chiralne osiowo biaryle dzięki zahamowanej rotacji wokół pojedynczego wiązania arylowo-arylowego wykazują czynność optyczną pomimo braku centrów stereogenicznych. Jest to zatem nietypowy rodzaj izomerii konformacyjnej uwarunkowany występowaniem stabilnych w temperaturze pokojowej dwóch różnych form konformacyjnych. Co ciekawe związki te o często skomplikowanej budowie z łatwością są syntetyzowane w przyrodzie. Dlatego izolowanie z materiałów biologicznych jest jedną z metod pozyskiwania chiralnych osiowo związków biarylowych szczególnie tych, które posiadają interesujące, z punktu widzenia farmakologii, właściwości takie jak: przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciw pasożytnicze, przeciwnowotworowe, fitotoksyczne, cytotoksyczne, przeciwwirusowe oraz anty-HIV [1–10]. Na Rysunku 1 przedstawiono wzory dwóch dimerycznych form chiralnego biarylu – michellamine A i B – o aktywności anty-HIV [4].



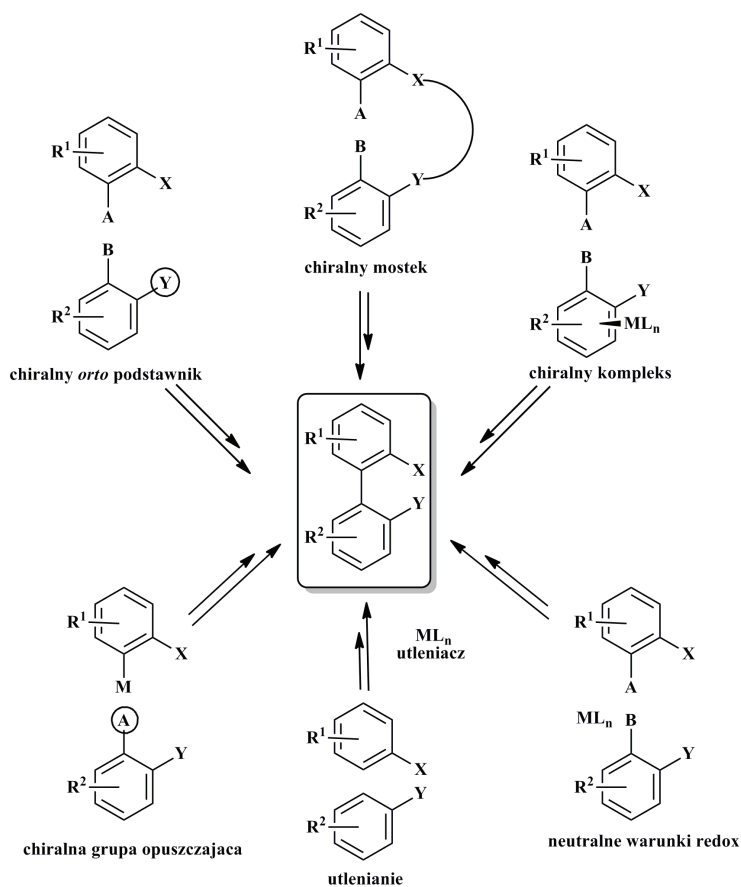
Rysunek 1. Struktura michellamine A i B

Figure 1. The structure of michellamine A and B

Alternatywną metodą pozyskiwania chiralnych osiowo biaryli aktywnych biologicznie jest asymetryczna synteza organiczna. Najczęściej przeprowadza się klasyczną atroposelektywną reakcją sprzężenia arylowo-arylową inter- lub intramolekularną pomiędzy odpowiednio zmodyfikowanymi dwoma fragmentami aryłowymi. Tego typu reakcje sprzężenia mogą zostać zrealizowane według trzech głównych strategii (Schemat 1) [1, 11]:

- a) wewnątrzcząsteczkowej reakcji sprzężenia pomiędzy dwiema jednostkami aryłowymi z wykorzystaniem chiralnej „uwięzi” (mostka) jako źródła asymetrycznej informacji,
- b) międzycząsteczkowej reakcji sprzężenia zmodyfikowanych związków arylowych zawierających chiralny związek pomocniczy. Chiralne źródło infor-

- macji może stanowić planarnie chiralny element (związek kompleksowy z metalami przejściowymi), chiralna grupa opuszczająca oraz chiralny podstawnik w pozycji *ortho* względem wiązania docelowego,
- c) międzycząsteczkowej reakcji sprzęgania w obecności chiralnych substancji dodatkowych. Na przykład stechiometryczne lub katalityczne reakcje utleniania w obecności metali przejściowych użytych w postaci związków kompleksowych zawierających chiralne ligandy oraz reakcje sprzęgania w neutralnych warunkach redoks z katalityczną ilością kompleksów metali przejściowych z chiralnymi dwukleszczowymi N/P-ligandami.

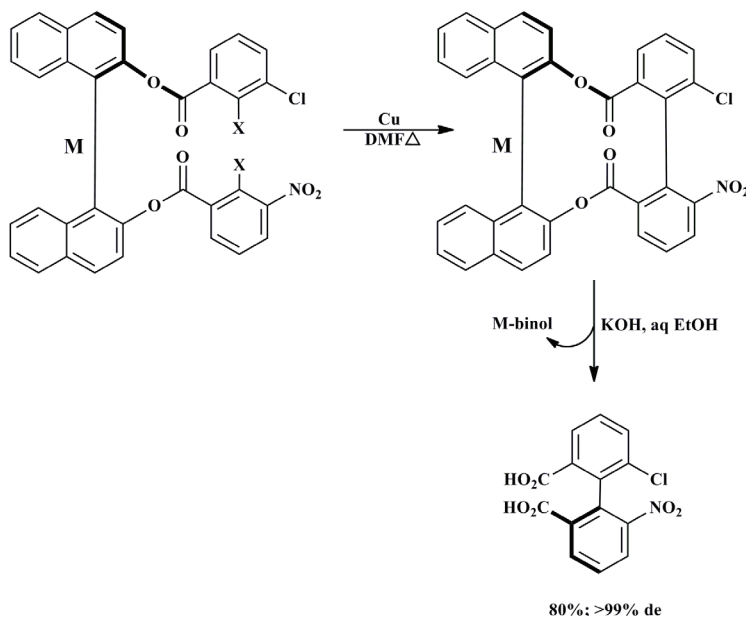


Schemat 1. Atroposelektywna synteza chiralnych osiowo biaryli [1]

Scheme 1. Atroposelective synthesis of biaryl axes [1]

1. ATROPOSELEKTYWNA WEWNĄTRZCZĄSTECZKOWA REAKCJA SPRZĘGANIA

Wewnątrzcząsteczkowa reakcja sprzęgania dwóch jednostek arylowych za pomocą chiralnego mostka (pętli, uwięzi) prowadzi do chiralnych, homo- lub krzyżowych produktów sprzęgania o wysokiej czystości enancjomerycznej. W etapie pierwszym tworzy się wiązanie docelowe a następnie usuwa się „uwięź”, która posłużyła jako układ pomocniczy w indukowaniu asymetrii. Po raz pierwszy wykorzystano tą metodę do otrzymania biarylu w 1980 roku [12–14]. Rolę pomocnika chiralnego pełnił 1,1'-bi(2-naftol) (binol) o konfiguracji M, który został połączony za pomocą mostka diestrowego z halogenkami aryłowymi. Wewnątrzcząsteczkowa reakcja aromatycznej substytucji nukleofilowej (S_N2Ar) arylowych halogenków w obecności miedzi (kondensacja Ullmana) umożliwia utworzenie nowego wiązania C-C z jednoczesną indukcją asymetryczną. Hydroliza wiązań estrowych prowadzi do czystego optycznie biarylu z nowo powstałym wiązaniem C-C oraz do odzyskania biarylu pomocniczego (M-binolu) pełniącego kluczową rolę w generowaniu asymetrii (Schemat 2).

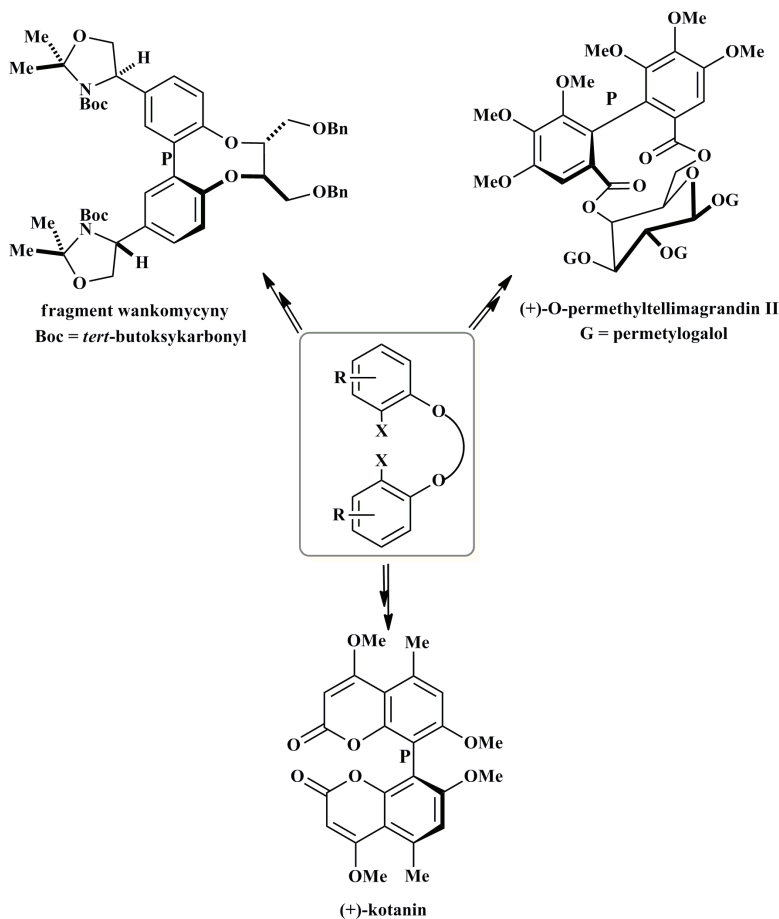


Schemat 2. Atroposelektywna synteza biarylowych dikwasów za pomocą wewnątrzcząsteczkowej reakcji sprzęgania Ullmanna [14]

Scheme 2. Atroposelective preparation of the biaryl diacids by Ullmann coupling [14]

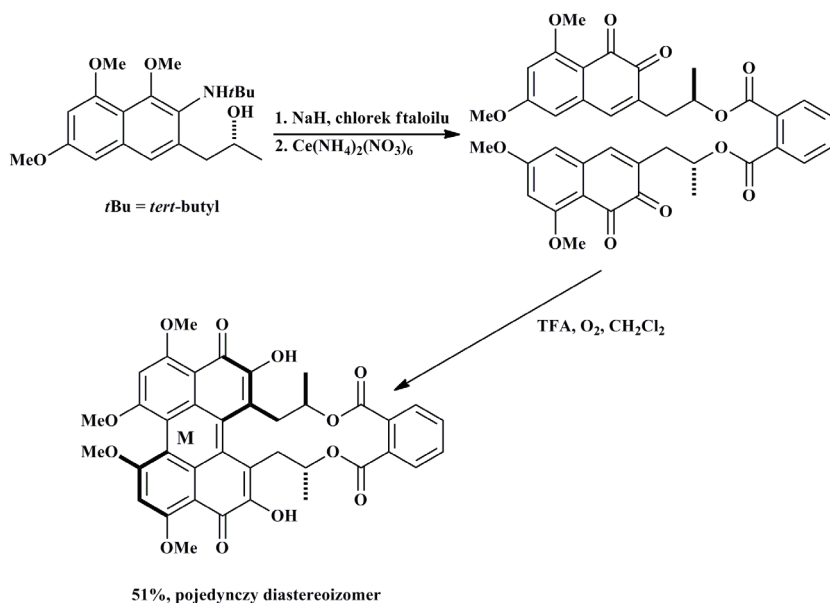
Metoda ta znalazła zastosowanie w syntezie związków biologicznie czynnych. Na przykład Lipshutz i współautorzy otrzymali fragment antybiotyku wankomycyny o konfiguracji P [15] oraz *O*-permethyltellimagrandin II [16] występujący w przy-

rodzie związków naturalny należący do polifenoli z grupy ellagitannin. Natomiast Lin i współpracownicy syntetyzowali P-kotanin [17] naturalny metabolit z *Aspergillus glaucus* o właściwościach owadobójczych (Schemat 3).



Schemat 3. Zastosowanie dieterowej chiralnej uwięzi w syntezie naturalnych związków biarylowych
Scheme 3. Use of diethers in the atroposelective synthesis of biaryl natural products

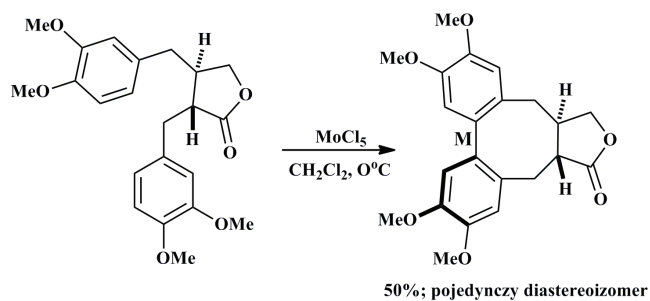
Uzyskanie optycznie czystych chiralnych osiowo biaryli w wewnątrzcząsteczkowej reakcji sprzęgania z wykorzystaniem chiralnej „uwięzi” często jest wynikiem tzw. oksydacyjnego sprzęgania. Ten typ transformacji jest bardzo atrakcyjny ze względu na użycie stabilnego i przyjaznego dla środowiska tlenu cząsteczkowego jako utleniacza. Na przykład w reakcji oksydacyjnego sprzęgania otrzymano perylenochinon – pochodną calphostin – inhibitora kinazy białkowej C [18]. W tym celu utleniono (*R,R*) bis(*orto*-naftalenochinon) syntetyzowany z mostkowanych chlorkiem ftaloilu naftalenów. Uzyskano fitoaktywny wytwarzany przez chorobotwórcze grzyby, M-perylenochinon w postaci pojedynczego diastereoizomeru (Schemat 4).



Schemat 4. Atropodistereoselektywna synteza calphostin

Scheme 4. Atropodistereoselective synthesis of the calphostin

Atroposelektywna wewnątrzcząsteczkowa reakcja oksydacyjnego sprzężania umożliwia także syntezę naturalnych związków należących do grupy lignanów. Waldvogel i współpracownicy [19] otrzymali jeden z lignanów, pochodną steganacyny, leku cytostatycznego, w postaci pojedynczego diastereoizomeru o konfiguracji M (Schemat 5). Zamiast tlenu w roli utleniacza zastosowano pentachlorek molibdenu.



Schemat 5. Atropodistereoselektywna synteza pochodnej steganacyny

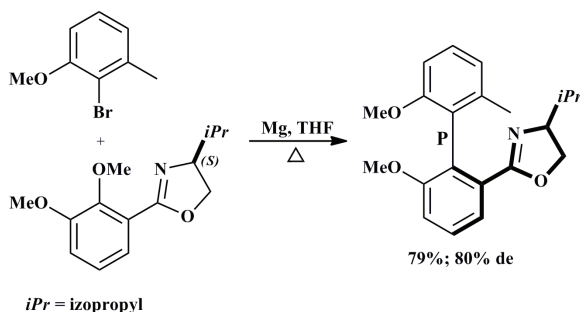
Scheme 5. Atropodistereoselective synthesis of the steganacin derivative

2. ATROPOSELEKTYWNA MIĘDZYCZĄSTECZKOWA REAKCJA SPRZĘGANIA

Intermolekularna reakcja jest jedną z najczęściej stosowanych metod sprzęgania w asymetrycznej syntezie chiralnych osiowo związków biarylowych. W reakcji homosprzęgania jak i sprzęgania krzyżowego z chiralną informacją znajdującą się w pobliżu osi (chiralny *orto* podstawnik, chiralna grupa opuszczająca oraz chiralny aryłowy związek kompleksowy) lub w postaci chiralnego katalizatora w układzie reakcyjnym (oksydacyjne sprzęganie i w neutralnych warunkach redoks) dostarcza atropoizomerów z wysokimi nadmiarami enancjo- i diastereoizomerycznymi.

2.1. MIĘDZYCZĄSTECZKOWA REAKCJA SPRZĘGANIA Z CHIRALNYM *ORTO* PODSTAWNIKIEM

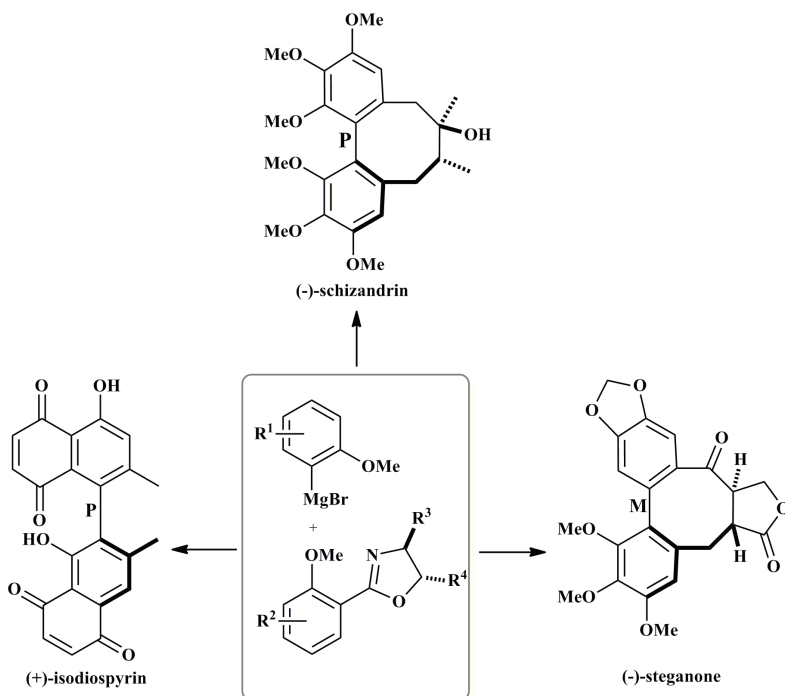
Międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania z chiralnym *orto* podstawnikiem w porównaniu z wewnątrzcząsteczkową reakcją sprzęgania nie wymaga modyfikacji chemicznej dwóch reszt aryłowych. Ponadto chiralna informacja znajduje się w pobliżu osi, w pozycji *orto* od miejsca sprzęgania. Reakcja przebiega według mechanizmu S_N2Ar . Na przykład sprzęganie chiralnego *orto*-metoksyarenu z aryłowym odczynnikiem Grignarda prowadzi do biarylu z wysoką atroposelektywnością z przewagą jednego z możliwych diastereoizomerów (Schemat 6). Znajdujący się w pozycji *orto* względem grupy metoksylowej (miejsca sprzęgania) pierścień oksazolinowy indukuje chiralność w utworzonym biarylu oraz ułatwia atak nukleofilowy poprzez stabilizację ładunku ujemnego [20–22].



Schemat 6. Synteza chiralnego osiowo bifenylu w reakcji S_N2Ar w obecności pierścienia oksazolinowego [21]
Scheme 6. Synthesis of axially chiral biphenyl by S_N2Ar reaction of oxazolinylbenzene derivative [21]

Metodę tą wykorzystano do syntezy kilku związków naturalnych oraz ich pochodnych. Niektóre z nich przedstawiono na Schemacie 7. Na przykład schizandrin [23], substancję naturalną znajdującą się w owocach *Schisandra chinensis*, stosowaną od wielu lat w medycynie chińskiej jako środek wzmacniający nerki i mózg oraz isodiospyrin [24], naturalny produkt pochodzący z rośliny *Diospyros*

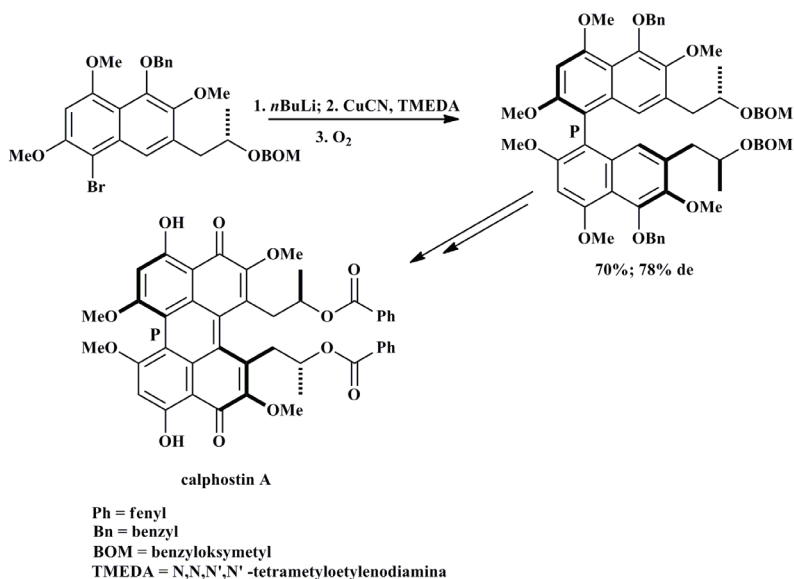
morrissiana, wykazujący działanie cytotoksyczne na linie komórek nowotworowych. Sprzężanie odpowiednich arylowych związków Gringarda i halogenków arylowych umożliwiło otrzymanie atropoizomerów o konfiguracji P, nie występujących naturalnie. W ten sam sposób otrzymano również M-steganone [25], izolowany z *Steganotaenia araliacea* wykazujący aktywność *in vivo* wobec białaczki na myszach oraz *in vitro* wobec komórek nowotworowych pochodzących z nosogardzieli.



Schemat 7. Naturalne chiralne związki biarylowe otrzymane w reakcji arylowych odczynników Gringarda i arylowych pochodnych oksazolinowych

Scheme 7. Biaryl natural products prepared by nucleophilic aromatic substitution of aryl Grignard reagents on aryl oxazolines

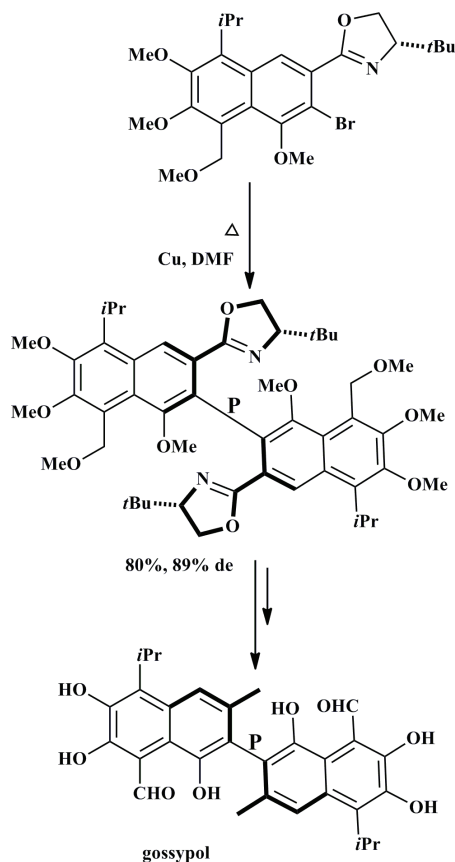
Natomiast Coleman i współpracownicy poddali oksydacyjnej dimeryzacji pochodną naftalenu z chiralnym podstawnikiem oddalonym w pozycji *orto* od centrum reakcji. W obecności *n*BuLi i CuCN otrzymali z dobrą wydajnością biaryl, który posłużył jako prekursor w syntezie calphostin A (Schemat 8) [26]. Podobnie jak w przypadku schizandrin oraz isodiospyrin otrzymano w przewadze izomer o konfiguracji przeciwnej niż ten występujący naturalnie.



Schemat 8. Atroposelektywna synteza calphostin A

Scheme 8. Atroposelective synthesis of calphostin A

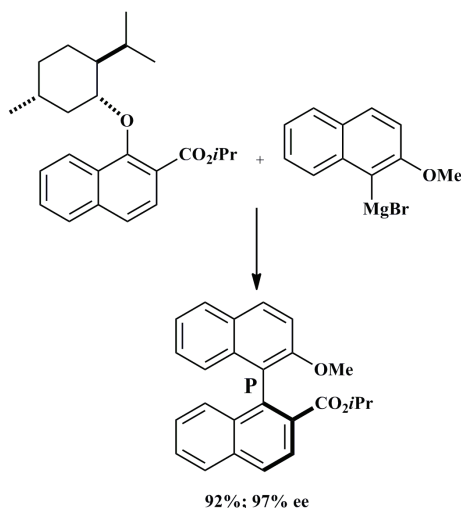
Wykorzystując reakcję homosprzęgania Ullmana, Meyers i współautorzy [27, 28] otrzymali inny związek naturalny gossypol – pigment występujący w roślinach z gatunku *Gossypium*. Zastosowali jako pomocnik chiralny *tert*-butyloksazolinę znajdującą się w pozycji *orto* względem wiązania docelowego uzyskując z wysoką wydajnością i 89% de biaryl, z którego otrzymano P-gossypol (Schemat 9). Związek ten wykazuje aktywność przeciwwirusową, przeciwnowotworową oraz przeciwgrzybiczą.



Schemat 9. Atroposelektywna synteza gossypol
 Scheme 9. Atroposelective synthesis of gossypol

2.2. MIĘDZYCZĄSTECZKOWA REAKCJA SPRZĘGANIA Z CHIRALNĄ GRUPĄ OPUSZCZAJĄCĄ

Biaryle można również syntetyzować w reakcji substytucji nukleofilowej jednostek arylowych z użyciem chiralnej grupy opuszczającej jako źródła informacji asymetrycznej. Generalnie sprzęga się aryłowe związki Grignarda z chiralnie zmodyfikowanymi alkoksyarenami lub sulfotlenkami aryłu. Jako chiralną grupę opuszczającą często stosuje się (*R*)-mentol. Na przykład w reakcji izopropylu 1-(*R*)-mentoksynaftaleno-2-karboksylanu z odpowiednim związkiem Grignarda otrzymano bisnaftyłową pochodną z wysokim nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 10) [29].

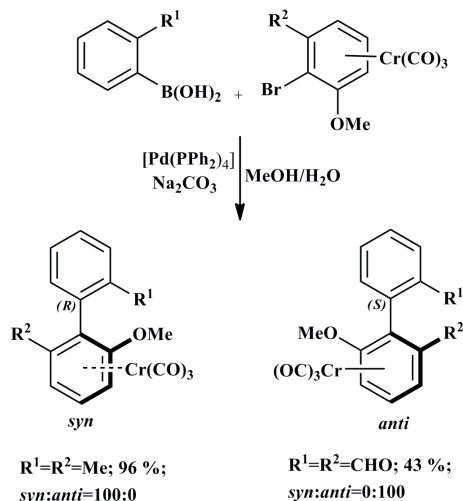


Schemat 10. Atroposelektywna synteza biarylu w reakcji S_N2Ar z chiralnie zmodyfikowanym 1-(*R*)-mentoksynaftalenem

Scheme 10. Atroposelective biaryl synthesis by S_N2Ar on the chirally modified 1-(*R*)-menthoxy naphthalene

2.3. MIĘDZYCZĄSTECZKOWA REAKCJA SPRZĘGANIA Z CHIRALNYM ZWIĄZKIEM KOMPLEKSOWYM

Innym sposobem utworzenia wiązania C-C w bezpośredniej atroposelektywnej syntezie jest międzycząsteczkowa reakcja sprzęgania z zastosowaniem chiralnych planarnie związków kompleksowych metali przejściowych. Unemura i współpracownicy zastosowali chiralny [(aren)Cr(CO)₃] kompleks do reakcji sprzęgania z kwasem fenylboronowym (sprzęganie Suzuki) katalizowanej [Pd(PPh)₄]. Otrzymano biaryle *syn* lub *anti* z wysoką atropodiastereoselektywnością (Schemat 11) [30–32].



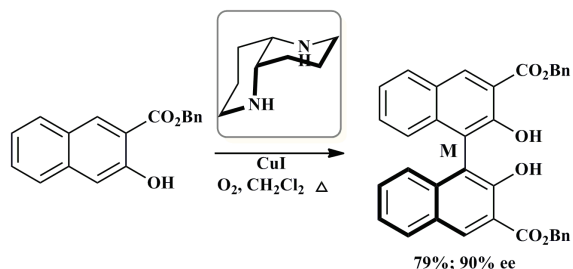
Schemat 11. Atropodiastereoselektywna reakcja krzyżowego sprzężenia Suzuki kwasów fenylboronowych z chiralnym związkiem kompleksowym [(aren)Cr(CO)₃]

Scheme 11. Atropodistereoselective Suzuki coupling of the phenylboronic acids with the planar-chiral [(arene)Cr(CO)₃] complexes

Chiralny planarnie kompleks [(aren)Cr(CO)₃] został użyty do atroposelektywnej syntezy fragmentu AB wankomycyny, naturalnie występującego M-steganone oraz P-korupensamine A [33–36].

2.4. MIĘDZYCZĄSTECZKOWA REAKCJA OKSYDACYJNEGO SPRZĘGANIA

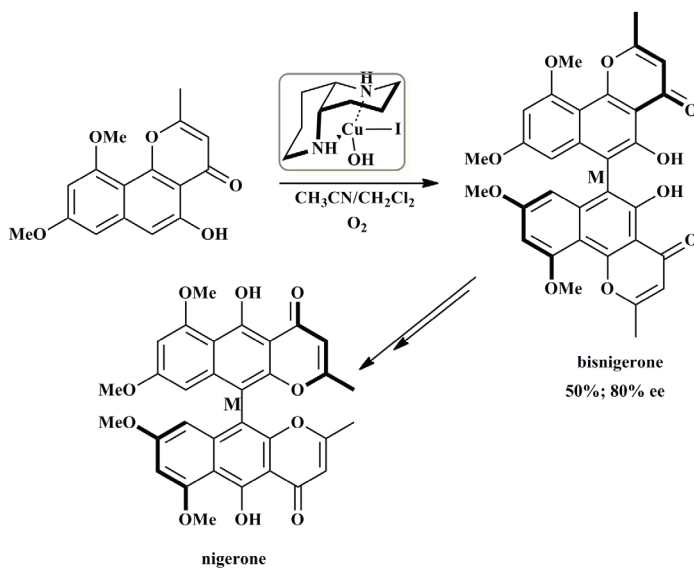
Sprzężanie oksydacyjne fenoli jest jednym z najbardziej popularnych sposobów otrzymania homogenicznych biaryli. Intermediatem w reakcji jest rodnik fenoksyloxy. Informacja asymetryczna może znajdować się w chiralnych *orto*-podstawnikach, chiralnej „uwięzi” lub w dodawanych do układu reakcyjnego chiralnych katalizatorach. Synteza biaryli opublikowana przez Kozłowski i współpracowników [37, 38] jest przykładem reakcji sprzężania, w której chiralny katalizator został wprowadzony do mieszaniny reakcyjnej. W reakcji użyto (*S,S*)-1,5-diazadekalinę i CuI oraz tlen jako utleniacz. W takich warunkach homosprzężanie pochodnych 2-naftolu prowadzi do produktu o konfiguracji M z dobrą wydajnością i wysokim nadmiarem enanjomerycznym (Schemat 12).



Schemat 12. Oksydacyjna reakcja homosprzęgania naftoli katalizowana miedzią w obecności chiralnej aminy i tlenu jako utleniacza

Scheme 12. Copper-catalyzed oxidative homocoupling of 2-naphthols in the presence of the chiral diamine and O₂

Katalizator miedziowy użyty przez Kozłowski i innych okazał się niezwykle skuteczny w atroposelektywnym oksydacyjnym sprzęganiu. Innym wariantem katalizatora miedziowego w sprzęganiu prostych 2-naftoli jest salenowy kompleks miedzi. Gao i współpracownicy otrzymali w obecności tego kompleksu binol z wysoką wydajnością (95%; 88% ee) [39]. W ostatnim czasie, obok katalizatorów miedziowych, stosuje się wanad oraz żelazo w oksydacyjnym sprzęganiu naftoli. Generalnie katalizatory z miedzią mogą być stosowane dla substratów ubogich w elektrony, z różnymi podstawnikami w pierścieniu arylowym. Reakcja sprzęgania 2-naftoli w obecności katalizatorów wanadowych lub żelazowych wymaga bogatych w elektrony substratów [1].



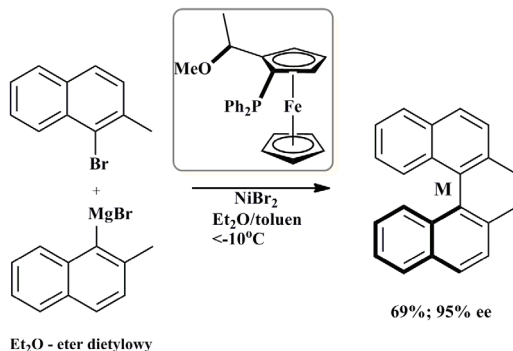
Schemat 13. Atroposelektywna synteza nigerone

Scheme 13. Atroposelective synthesis of the nigerone

Oksydacyjne sprzężenie fenoli umożliwia otrzymanie związków pośrednich w syntezie naturalnie występujących alkaloidów z rodziny *Erythrina*, pochodnych morfiny [40, 41] oraz prekursora naturalnego bisnaftylopironu – nigerone – Schemat 13 [42]. Homosprzężanie odpowiedniej pochodnej naftolu stanowi kluczowy, ze względu na stereochemię reakcji, etap syntezy perylenochinonu [43].

2.5. MIĘDZYCZĄSTECZKOWA REAKCJA SPRZĘGANIA W NEUTRALNYCH WARUNKACH REDOKS

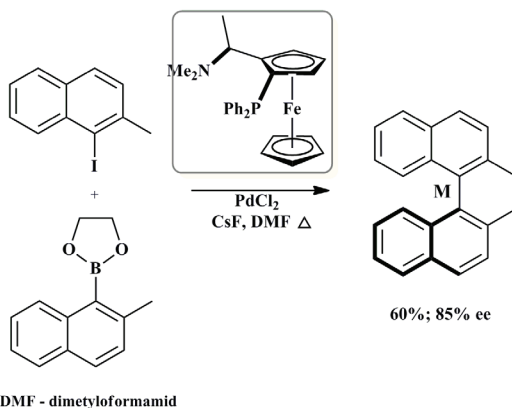
Sprzężanie biarylowe w neutralnych warunkach redoks jest powszechnie stosowane w nieselektywnych syntezach biaryli, przede wszystkim dlatego, że reakcja przebiega w łagodnych warunkach i umożliwia otrzymanie w regioselektywnym sprzężeniu krzyżowym biaryli z dwóch różnych jednostek aromatycznych. Dodatek do układu nośnika chiralnej informacji w postaci chiralnych P,N-ligandów indukuje asymetrię, a tym samym prowadzi do atroposelektywnej reakcji sprzężania. Najczęściej reakcja przebiega pomiędzy aryłowymi halogenkami i aryłowymi związkami Grignarda w obecności kompleksów niklu (krzyżowe sprzężanie Kumada) oraz związkami boroorganicznymi i halogenkami arylu w obecności kompleksów palladu (krzyżowe sprzężanie Suzuki). Na przykład biaryl na Schemacie 14 otrzymano w reakcji sprzężania Kumada z wysokim nadmiarem enancjomerycznym w obecności ≤ 5 mol% NiBr_2 oraz chiralnej ferrocenylo-fosfiny (Schemat 14) [44, 45].



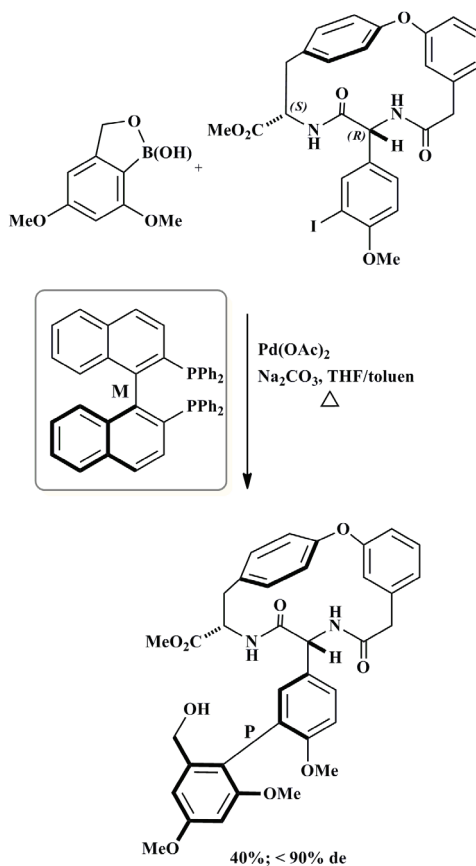
Schemat 14. Krzyżowa reakcja sprzężania Kumada katalizowana związkiem niklu

Scheme 14. Nickel-catalyzed Kumada cross-coupling

Natomiast bis-*orto*-podstawione pochodne binaftyli o wysokiej atroposelektywności uzyskano w reakcji sprzężania Suzuki cyklicznego estru kwasu aryloborowego z *orto*-podstawionym halogenkiem arylu katalizowanej PdCl_2 z chiralnym ligandem – dwukleszczową pochodną ferrocenu (Schemat 15) [46, 47].



Schemat 15. Krzyżowa reakcja sprzęgania Suzuki katalizowana związkiem palladu
 Scheme 15. Palladium-catalyzed Suzuki cross-coupling



Schemat 16. Atroposelektywna synteza biarylowego fragmentu wankomycyny
 Scheme 16. Atroposelective synthesis of the biaryl fragment of vancomycin

Asymetryczną reakcję krzyżowego sprzęgania według Suzuki wykorzystano w celu otrzymania fragmentu wankomycyny o wysokiej czystości enancjomerycznej. Reakcję przeprowadzono pomiędzy odpowiednim jodoarylem i cyklicznym kwasem borowym w obecności $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ z chiralnym ligandem M lub P-binapem [48]. W zależności od konfiguracji chiralnego modyfikatora uzyskano w przewadze jeden z atropoizomerów (Schemat 16).

UWAGI KOŃCOWE

Atroposelektywna reakcja sprzęgania chiralnych osiowo biaryli dostarcza wiele cennych związków naturalnych w skali preparatywnej. Otrzymanie ich w dużej skali pozwala na przeprowadzenie niezbędnych testów biologicznych, które umożliwią wyjaśnienie mechanizmów działania potencjalnych leków, a tym samym ochronę przed niepożądanymi skutkami ubocznymi. Reakcja sprzęgania przebiega wewnątrz- lub międzycząsteczkowo, a źródło chiralnej informacji może być związane ze związkiem arylowym lub umieszczone w postaci katalizatora w układzie reakcyjnym.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] G. Bringmann, A.J.P. Mortimer, P.A. Keller, M.J. Gresser, J. Garner, M. Breuning, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 5384.
- [2] M.C. Kozłowski, B.J. Morgan, E.C. Linton, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 3193.
- [3] G. Bringmann, T. Gulder, T.A.M. Gulder, M. Breuning, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 563.
- [4] K.P. Manfredi, J. W. Blunt, J.H. Cardellina, J.B. McMahon, L.L. Pannell, G.M. Cragg, M.R. Boyd, *J. Med. Chem.*, 1991, **34**, 3402.
- [5] G. Bringmann, G. Zhang, T. Ölschläger, A. Stich, J. Wud, M. Chatterjee, R. Brun, *Phytochemistry*, 2013, **91**, 220.
- [6] Y. Hemberger, G. Zhang, R. Brun, M. Kaiser, G. Bringmann, *Chem. Eur. J.*, 2015, **21**, 14507.
- [7] A. Cecil, K. Ohlsen, T. Menzel, P. François, J. Schrenzel, A. Fischer, K. Dörries, M. Selle, M. Lalk, J. Hantzschmann, M. Dittrich, C. Liang, J. Bernhardt, T.A. Ölschläger, G. Bringmann, H. Bruhn, M. Unger, A. Ponte-Sucre, L. Lehmann, T. Dandekar, *Int. J. Med. Microbiol.*, 2015, **305**, 96.
- [8] D.T. Tshitenge, K.N. Ioset, J.N. Lami, J. Ndelo-di-Phanzu, J.-P. Koy Sita Mufusama, G. Bringmann, *Fitoterapia*, 2016, **110**, 189.
- [9] G. Bringmann, C. Steinert, D. Feineis, V. Mudogo, J. Betzin, C. Scheller, *Phytochemistry*, 2016, **128**, 71.
- [10] G. Bringmann, G. Zhang, T. Büttner, G. Bauckmann, T. Kupfer, H. Braunschweig, R. Brun, V. Mudogo, *Chem. Eur. J.*, 2013, **19**, 916.
- [11] F. Zhou, Q. Cai, J. Beilstein, *J. Org. Chem.*, 2015, **11**, 2600.
- [12] S. Miyano, M. Tobita, H. Hashimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1981, **54**, 3522.
- [13] S. Miyano, S. Handa, K. Shimizu, K. Tagami, H. Hashimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1984, **57**, 1943.
- [14] S. Miyano, H. Fukushima, S. Handa, H. Ito, H. Hashimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1988, **61**, 3249.
- [15] B.H. Lipshutz, Z.-P. Liu, F. Kayser, *Tetrahedron Lett.*, 1994, **35**, 5567.
- [16] B.H. Lipshutz, P. Muller, D. Leinweber, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 3677.

- [17] G.-Q. Lin, M. Zhong, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1997, **8**, 1369.
- [18] C.A. Merlic, C.C. Aldrich, J. Albaneze-Walker, A. Saghatelian, J. Mammen, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 1297.
- [19] B. Kramer, A. Averhoff, S.R. Waldvogel, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 2981.
- [20] A.I. Meyers, A. Meier, D.J. Rawson, *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 853.
- [21] H. Moorlag, A.I. Meyers, *Tetrahedron Lett.*, 1993, **34**, 6989.
- [22] H. Moorlag, A.I. Meyers, *Tetrahedron Lett.*, 1993, **34**, 6993.
- [23] A.M. Warshawsky, A.I. Meyers, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 8090.
- [24] R.W. Baker, S. Liu, M.V. Sargent, B.W. Skelton, A.H. White, *Chem. Commun.*, 1997, 451.
- [25] A.I. Meyers, J.R. Flisak, R.A. Aitken, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 5446.
- [26] R.S. Coleman, E.B. Grant, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 10889.
- [27] A.I. Meyers, J.J. Willemsen, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 10493.
- [28] A.I. Meyers, J.J. Willemsen, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 791.
- [29] T. Suzuki, H. Hotta, T. Hattori, S. Miyano, *Chem. Lett.*, 1990, 807.
- [30] K. Kamikawa, T. Watanabe, M. Uemura, *J. Org. Chem.*, 1996, **61**, 1375.
- [31] K. Kamikawa, T. Watanabe, M. Uemura, *Synlett*, 1995, 1040.
- [32] Y. Tanaka, T. Sakamoto, K. Kamikawa, M. Uemura, *Synlett*, 2003, 519.
- [33] T. Watanabe, Y. Tanaka, R. Shoda, R. Sakamoto, K. Kamikawa, M. Uemura, *J. Org. Chem.*, 2004, **69**, 4152.
- [34] T. Watanabe, M. Shakadou, M. Uemura, *Synlett*, 2000, 1141.
- [35] T. Watanabe, M. Uemura, *Chem. Commun.*, 1998, 871.
- [36] K. Kamikawa, T. Watanabe, A. Daimon, M. Uemura, *Tetrahedron*, 2000, **56**, 2325.
- [37] X. Li, J. Yang, M.C. Kozlowski, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 1137.
- [38] X. Li, J.B. Hewgley, C.A. Mulrooney, J. Yang, M.C. Kozlowski, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 5500.
- [39] J. Gao, J.H. Reibenspies, A.E. Martell, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 6008.
- [40] T. Pal, A. Pal, *Current Science.*, 1996, **71**, 106.
- [41] G.M. Keseru, M. Nogradi, *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta-ur-Rahman (Red.), Elsevier Science, 1998.
- [42] E.S. DiVirgilio, E.C. Dugan, C.A. Mulrooney, M.C. Kozlowski, *Org. Lett.*, 2007, **9**, 385.
- [43] Mulrooney C.A., Li X., E.S. DiVirgilio, M.C. Kozlowski, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 6856.
- [44] S.L. Colletti, R.L. Halterman, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 3513.
- [45] J.M. Harris, R. McDonald, J.C. Vederas, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1996, 2669.
- [46] A.N. Cammidge, K.V.L. Crepy, *Chem. Commun.*, 2000, 1723.
- [47] A.N. Cammidge, K.V.L. Crepy, *Tetrahedron*, 2004, **60**, 4377.
- [48] K.C. Nicolaou, H. Li, C.N.C. Boddy, J.M. Ramanjulu, T.-Y. Yue, S. Natarajan, X.-J. Chu, S. Bräse, F. Rübsam, *Chem. Eur. J.*, 1999, **5**, 2584.

Praca wpłynęła do Redakcji 4 lutego 2017

**WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE,
ANTYBAKTERYJNE I PRZECIWGRZYBICZE
ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH MIEDZI(II)**

ANTIOXIDANT, ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL
PROPERTIES OF COMPLEX COMPOUNDS
OF COPPER(II)

**Agnieszka Piotrowska, Joanna Drzeżdżon*,
Dagmara Jacewicz, Lech Chmurzyński**

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

**e-mail: joanna.drzezdzon@ug.edu.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Charakterystyka fizykochemiczna związków kompleksowych miedzi(II)
 - 1.1. Jednordzeniowe związki kompleksowe miedzi(II)
 - 1.2. Wielordzeniowe związki kompleksowe miedzi(II)
2. Właściwości antyoksydacyjne związków kompleksowych miedzi(II)
3. Właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze związków kompleksowych miedzi(II)

Podsumowanie

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane



Agnieszka Piotrowska jest studentką III roku na kierunku Chemia, specjalność analityka i diagnostyka chemiczna na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Swoją pracę licencjacką realizuje w Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Pracowni Fizykochemii Związków Kompleksowych. Tematyka badawcza: synteza i badania kinetyki reakcji substytucji polikarboksylanowych związków koordynacyjnych miedzi(II) z azotowymi heterocyklicznymi ligandami organicznymi w rozpuszczalnikach surfaktantowych metodą stopped-flow.



Dr Joanna Drzeżdżon jest pracownikiem Katedry Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Ukończyła studia na kierunku Chemia na Wydziale Chemii UG w 2012 roku, tam również otrzymała w 2017 r. stopień doktora. Jej zainteresowania naukowe dotyczą badań fizykochemicznych polikarboksylanowych związków koordynacyjnych jonów metali przejściowych jako potencjalnych antyoksydantów. Jest współautorką 27 publikacji naukowych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej.



Dr hab. Dagmara Elżbieta Jacewicz, prof. UG urodziła się 30 września 1976 roku w Bolesławcu. Po ukończeniu szkoły podstawowej kontynuowała także edukację w I Liceum Ogólnokształcącym im. Władysława Broniewskiego. Studiowała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, gdzie w 2001 roku obroniła pracę magisterską. W tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (UG). Pracę doktorską obroniła w 2005 roku, za którą otrzymała nagrodę Oddziału Gdańskiego Polskiego Towarzystwa Chemicznego. W lipcu 2015 roku uzyskała stopień naukowy doktora habilitowanego na Wydziale Chemii UG. Od 2004 roku pracuje na Wydziale Chemii jako asystent, adiunkt i profesor nadzwyczajny (od 2016). Jej zainteresowania badawcze koncentrują się na chemii związków kompleksowych, kinetyce reakcji oraz na biosensorach molekularnych, a w szczególności na ich zastosowaniach do oznaczania tlenu azotu(IV) i tlenu węgla(IV) w materiale biologicznym. Jej dorobek naukowy obejmuje

74 prace naukowe, z czego 61 to publikacje wydane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Jest współautorką ponad 100 komunikatów naukowych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.



Prof. dr hab. inż. Lech Chmurzyński ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej uzyskując tytuł zawodowy magistra inżyniera chemika (1978). Stopień doktora nauk chemicznych otrzymał na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (1986), a doktora habilitowanego nauk chemicznych na Wydziale Chemii UG (1994). W roku 2001 uzyskał tytuł profesora nauk chemicznych. Od 1978 roku związany jest z Wydziałem Matematyki, Fizyki i Chemii, a później (1992) Chemii UG. Od roku 2003 pracuje na stanowisku profesora zwyczajnego, pełniąc funkcję kierownika Katedry Chemii Ogólnej i Nieorganicznej (od 2006). Jego zainteresowania badawcze skupiają się na problematyce chemii środowisk niewodnych, oddziaływań kwasowo-zasadowych, chemii związków kompleksowych oraz chemii bionieorganicznej – w tym biosensorów molekularnych i ich zastosowań do oznaczania reaktywnych form azotu oraz tlenu w materiale biologicznym. Opublikował ponad 270 oryginalnych i przeglądowych prac naukowych. Jest współautorem ponad 300 prezentacji konferencyjnych, w tym wykładów na zaproszenie. Wypromował 12 doktorów, a z Jego inspiracji cztery osoby habilitowały się.

ABSTRACT

Since late 1930s copper has been recognized as an essential trace metal in living organisms. Copper(II) cation plays the role as a coordination center not only in the single-nuclear complexes, but also in the multinuclear coordination compounds with a particular emphasis on the polymers as ligands. The selected complex compounds of copper(II) with ligands which are organic and inorganic species have been characterized taking into account their physico-chemical properties. In addition, the complex compounds containing ligands such as Schiff's bases, hydrocarbons, organic bases, and also polycarboxylic anions: oxydiacetate, thiodiacetate, iminodiacetate and dipicolinate have been described considering their role in the biological systems. Nowadays tested coordination compounds of copper(II) have interesting antibacterial activities against bacteria strains that are antagonistic to the human. The antibacterial activity of copper(II) complex is stronger than some of the known antibacterial substances e.g. ciprofloxacin. In addition, copper(II) complex compounds exhibit a 64-fold greater antimicrobial properties than copper(II) chloride. Moreover, these compounds have antifungal and antioxidant properties. The activities of antibacterial, antifungal, and antioxidant complex compounds of copper(II) have been compared to the reactivities of these compounds with complexes used as reference substances, e.g. L-ascorbic acid, in the assay using nitrotetrazolium blue.

Keywords: copper(II) complexes; antioxidants, antibacterial activity, antifungal activity

Słowa kluczowe: związki kompleksowe miedzi(II); antyoksydanty, aktywność antybakteryjna, aktywność przeciwrzybicza

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

$[\text{Cu}(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$	– dipikolinianowy kompleks miedzi(II) z 4-pikoliną
$[\text{Cu}(\text{H-dipic})_2]_n$	– dipikolinowy kompleks miedzi(II)
$[\text{Cu}(\text{ida})(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$	– iminodioctanowy kompleks miedzi(II) z 1,10-fenantroliną
$[\text{Cu}(\text{oda})(4\text{-pic})\text{H}_2\text{O}] \cdot \text{H}_2\text{O}$	– diglikolanowy kompleks miedzi(II) z 4-pikoliną
$[\text{Cu}(\text{oda})(\text{bipy})(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$	– diglikolanowy kompleks miedzi(II) z 2,2'-bipirydylem
3478Me4phen	– 3,4,7,8-tetrametylo-1,10-fenantrolina
4-pic	– 4-pikolina
56Me2phen	– 5,6-dimetylo-1,10-fenantrolina
5Mephen	– 5-metylo-1,10-fenantrolina
BenzImH	– benzimidazol
bipy	– 2,2'-bipirydył
DAPBMA	– 2,6-diacetylopirydyna-bis-4-metoksyanilina
DIP	– 4,7-difenylo-1,10-fenantrolina
dipic	– anion dipikolinianowy
dmp	– 2,9-dimetylo-1,10-fenantrolina
DMSO	– dimetylosulfotlenek
en	– etylenodiamina
EtImH	– 2-etyloimidazol
glygly	– glicyloglicyna
ida	– anion iminodioctanowy
ImH	– imidazol
L	– <i>N'</i> -(1E)-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]benzoilohydrazon
L_1	– anion 2-[(Z)-(5-bromo-2-hydroksyfenylometyleno)amino}benzoesanowy
MBC i MFC	– minimalne stężenie zabijające
MebenzImH	– 2-metylobenzimidazol
MeImH	– 2-metyloimidazol
MIC	– minimalne stężenie hamujące
MTT	– test redukcji soli tetrazolowej
NBT	– błękit nitrotetrazoliowy
oda	– anion diglikolanowy
Oxpn	– <i>N, N'</i> -bis[3-(metyloamino)propyl]oksmid
phen	– 1,10-fenantrolina
PSBP	– 4-fenylosemikarbazyd-2-benzoilopirydyna
ROS	– reaktywne formy tlenu
RR-dach	– (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1,2-diaminocykloheksan

SAA	– kwas salicylideno-antranilowy
SAT	– salicylidenoaminotiofenol
SOD	– dysmutaza ponadtlenkowa
SS-dach	– (1 <i>S</i> , 2 <i>S</i>)-1,2-diaminocykloheksan
tda	– anion tiodioctanowy
temed	– <i>N,N,N'</i> -tetrametyloetylenodiamina

WPROWADZENIE

Jony metali przejściowych należących do bloku d układu okresowego mają tendencję do tworzenia szerokiej gamy związków kompleksowych. W ciągu kilku ostatnich dekad nastąpił gwałtowny rozwój chemii związków koordynacyjnych, które znalazły zastosowania w chemii metaloorganicznej, jak i w dziedzinie chemii badającej modelowe układy o znaczeniu biologicznym, tzn. w chemii bioinorganicznej [1–2]. Wiele związków o znaczeniu biologicznym takich, jak np. chlorofil, hem, metaloenzymy czy witamina B₁₂ są przykładami związków kompleksowych zawierających jony metali przejściowych jako centrum koordynacji. Chemia koordynacyjna coraz częściej znajduje zastosowanie również w naukach technicznych i przemyśle, np. przy produkcji magnetyków oraz półprzewodników molekularnych, w fotochemii czy w badaniach nad polimerami koordynacyjnymi.

W literaturze znanych jest wiele związków kompleksowych zawierających w sferze koordynacyjnej jony miedzi(II) jako centrum koordynacji oraz ligandy takie jak: zasady Schiffa, aniony polikarboksylanowe oraz organiczne ligandy heterocykliczne [3, 4]. Najczęściej opisywanymi w literaturze związkami kompleksowymi miedzi(II) są związki koordynacyjne z m. in. anionami polikarbosylanowymi, np. szczawianowymi (C₂O₄²⁻), tiodioctanowymi (tda), dipikolinianowymi (dipic), diglikolanowymi (oda), α,ω -dikarboksylanowymi i anionami aminopolikarboksylanowymi, jak np. iminodioctanowymi (ida), *N*-metyloiminodioctanowymi oraz ligandami pomocniczymi takimi, jak np.: 4-pikolina (4-pic), 2,2'-bipirydył (bipy) czy 1,10-fenantrolina (phen) [3, 4]. Polikarboksylany miedzi(II) są nietoksyczne, stabilizują jony metali oraz wykazują wiele ciekawych właściwości, między innymi: antyoksydacyjne, antibakteryjne, przeciwgrybicze i antynowotworowe [3–5].

Właściwości antyoksydacyjne związków kompleksowych jonów miedzi(II) oraz cynku(II) są wykorzystywane w bioczynnikach (odmiana czujników elektrochemicznych) dysmutazy ponadtlenkowej SOD (ang. *Super Oxide Dismutase*) [2]. Miedź w SOD pełni rolę związaną z przeniesieniem elektronu. W reakcji SOD z anionorodnikiem ponadtlennym uczestniczy kation miedzi(II), który redukuje swój stopień utlenienia do +1, a produktem tej reakcji redukcji jest tlen. Natomiast w kolejnym etapie kation Cu⁺ utlenia się do Cu²⁺ w obecności kationów wodoru z utworzeniem nadtlenku wodoru. Badania prowadzone nad niedoborem SOD w organizmie ludzkim przyczyniły się do wprowadzenia do bazy leków przeciwpalnych Orgoteiny i Paloseinu stosowanych u zwierząt, np. psów i koni [2]. Są to leki zawierające wołową SOD-1.

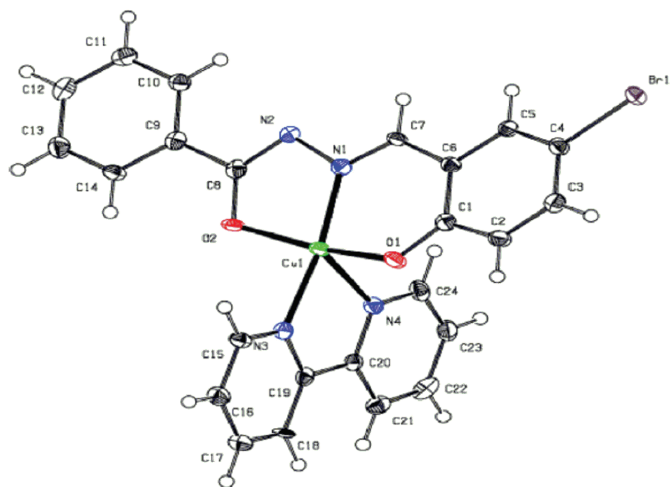
Ponadto, kompleksy miedzi(II) wykazują aktywność przeciwnowotworową. Wyniki testu MTT wykonanego w celu analizy aktywności metabolicznej komórki pokazały, że związek kompleksowy miedzi(II) z anionem malonianowym oraz z phen [Cu(phen)₂(mal)]·2H₂O, wykazuje silniejsze właściwości cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych linii A-498 (ludzki gruczolakorak nerki) i Hep-G2 (ludzki rak wątrobowo-komórkowy) w porównaniu do odkrytej w 1965 roku przez Barnetta Rosenberga – cisplatyny, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] [2, 6].

1. CHARAKTERYSTYKA FIZYKOCHEMICZNA ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH MIEDZI(II)

1.1. JEDNORDZENIOWE ZWIĄZKI KOMPLEKSOWE MIEDZI(II)

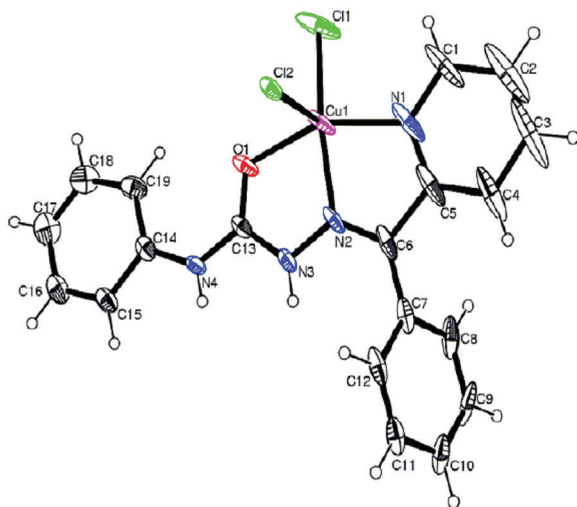
Kation miedzi(II) pełni rolę centrum koordynacji w różnego typu związkach kompleksowych, które zawierają ligandy nieorganiczne oraz ligandy organiczne takie jak zasady Schiffa, indole, fenantrolina, bipyrydył. Cu^{2+} może przyjmować w związkach kompleksowych różne liczby koordynacji. Liczba koordynacyjna 4 to jedna z najważniejszych liczb koordynacyjnych, której odpowiadają struktury: tetraedryczna, kwadratowa płaska lub piramidy tetragonalnej. Liczba koordynacyjna 5 występuje rzadziej niż liczby 4 i 6, ma jednak istotne znaczenie. Dwie najbardziej symetryczne odpowiadające jej struktury to bipiramida trygonalna i piramida tetragonalna. Te dwie struktury zwykle nieznacznie różnią się energią; każda z nich może przekształcić się w pozostałą w wyniku zmian kątów między wiązaniami. Liczba koordynacyjna 6 to liczba niezwykle ważna, gdyż prawie wszystkie kationy tworzą kompleksy o liczbie koordynacyjnej 6. Praktycznie wszystkie te kompleksy mają identyczny kształt ośmiościanu (struktura oktaedryczna).

W większości opisanych w literaturze przypadków związki kompleksowe miedzi(II) występują w postaci krystalicznej. Związek kompleksowy miedzi(II) z N° -(1E)-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno] benzoilohydrazon (L) oraz 2,2'-bipyrydylem (bipy) krystalizuje w układzie trójskośnym o geometrii zniekształconej piramidy tetragonalnej (Rys. 1) [7]. Związki kompleksowe miedzi(II) z N° -(1E)-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]benzoilohydrazonem (L) oraz cząsteczką chloru lub bromu tworzą strukturę bipiramidy trygonalnej [8]. Związki te różnią się strukturalnie jedynie obecnością innych fluorowców (Rys. 2–3). Najdłuższymi wiązaniami w sferze koordynacji są wiązania Cu-Cl oraz Cu-Br o długościach wynoszącej odpowiednio dla $[\text{Cu}(\text{L})\text{Cl}_2]$: $\text{Cu}(1)-\text{Cl}(1) = 2,205(3) \text{ \AA}$, $\text{Cu}(1)-\text{Cl}(2) = 2,5138(16) \text{ \AA}$, natomiast dla $[\text{Cu}(\text{L})\text{Br}_2]$: $\text{Cu}(1)-\text{Br}(1) = 2,3488(5) \text{ \AA}$, $\text{Cu}(1)-\text{Br}(2) = 2,6544(4) \text{ \AA}$.



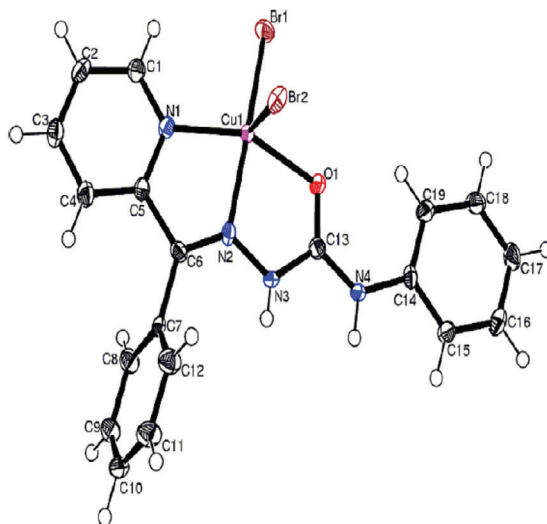
Rysunek 1. Związek kompleksowy miedzi(II) z *N'*-(1*E*)-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]benzoiłohydrazon (L) oraz 2,2'-bipirydylem (bipy) [7]

Figure 1. The copper(II) complex with *N'*-(1*E*)-[(5-bromo-2-hydroxyphenyl)methylidene] benzoylhydrazon (L) and 2,2'-bipyridyl (bipy) [7]



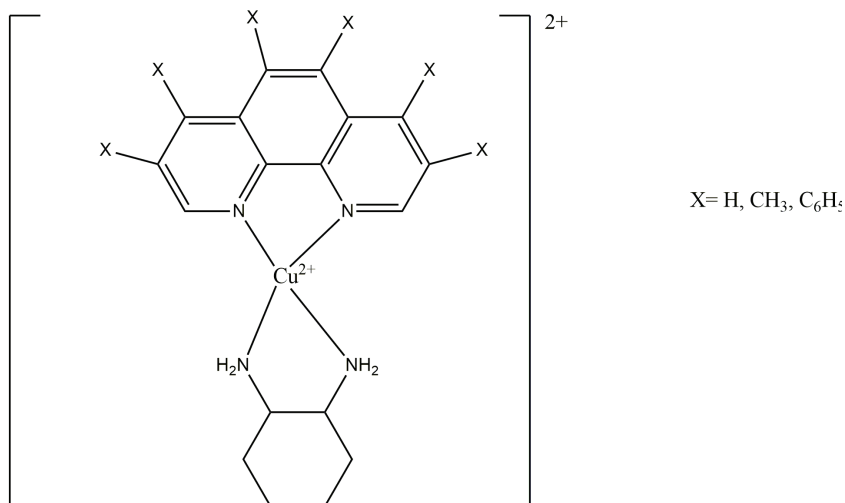
Rysunek 2. Związek kompleksowy [Cu(L)Cl₂] [8]

Figure 2. The [Cu(L)Cl₂] complex compound [8]



Rysunek 3. Związek kompleksowy miedzi(II) z N^2 -(1E)-[(5-bromo-2-hydroksyfenylo)metyleno]benzoiłohydrazonem (L) oraz cząsteczką bromu [8]

Figure 3. The copper(II) complex compound with N^2 -(1E)-[(5-bromo-2-hydroxyphenyl)methylidene] benzoylhydrazone and the bromine molecule[8]

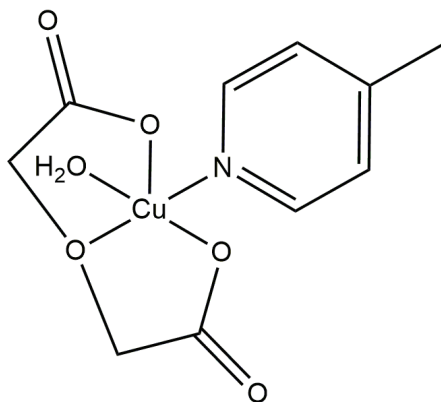


Rysunek 4. Ogólna struktura wybranych związków kompleksowych miedzi(II) wykazujących właściwości antybakteryjne [9]

Figure 4. The general structure of selected copper(II) complexes exhibiting the antimicrobial activities [9]

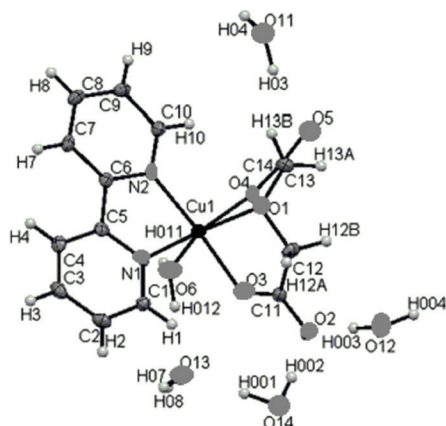
Współcześnie badane związki kompleksowe miedzi(II) wykazujące działanie antybakteryjne to między innymi $[\text{Cu}(5\text{Mephen})(\text{SS-dach})\text{Cl}_2]$, $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{SS-dach})\text{Cl}_2]$, $[\text{Cu}(56\text{Me2phen})(\text{RRdach})\text{Cl}_2]$, $[\text{Cu}(3478\text{Me4phen})(\text{RR-dach})](\text{ClO}_4)_2$ oraz $[\text{Cu}(\text{DIP})(\text{RR-dach})](\text{ClO}_4)_2$ (Rys. 4) [9].

Oprócz ligandów takich jak węglowodory, zasady Schiffa, pochodne hydrazonu, również aniony polikarboksylanowe wykazują silne właściwości koordynacyjne względem kationu miedzi(II). Przykładami diglikolanowych związków koordynacyjnych miedzi(II) są $[\text{Cu}(\text{oda})(4\text{-pic})\text{H}_2\text{O}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Rys. 5) oraz $[\text{Cu}(\text{oda})(\text{bipy})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Rys. 6) [4, 5]. Wydajność syntezy pierwszego związku kompleksowego wynosi 68%. Ligand oda przyjmuje w tym związku kompleksowym konformację merydionalną. Wyniki badań FTIR wskazują na obecność pasm w zakresie $200\text{--}300\text{ cm}^{-1}$, co potwierdza monodentny typ wiązania koordynacyjnego przez atom tlenu grupy karboksylowej (atom tlenu występujący w grupie wodorotlenowej). Pomiary przewodnictwa molowego związku kompleksowego $[\text{Cu}(\text{oda})(4\text{-pic})\text{H}_2\text{O}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ wskazują, że związek ten nie ulega jonizacji i zachowuje się w roztworze metanolu jak nieelektrolit. Badania EPR wskazują, że związek $[\text{Cu}(\text{oda})(4\text{-pic})\text{H}_2\text{O}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ posiada strukturę bipiramidy trygonalnej (liczba koordynacyjna 5).



Rysunek 5. Diglikolanowy związek koordynacyjny miedzi(II) z 4-pikoliną
Figure 5. The oxydiacetate complex of copper(II) with 4-picoline

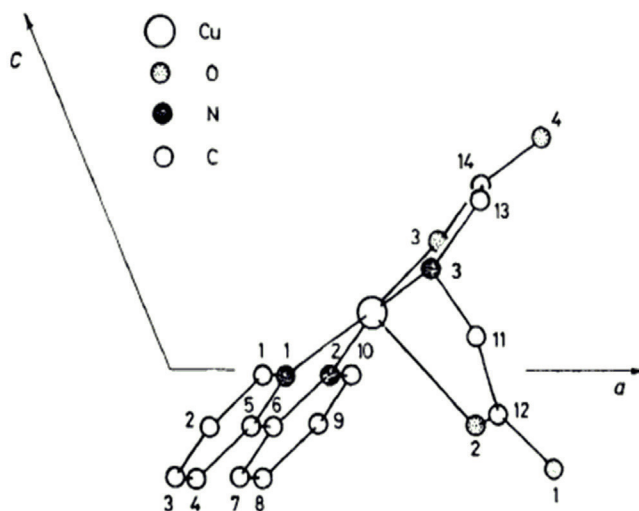
Związek $[\text{Cu}(\text{oda})(\text{bipy})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ otrzymuje się na drodze syntezy z wydajnością 68 % w postaci niebieskich kryształów [10]. Ligand oda przyjmuje w tym związku koordynacyjnym konformację facjalną. Badania przeprowadzone przez Pranczk i współpracowników [11] dowiodły, że $[\text{Cu}(\text{oda})(\text{bipy})(\text{H}_2\text{O})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ powstaje w wyniku podstawienia dwóch cząsteczek wody cząsteczką 2,2'-bipirydyłu w roztworze wodnym. Jest to reakcja samorzutna, dla której obserwowana stała szybkości reakcji zależy liniowo od temperatury oraz stężenia molowego kompleksu binarnego $\text{Cu}(\text{oda})$.



Rysunek 6. Diglikolanowy związek koordynacyjny miedzi(II) z 2,2'-bipirydylem [10]
 Figure 6. The oxydiacetate complex of copper(II) with 2,2'-bipyridine [10]

Do iminodioctanowych związków koordynacyjnych miedzi(II) należą np. $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ oraz $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{bipy})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [12]. Oba związki występują w postaci ciemnoniebieskich kryształów. Anion iminodioctanowy w związkach kompleksowych miedzi(II) przyjmuje konformację facjalną. Związek kompleksowy $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ma strukturę bipiramidy tetragonalnej, co spowodowane jest efektem Jahn-Tellera. Wiązania pomiędzy jonem miedzi(II) a atomem tlenu pochodzącego od jednej grupy karboksylanowej anionu ida, jonem miedzi(II) a atomem azotu będącym centralnym atomem donorowym ida, jonem miedzi(II) i atomem azotu pochodzącym od cząsteczki phen oraz wiązanie pomiędzy jonem miedzi(II) a drugim atomem azotu pochodzącego od phen leżą w jednej płaszczyźnie. W części niezależnej komórki elementarnej związek kompleksowy $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ występuje w postaci dimeru. Stałe sieciowe dla związku $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ wynoszą: $a = 6,9101 \text{ \AA}$, $b = 11,5867 \text{ \AA}$, $c = 12,911 \text{ \AA}$. Natomiast parametry komórki elementarnej wynoszą: $a = 11,200(7)$, $b = 13,252(8)$, $c = 7,975(7) \text{ \AA}$, $\alpha = 66.8(1)$, $\beta = 115,3(1)$, $\gamma = 102,0(1)^\circ$. W literaturze opisany też został związek kompleksowy o wzorze $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, który wykazuje reaktywność wobec anionorodnika ponadtlenkowego. Posiada on strukturę zniekształconego oktaedru, bardzo podobną do struktury poprzednio opisanego kompleksu $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [12]. Analizując struktury iminodioctanowych związków koordynacyjnych miedzi(II) można zaobserwować, że obecność dodatkowych ligandów takich jak phen i bipy wpływa na liczbę koordynacyjną kationu miedzi(II). Obecność liganda bipy w sferze koordynacyjnej kationu miedzi(II) przyczynia się do powstawania związków o liczbie koordynacyjnej 5, jednak w przypadku związków kompleksowych zawierających phen liczba koordynacyjna miedzi(II) wynosi 6. Związek $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{bipy})]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Rys. 7) krystalizuje w układzie trójskośnym, występując w części niezależnej komórki elementarnej w postaci dimeru. Heteroligandowe związki koordynacyjne miedzi(II) charaktery-

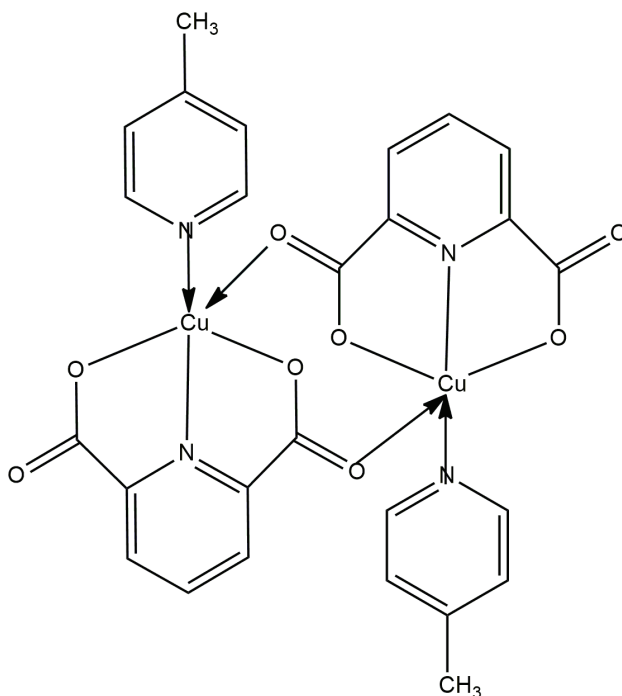
zują się trwałością termiczną do temperatury ok. 343,15 K w szczególności w sytuacji, gdy atomami donorowymi są atomy azotu (obecność ligandów bipy oraz phen). W przypadku związku kompleksowego $[\text{Cu}(\text{ida})(\text{H}_2\text{O})(\text{phen})]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ utrata wody hydratacyjnej następuje w temperaturze 120°C. Przeprowadzając syntezy iminodiocjanowych związków kompleksowych miedzi(II) otrzymuje się produkty reakcji w stanie stałym, w większości przypadku w formie kryształów. Opisywane związki kompleksowe wykazują stosunkowo niską rozpuszczalność w wodzie.



Rysunek 7. Iminodiocjanowy związek kompleksowy miedzi(II) z 2,2'-bipirydylem
Figure 7. The iminodiocetic coordination compound of copper(II) with 2,2'-bipyridine

1.2. WIELORDZENIOWE ZWIĄZKI KOMPLEKSOWE MIEDZI(II)

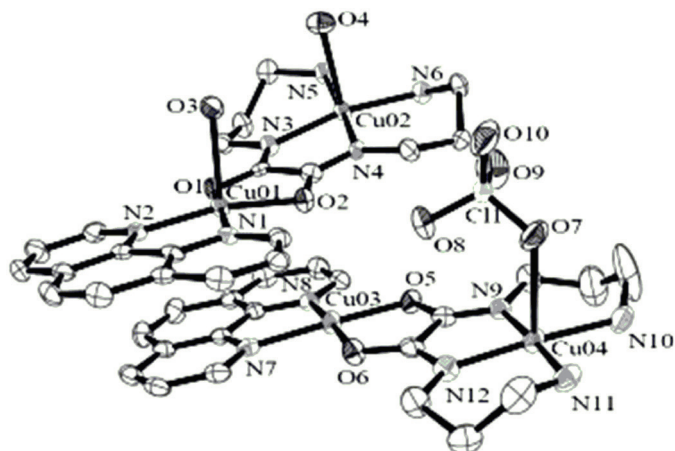
Dwurdzeniowe związki kompleksowe miedzi(II) stanowią interesujące pole badań ze względu na występujące sprzężenie spino-spinowe. $[\text{Cu}(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$ jest przykładem dipikolinianowych związków kompleksowych miedzi(II) (Rys. 8). Związek ten ma strukturę polimeru koordynacyjnego [3], w którym liczba koordynacyjna kationu miedzi(II) wynosi 6. Centralnym atomem donorowym liganda dipic jest atom azotu. $[\text{Cu}(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$ posiada strukturę odkształconego oktaedru. Otrzymuje się go na drodze syntezy w postaci niebieskich kryształków. $[\text{Cu}(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$ krystalizuje w układzie jednoskośnym.



Rysunek 8. Struktura chemiczna dipikolinianowego związku koordynacyjnego miedzi(II) z 4-pikoliną
 Figure 8. The chemical structure of the dipicolinate complex of copper(II) with 4-picolinic

Innym przykładem dipikolinianowego związku kompleksowego miedzi(II) jest dwujądrowy (dwurdzeniowy) związek $[\text{Cu}(\mu\text{-ap})(\text{dipic})(\text{H}_2\text{O})_2]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, gdzie ap oznacza 2-aminopirydynę [13]. Posiada on strukturę zniekształconej piramidy kwadratowej, co jest spowodowane obecnością dwóch atomów azotu oraz dwóch atomów tlenu w sferze koordynacyjnej Cu^{2+} – jeden atom azotu pochodzi od liganda dipic a drugi z pierścienia 4-aminopirydyny, jeden atom tlenu pochodzi od grup karboksylowych (atom tlenu, który w grupie karboksylowej był związany z atomem wodoru) liganda dipic, a drugi atom tlenu pochodzi od cząsteczki wody.

Innym przykładem dwurdzeniowych związków koordynacyjnych miedzi(II) jest $[\text{Cu}_2(\text{oxpn})_2\text{phen}]_n^+$ (Rys. 9) [14]. Wybrane właściwości fizykochemiczne dwurdzeniowych związków koordynacyjnych miedzi(II) zestawiono w Tabeli 1 [14].

Rysunek 9. Struktura chemiczna $[\text{Cu}_2(\text{oxpn})_2\text{phen}]_n^+$ Figure 9. The chemical structure of $[\text{Cu}_2(\text{oxpn})_2\text{phen}]_n^+$ Tabela 1. Zestawienie właściwości fizykochemicznych dla dwurdzeniowych związków kompleksowych miedzi(II) typu $[\text{Cu}_2(\text{oxpn})_2(\text{B})]_n^+$ gdzie B = bipy (1), phen (2), dpq (3), dppz (4)Table 1. The summary of physicochemical properties of binuclear copper(II) complex compounds as $[\text{Cu}_2(\text{oxpn})_2(\text{B})]_n^+$ where B = bipy (1), phen (2), dpq (3), dppz (4)

	1	2	3	4
IR: $[\nu/\text{cm}^{-1}](\text{ClO}_4^-)$	1089	1089	1089	1087
$\nu(\text{C}=\text{O})$	1629	1629	1629	1629
d-d band: $\lambda_{\text{max/nm}} (\epsilon/\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$	605 (314)	602 (65)	541 (55)	583 (55)
CV: $E_{1/2}/V(\Delta E_p/\text{mV})$	-0,034 (1126)	-0,09 (1498)	-0,025 (981)	-0,55 (1096)
$\Lambda_M (\Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{M}^{-1})$	112 (in DMF)	251 (in water)	109 (in DMF)	118 (in DMF)
Punkt izobestyczny (nm)	-	243	247	-
$a (\text{M}^{-1})$	$3,5 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$	$7,86 \times 10^6$	$9,76 \times 10^6$
$K_b (\text{M}^{-1})$	$5,1 \times 10^3 (\pm 0,3)$	$1,14 \times 10^5 (\pm 0,2)$	$8,78 \times 10^5 (\pm 0,1)$	$2,24 \times 10^6 (\pm 0,3)$
$\Delta T_m (^\circ\text{C})$	0,8 (0,2)	1,4 (0,2)	1,8 (0,3)	2,4 (0,2)

2. WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH MIEDZI(II)

Tlen jest pierwiastkiem niezbędnym do życia [15]. Podczas jego redukcji wytwarzane są w organizmie reaktywne formy tlenu ROS (ang. *reactive oxygen species*). Do ROS należy między innymi anionorodnik nadadtlenkowy, który jest prekursorem powstawania pozostałych ROS [15]. Zbyt duże stężenie ROS w organizmie ludzkim może powodować stres oksydacyjny. Ciągłe poszukiwanie się małowadzących związków kompleksowych wykazujących pożądane właściwości antyutleniające oraz mogących potencjalnie pełnić rolę mimetyków SOD [3–5, 16, 17].

Na przestrzeni ostatnich dekad wykazano, że związki koordynacyjne zawierające w swojej sferze koordynacyjnej jony miedzi(II) posiadają aktywność przeciwutleniającą wobec anionorodnika ponadtlenkowego [3–5, 17]. Właściwości antyoksydacyjne związków kompleksowych zazwyczaj badane są metodą wykorzystującą redukcję błękitu nitrotetrazoliowego (NBT) w pH biologicznym (pH = 7,4). Wynik testu NBT przedstawia się za pomocą parametru IC_{50} , który wyraża wartość stężenia antyoksydantu, która powoduje usunięcie 50% ilości rodnika obecnego w roztworze pomiarowym. Stosowanym enzymem natywnym jest dysmutaza ponadtlenkowa, która katalizuje reakcję dysproporcjonowania/dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego zgodnie z poniższym równaniem reakcji:



Wspomniana reakcja zachodzi wskutek interakcji anionorodnika ponadtlenkowego z jonami metali obecnymi w centrum aktywnym enzymu [16].

Oprócz dysmutazy ponadtlenkowej, także związki koordynacyjne jonów metali przejściowych wykazują zdolność do reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym. Związki kompleksowe miedzi(II) wykazują aktywność antyoksydacyjną wobec anionorodnika ponadtlenkowego, ale posiadają niższą aktywność przeciwutleniającą od enzymu natywnego SOD. Obecność w sferze koordynacyjnej kationu miedzi(II) ligandów takich jak bipyrydyl i fenantrolina sprzyja wzrostowi reaktywności kompleksu z anionorodnikiem ponadtlenkowym [18]. Natomiast dipeptydy wchodzące w skład kompleksów miedzi(II) powodują obniżenie aktywności przeciwutleniającej [18, 19]. Główny wpływ na wzrost reaktywności kompleksów miedzi(II) z anionorodnikiem ponadtlenkowym mają ligandy będące heterocyklicznymi zasadami azotowymi.

Mimo, że kompleksy miedzi(II) wykazują słabsze działanie antyoksydacyjne od enzymu SOD, to mają istotne znaczenie jako potencjalne mimetyki dysmutazy ponadtlenkowej ze względu na niską masę cząsteczkową. Współcześnie poszukuje się nowych małowcząsteczkowych związków kompleksowych, które mogłyby naśladować działanie SOD w organizmie, ponieważ znane mimetyki SOD działają zbyt mało efektywnie oraz posiadają zbyt niską trwałość.

Wykazano, że związki kompleksowe miedzi(II) z anionem dipikolinianowym $[Cu(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$ oraz anionem diglikolanowym $[Cu(\text{oda})(4\text{-pic})H_2O] \cdot 2H_2O$ z tym samym ligandem chelatującym – 4-pikoliną mogą pełnić rolę antyoksydantów [3, 4]. Związki kompleksowe miedzi(II) z anionem diglikolanowym i 2,2'-bipyrydylem $[Cu(\text{oda})(\text{bipy})(H_2O)] \cdot 4H_2O$ oraz z anionem iminodioctanowym i 1,10-fenantroliną $[Cu(\text{ida})(\text{phen})(H_2O)] \cdot 2H_2O$ działają antyoksydacyjnie wobec anionorodnika ponadtlenkowego [5, 17].

Wyznaczone wartości IC_{50} dla związków kompleksowych enzymu natywnego – dysmutazy ponadtlenkowej zestawiono w Tabeli 2. Obserwowane wartości IC_{50} dla związków kompleksowych są wyższe niż wartość IC_{50} dla dysmutazy ponadtlenkowej. Im wyższa wartość parametru IC_{50} , tym większe stężenie związku chemicznego

jest potrzebne, aby unieczynnić 50% zawartości anionorodnika ponadtlenkowego w próbce. Pożądaną są niskie stężenia związku, które powodują 50 inhibicji.

Tabela 2. Zestawienie obserwowanych wartości IC_{50} dla związków kompleksowych i enzymu natywnego
Table 2. The summary of observed values IC_{50} for complex compounds and the native enzyme

Związek kompleksowy	IC_{50} związku kompleksowego $\left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{dm}^3}\right]$	IC_{50} enzymu natywnego $\left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{dm}^3}\right]$
[Cu(SAT)(H ₂ O)]	60 [20]	0,04 [12]
[Cu(SAT)(bipy)]	58 [20]	
[Cu(SAT)(en)]	52 [20]	
[Cu(SAT)(temed)]	62 [20]	
[Cu(L)(bipy)]	62 [7]	
[Cu(SAA)(MeImH)]	35 [21]	
[Cu(SAA)(EtImH)]	43 [21]	
[Cu(SAA)(BenzImH)]	50 [21]	
[Cu(SAA)(MebenzImH)]	52 [21]	
[Cu(PSBP)(NO ₃)](BF ₄)	35 [21]	
[Cu(DAPBMA) ₂](BF ₄) ₂	34 [22]	
[Cu(ImH) ₄ (NO ₃) ₂]	25 [22]	
[Cu(L)(Cl) ₂]	22 [8]	
[Cu(L)(Br) ₂]	18 [8]	
[Cu(glygly)·3H ₂ O]	132 [19]	
[Cu(glygly)(bipy)]·3H ₂ O	25 [19]	
[Cu(L1)(bipy)]·2H ₂ O	63 [18]	
[Cu(L1)(dmp)]·CH ₃ CN	57 [18]	
[Cu(L1)(phen)]	61 [18]	
[Cu(ida)(phen)(H ₂ O)]·2H ₂ O	62 [17]	

Związek kompleksowy	IC ₅₀ związku kompleksowego $\left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{dm}^3}\right]$	IC ₅₀ enzymu natywnego $\left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{dm}^3}\right]$
[Cu(dipic)(4-pic)] _n	55 [3]	0,04 [12]
[Cu(oda)(4-pic)H ₂ O]·2H ₂ O	42 [4]	
[Cu(oda)(bipy)(H ₂ O)]·4H ₂ O	18 [5]	

Właściwości antyoksydacyjne związków kompleksowych miedzi(II) z anionami polikarboksylianowymi rosną w szeregu: ida < dipic < oda. Różnice te mogą być spowodowane sposobem koordynacji liganda dikarboksylianowego (*fac* lub *mer*), jak i strukturą związku kompleksowego. Rodzaj liganda chelatującego także wpływa na te właściwości, gdyż związek kompleksowy miedzi(II) z anionem diglikolanowym i bipy wykazuje większe właściwości przeciwutleniające niż związek kompleksowy z tym samym anionem, ale z innym ligandem chelatującym tj. 4-pic. Tak więc odmienne wartości IC₅₀ dla tych związków mogą wynikać z różnego charakteru chemicznego liganda chelatującego (zasadowości) lub innego zakresu tetragonalnego zniekształcenia geometrii ogólnej związku koordynacyjnego.

3. WŁAŚCIWOŚCI ANTYBAKTERYJNE I PRZECIWGRZYBICZE ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH MIEDZI(II)

Współczesne badania nad związkami kompleksowymi miedzi(II) dowiodły, że wykazują one silne działanie antybakteryjne oraz przeciwnowotworowe [23–29]. W Tabeli 3 zamieszczono wartości MIC dla wybranych związków kompleksowych miedzi(II) [30]. Dane zawarte w Tabeli 3 pokazują, że obecność ligandów takich jak pochodne fenantroliny oraz cykloheksanu przyczynia się do wzrostu aktywności biologicznej omawianych związków. Chlorek miedzi(II) posiada słabsze właściwości antybakteryjne od omawianych związków kompleksowych w zakresie od 2 do 64 razy. Pięciokoordynacyjne kompleksy miedzi(II) zawierające heterocykliczne zasady azotowe charakteryzują się wysoką aktywnością antybakteryjną z powodu lipofilowości związku kompleksowego [31]. Lipofilowość związków koordynacyjnych miedzi(II) zwiększa obecność 1,10-fenantroliny oraz 2,2'-bipirydyli jako ligandów [31]. Natomiast dwurdzeniowe kompleksy miedzi(II) wykazują bardzo słabe właściwości antybakteryjne wobec szczepów bakterii o działaniu antagonistycznym dla człowieka [3]. Związki kompleksowe miedzi(II) zawierające jako ligandy zasady Schiffa pochodzące od 2,6-diacetylopirydyny oraz 2-pirydynokarboksyaldehydu działają antybakteryjnie oraz przeciwgrzybiczo wobec *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium Smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus cloacae*, *Bacillus megaterium* i *Micrococcus leteus* [32].

Tabela 3. Zestawienie obserwowanych wartości przeciwbakteryjnych MIC dla związków kompleksowych i substancji standardowej

Table 3. Observed antibacterial MIC values for complex compounds and the standard substances

Związek kompleksowy	<i>S. aureus</i> MRSA252	<i>S. aureus</i> MSSA209	<i>E. faecalis</i> NCTC775	<i>E. coli</i> NCTC86	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853
	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$
[Cu(phen)(SS-dach)]Cl ₂	32	32	32	64	>128
[Cu(5Mephen)(SS-dach)]Cl ₂	32	16	8	64	>128
[Cu(56Me2phen)(RR-dach)]Cl ₂	8	4	2	32	>128
[Cu(3478Me4phen)(RR-dach)](ClO ₄) ₂	4	4	4	16	>128
[Cu(DIP)(RR-dach)](ClO ₄) ₂	2	2	2	16	>128
CuCl ₂ ·2H ₂ O	>128	>128	>128	>128	>128
Wankomycyna	0,25	0,5	0,5	Nie wyznaczono	Nie wyznaczono

W ostatnich latach opublikowano wiele wyników badań dotyczących właściwości antybakteryjnych polikarboksyłanowych związków kompleksowych miedzi(II) [3–5, 17]. Działanie przeciwbakteryjne związków chemicznych najczęściej badane jest przy pomocy klasycznych testów mikrobiologicznych, wobec czterech szczepów bakterii o antagonistycznej aktywności wobec organizmu ludzkiego, np. pałeczki okrężnicy (łac. *Escherichia coli*, K-12), laseczki sienna (łac. *Bacillus subtilis*, MTCC-121), gronkowca złocistego (łac. *Staphylococcus aureus*, IOA-SA-22) i salmonelli (łac. *Salmonella typhimurium*, MTCC-98) [3–5, 17, 33, 34].

Wykazano, że związki kompleksowe miedzi(II) z anionem dipikolinianowym – [Cu(H-dipic)₂]_n i [Cu(dipic)(4-picoline)]_n, anionem diglikolanowym – [Cu(oda)(4-pic)H₂O]·2H₂O, anionem diglikolanowym i 2,2'-bipirydylem – [Cu(oda)(bipy)(H₂O)]·4H₂O oraz z anionem iminodioctanowym i 1,10-fenantroliną – [Cu(ida)(phen)(H₂O)]₂H₂O charakteryzują się dobrym hamowaniem bakterii w przypadku wszystkich zastosowanych testów [3–5, 17]. Obserwowane wartości MIC (minimalne stężenie całkowicie hamujące bakterie $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$) i MBC (minimalne stężenie całkowicie zabijające bakterie $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$) dla badanych związków kompleksowych i substancji standardowej – cyprofloksacyny zestawiono w Tabeli 4 [3–5, 17].

Tabela 4. Zestawienie obserwowanych wartości przeciwbakteryjnych MIC i MBC dla związków kompleksowych i substancji standardowej

Table 4. Observed antibacterial MIC and MBC values for complex compounds and the standard substances

Związek kompleksowy	<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella typhimurium</i>	
	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MBC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MBC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MBC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MIC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$	MBC $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$
$[\text{Cu}(\text{H-dipic})_2]_n$	12,2	6,25	6,25	12,5	12,5	6,25	25	6,25
$[\text{Cu}(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$	6,25	12,5	12,5	6,25	25	12,5	6,25	25
$[\text{Cu}(\text{oda})(4\text{-pic})\text{H}_2\text{O}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,25	12,5	12,5	6,25	25	12,5	6,25	25
$[\text{Cu}(\text{oda})(\text{bipy})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	25	12,5	12,5	6,25	25	12,5	12,5	25
$[\text{Cu}(\text{ida})(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,25	12,5	6,25	6,25	25	12,5	12,5	25
Cyprofloksacyna	6,25	12,5	6,25	12,5	6,25	12,5	12,5	12,5

Związki kompleksowe $[\text{Cu}(\text{dipic})(4\text{-pic})]_n$ i $[\text{Cu}(\text{oda})(4\text{-pic})\text{H}_2\text{O}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ wykazują identyczne właściwości antybakteryjne wobec wszystkich czterech szczepów bakterii. $[\text{Cu}(\text{H-dipic})_2]_n$ posiada najniższą wartość MBC wobec bakterii *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* w porównaniu do substancji standardowej oraz pozostałych zestawionych polikarboksyłanowych związków koordynacyjnych miedzi(II), natomiast pozostałe związki kompleksowe posiadają niższe stężenie MBC wobec *Bacillus subtilis* w porównaniu do $[\text{Cu}(\text{H-dipic})_2]_n$ i substancji standardowej jaką była cyprofloksacyna. Wspomniane związki kompleksowe również zostały przebadane pod kątem działania przeciwwgrzybiczego wobec bielnika białego (łac. *Candida albicans*), kropidlaka popielatego (łac. *Aspergillus fumigatus*) i pędzłaka marneffei (łac. *Penicillium marneffei*) w DMSO metodą dyfuzji agarowej [3–5, 17, 36, 37].

Przeprowadzone badania dowiodły, że związki kompleksowe miedzi(II) wykazują właściwości przeciwwgrzybicze wobec wybranych gatunków grzybów. Obserwowane wartości MIC (minimalne stężenie całkowicie hamujące wzrost grzybów $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$) i MFC (minimalne stężenie całkowicie zabijające grzyba $\left[\frac{\mu\text{E}}{\text{ml}}\right]$) dla polikarboksyłanowych związków kompleksowych miedzi(II) oraz substancji standardowej – gryzeofulwiny zestawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Zestawienie obserwowanych wartości przeciwrzybiczych MIC i MFC dla związków kompleksowych i substancji standardowej

Table 5. Observed antifungal MIC and MFC values for complex compounds and the standard substance

Związek kompleksowy	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>		<i>Penicillium marneffei</i>	
	MIC ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)	MFC ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)	MIC ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)	MFC ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)	MIC ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)	MFC ($\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$)
[Cu(H-dipic) ₂] _n	6,25	6,25	6,25	12,5	6,25	12,5
[Cu(dipic)(4-pic)] _n	6,25	6,25	6,25	12,5	12,25	6,25
[Cu(oda)(4-pic)H ₂ O]·2H ₂ O	6,25	6,25	6,25	12,5	6,25	12,5
[Cu(oda)(bipy)(H ₂ O)]·4H ₂ O	6,25	6,25	6,25	12,5	6,25	12,5
[Cu(ida)(phen)(H ₂ O)]·2H ₂ O	6,25	6,25	6,25	12,5	6,25	12,5
Gryzeofulwina	6,25	12,5	6,25	12,5	6,25	12,5

Wszystkie zestawione w Tabeli 5 związki kompleksowe wymagają niższego MFC wobec szczepu grzyba *Candida albicans* w porównaniu do substancji standardowej, jaką jest gryzeofulwina. Należy podkreślić, iż jeśli związki kompleksowe posiadają niższe wartości MFC od tej substancji standardowej to mają lepsze działanie antygrzybicze. Związek kompleksowy [Cu(dipic)(4-pic)]_n wymaga najniższego MFC wobec bakterii *Penicillium marneffei* w porównaniu do substancji standardowej oraz pozostałych zestawionych polikarboksylanów miedzi(II).

PODSUMOWANIE

Związki koordynacyjne miedzi(II) wykazują właściwości antyoksydacyjne, antybakteryjne i przeciwrzybicze. Największy wpływ na aktywność przeciwtleniającą, antybakteryjną oraz przeciwrzybiczą kompleksów miedzi(II) mają ligandy heterocykliczne takie jak 1,10-fenantrolina i 2,2'-bipirydyd. Współcześnie projektuje się syntezę nowych związków kompleksowych miedzi(II) z pochodnymi fenantroliny i bipirydydu w celu otrzymania nowych połączeń o silnych właściwościach antyoksydacyjnych wobec anionorodnika ponadtlenkowego. W przypadku związków zawierających ligandy polikarboksylanowe właściwości antyoksydacyjne omówionych związków kompleksowych wzrastają zgodnie z szeregiem: [Cu(ida)(phen)(H₂O)]·2H₂O < [Cu(dipic)(4-pic)]_n < [Cu(oda)(4-pic)H₂O]·2H₂O < [Cu(oda)(bipy)(H₂O)]·4H₂O. Wzrastająca zasadowość ligandów powoduje wzrost aktywności przeciwtleniającej związków koordynacyjnych miedzi(II). Badania wykazują, że małowcząsteczkowe polikarboksylanowe związki koordynacyjne miedzi(II) są antyoksydantami, ale niestety w stężeniu większym około 450–1550 razy niż np. dysmutaza ponadtlenkowa. Omówione związki kompleksowe miedzi(II) wykazują

różnorodne właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze wobec różnych szczepów bakterii i grzybów o działaniu antagonistycznym wobec organizmu ludzkiego. W wielu przypadkach wymagają niższego stężenia hamującego i/lub zabijającego daną bakterię i/lub grzyba w porównaniu do powszechnie stosowanych substancji standardowych. W celu zastosowania kompleksów miedzi(II) jako potencjalnych preparatów antybakteryjnych oraz przeciwgrzybiczych należałoby przeprowadzić badania nad zminimalizowaniem działania cytotoksycznego tych związków poprzez zaplanowanie syntezy nowych związków koordynacyjnych, stosując odpowiedni dobór ligandów i kationów metali pełniących rolę centrum koordynacji.

PODZIĘKOWANIA

Praca wspierana finansowo przez Narodowe Centrum Nauki w ramach dotacji 2015/19/N/ST5/00276.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] S. Lippard, J. Berg, *Podstawy chemii bionieorganicznej*, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1998.
- [2] M. Cieślak-Golonka, J. Starosta, M. Wasilewski, *Wstęp do chemii koordynacyjnej*, Wyd. Nauk. PWN, wydanie II zmienione, Warszawa 2013.
- [3] Z.A. Siddiqi, M. Khalid, S. Kumar, M. Shahid S. Noor, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 264.
- [4] Z.A. Siddiqi, P.K. Sharma, M. Shahid, M. Khalid, Anjuli, A. Siddique, S. Kumar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **57**, 102.
- [5] Z.A. Siddiqi, P. K. Sharma, M. Shahid, M. Khalid, S. Kumar, *J. Mol. Struct.*, 2011, **994**, 295.
- [6] C. Deegan, M. McCann, M. Devereux, B. Coyle, D.A. Egan, *Cancer Lett.*, 2007, **247**, 224.
- [7] R.N. Patel, S.P. Rawat, M. Choudhary, V.P. Sondhiya, D.K. Patel, K.K. Shukla, Y. Singh, R. Pandey, *Inorg. Chim. Acta*, 2012, **392**, 283.
- [8] R.N. Patel, K.K. Shula, A. Singh, M. Choudhry, U.K. Chauhan, S. Dwivedi, *Inorg. Chim. Acta*, 2009, **362**, 4891.
- [9] M.L. Beeton, J.R. Aldrich-Wright, A. Bolhuis, *J. Inorg. Biochem.*, 2014, **140**, 167.
- [10] G. Nardin, L. Randaccio, R.P. Bonomo, E. Rizzarelli, *JCS, Dalton Trans.*, 1980, **3**, 369.
- [11] J. Pranczk, D. Jacewicz, D. Wyrzykowski, A. Tesmar, L. Chmurzyński, *J. Chem. Sci.*, 2015, **127** (10), 1845.
- [12] B. Selvakumar, V. Rajendiran, P.U. Maheswari, H. Stoeckli-Evans, M. Palaniandavar, *J. Inorg. Biochem.*, 2006, **100**, 316.
- [13] C. Yenikaya, M. Poyraz, M. Sari, F. Demirci, H. Ilkimen, O. Buyukgungor, *Polyhedron*, 2009, **28**, 3526.
- [14] P.R. Chetana, R. Rao, D. Lahiri, R.S. Policegoudra, R. Sankolli, M.S. Aradhya, *Polyhedron*, 2014, **68**, 172.
- [15] G. Bartosz, *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003.
- [16] J. Pranczk, D. Jacewicz, D. Wyrzykowski, L. Chmurzyński, *Mimetyki dysmutazy ponadtlenkowej*, [w:] *Na pograniczu chemii i biologii*, tom XXXI, H. Koroniak, J. Barciszewski (Red.), Wyd. Nauk. UAM, Poznań, 2013, str. 301.
- [17] Z.A. Siddiqi, M. Shahid, M. Khalid, S. Kumar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 2517.

- [18] M. Choudhary, R.N. Patel, S.P. Rawat, *J. Mol. Struct.*, 2014, **1060**, 197.
- [19] R.G. Bhirud, T.S. Shrivastava, *Inorg. Chim. Acta*, 1991, **179**, 125.
- [20] R.N. Patel, V.L.N., Gundla, D.K. Patel, *Ind. J. Chem.*, 2008, **47A**, 253.
- [21] R.N. Patel, V.L.N. Gundla, D.K. Patel, *Polyhedron*, 2008, **27**, 1054.
- [22] R.N. Patel, K.K. Shukla, A. Singh, M. Choudhary, D.K. Patel, *J. Coord. Chem.*, 2010, **63**, 586.
- [23] O. Tamer, B. Sariboga, I. Ucar, *Struct. Chem.*, 2012, **23**, 659.
- [24] M. Geraghty, J.F. Cronin, M. Devereux, M. McCann, *Biometals*, 2000, **13**, 1.
- [25] R.N. Patel, N. Singh, K.K. Shukla, U.K. Chauhan, S. Chakraborty, J. Niclos-Gutierrez, A. Castineiras, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, **98**, 231.
- [26] Z.H. Chohan, *Appl. Organomet. Chem.*, 2002, **16**, 17.
- [27] M. Julve, M. Verdaguer, A. Gleizes, M. Philoche-Levisalles, O. Kahn, *Inorg. Chem.*, 1984, **23**, 3808.
- [28] M. Julve, J. Faus, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 8306.
- [29] Y. Akhriff, J. Server-Carrió, A. Sancho, J. García-Lozano, E. Escrivá, J.V. Folgado, L. Soto, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 1174.
- [30] R. Baggio, M. T. Garland, J. Manzur, O. Pena, M. Perec, E. Spodine, A. Vega, *Inorg. Chim. Acta*, 1999, **286**, 74.
- [31] R.P. John, A. Sreekanth, V. Rajakannan, T.A. Ajith, M.P. Kurup, *Polyhedron*, 2004, **23**(16), 2549.
- [32] T.S. Lobana, S. Indoria, A.K. Jassal, H. Kaur, D.S. Arora, J.P. Jasinski, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **76**, 145.
- [33] A. Prakash, D. Adhikari, *Int. J. Chem. Tech. Res.*, 2011, **3**(4), 1891.
- [34] R. Cruickshank, J.P. Duguid, B.P. Marmion R.H.A. Swain, *Medical Microbiology*, Wyd. 12, Część II, Churchill Livingstone, London 1975, str. 196.
- [35] A.H. Collins, *Microbiological methods*, Wyd. 4, Butterworth, London 1975.
- [36] E.W. Koneman, S.D. Allen, W.C. Winn, *Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Lippincott Raven Publishers, Philadelphia, USA 1997, str. 86.
- [37] NCCLS, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, Wyd. 2, NCCLS dokument M27-A2, 2002, ISBN 1-56238-469-4.

Praca wpłynęła do Redakcji 1 lutego 2017

BIOMASA – ŹRÓDŁO CENNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH

BIOMASS A SOURCE OF VALUABLE ORGANIC COMPOUNDS

Monika Retajczyk, Agnieszka Wróblewska

*Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej,
Instytut Technologii Chemicznej Organicznej,
ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin
e-mail: monika.retajczyk@zut.edu.pl, agnieszka.wroblewska@zut.edu.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Uwodornienie monosacharydów

1.1 Glukoza

1.2. Fruktioza

2. Terpeny

3. Gliceryna

3.1. Polimeryzacja glicerolu

3.2. Konwersja glicerolu do glikolu propylenowego

4. Tłuszcze

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Mgr Monika Retajczyk ukończyła Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu. Studia. Ukończyła studia pierwszego stopnia o specjalności chemia i analiza żywności i studia drugiego stopnia o specjalności synteza organiczna. W czasie pracy magisterskiej zajmowała się syntezą ligandów do katalizatorów metatezy olefin. Obecnie jest doktorantką na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej, gdzie zajmuje się pozyskiwaniem związków naturalnych i ich izomeryzacją na katalizatorze Ti-SBA-16.

Dr hab. inż. Agnieszka Wróblewska, prof. ZUT ukończyła Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej na Politechnice Szczecińskiej. Obecnie pracuje na stanowisku profesora Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej i jest kierownikiem Zakładu Syntezy Organicznej i Technologii Leków. Stopień doktora habilitowanego uzyskała w 2009 roku. Zajmuje się procesami utleniania i izomeryzacji związków pochodzenia naturalnego, min. limonenu, alfa-pinenu i eugenolu na katalizatorach tytanowo-silikatowych (TS-1, TS-2, Ti-BETA, Ti-MWW, Ti-MCM-41, Ti-MCM-48, Ti-SBA-15 i Ti-SBA-16) oraz na katalizatorach otrzymanych przez karbonizację odpadowych materiałów pochodzenia roślinnego. Ponadto prowadzi badania nad zastosowaniem związków pochodzenia naturalnego do otrzymywania kremów i lakierów o działaniu leczniczym.

ABSTRACT

So far, much attention was paid to processes which allow to obtain biofuels from biomass and less important was receiving from biomass valuable chemical compounds. Biomass is a source of a variety of compounds, such as: hydrocarbons, triglycerides, glycerol, hydroksymetylofurfural, cellulose, hemicellulose and pentoses, lignin and lignocellulose. Taking into account the application of the mentioned above compounds, a large number of articles describing catalytic conversion of biomass to valuable chemical compounds has been written during last 10 years. The articles presented specific types of reactions for compounds contained in biomass, such as: hydrolysis, hydrogenation or isomerization, which allow to obtain valuable products. The reactions are catalyzed among others by: metals deposited on the activated carbon, metal oxides, alloys and zeolites.

Researchers still improve processes, adapting them to the structure of highly functionalized particles contained in biomass and process needs. At the same time, scientist focused on cost reduction.

Renewable raw materials are converted to the intermediates in physical, chemical and physicochemical processes. Next, obtained intermediates are used for receiving valuable chemicals, such as: lubricants, solvents and products that were previously obtained from petroleum.

This work presents the conversion of biomass to compounds which have been already prepared by conventional synthetic methods. Besides chemical pure compounds, catalytic reactions with using metals, lead to obtain mixtures of compounds which can be used for the large volume production: additives for paper, paints, resins, foams, surfactants, lubricants and plasticizers.

In the chemical industry for many years it has been placed emphasis on processes that are environmentally friendly. Scientists have also focused on improving the activity of used catalysts and the selectivity of products.

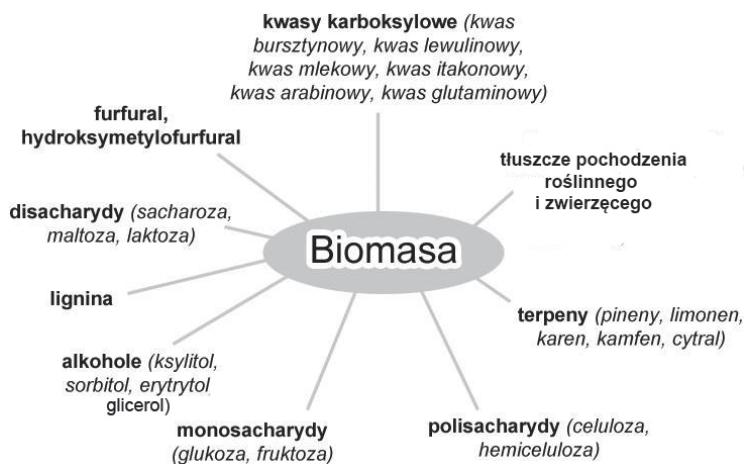
Keywords: biomass, glucose, glycerol, monoterpenes, hydrogenation, catalysis

Słowa kluczowe: biomasa, glukoza, glicerol, uwodornienie, kataliza

WPROWADZENIE

Dzięki dużej różnorodności surowców zawartych w biomase - węglowodory, trójglicerydy, glicerol, 5-hydroksymetylofurfural, celuloza, hemiceluloza i pentozy, lignina i lignoceluloza, w ciągu ostatnich 10 lat powstała ogromna liczba publikacji dotyczących katalitycznej konwersji biomasy do użytecznych związków chemicznych. Przedstawione w tym artykule badania skupiają się na specyficznych typach reakcji związków zawartych w biomase, takich jak: hydroliza, uwodornienie, czy izomeryzacja, które prowadzą do otrzymania wartościowych produktów. Badacze nieustannie ulepszają procesy pozyskiwania cennych związków z biomasy, dostosowując je do struktury wysoko sfunkcjonalizowanych cząsteczek zawartych w biomase, przy jednoczesnym obniżeniu kosztów [1].

Pod pojęciem surowców odnawialnych kryją się produkty naturalne, takie jak: tłuszcze roślinne i zwierzęce, lateks z drzewa kauczukowego oraz biomasa. Surowce odnawialne dotychczas służyły jako źródło energii, jednak coraz częściej pozyskuje się z nich różnorodne i bardzo cenne związki organiczne, które mogą być półproduktami dla wielu gałęzi przemysłu (Schemat 1). Co roku wytwarzanych jest 170 miliardów ton biomasy w wyniku procesu fotosyntezy. 75% biomasy stanowią węglowodory, 20% lignina, a jedynie około 5% związków zawartych w biomase jest wykorzystywanych przez ludzi, jako dodatki do żywności lub do innych celów. Węglowodory zawarte w biomase to heksozy, głównie glukoza oraz pentozy, których głównym składnikiem jest ksyloza. Cukry można przekształcić do użytecznych produktów na dwa sposoby, jednym z nich jest fermentacja, drugim natomiast są reakcje chemiczne [2, 3].



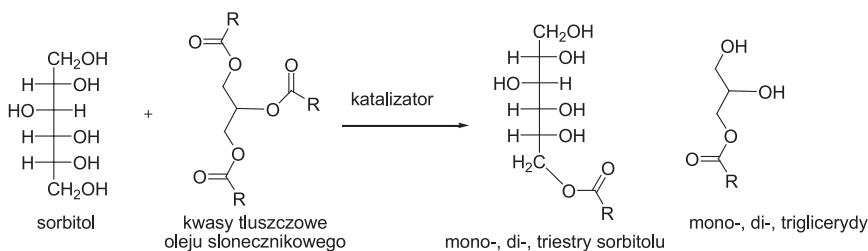
Schemat 1. Związki, których źródłem jest biomasa

Scheme 1. The compounds originating from the biomass

1. UWODORNIENIE MONOSACHARYDÓW

1.1. GLUKOZA

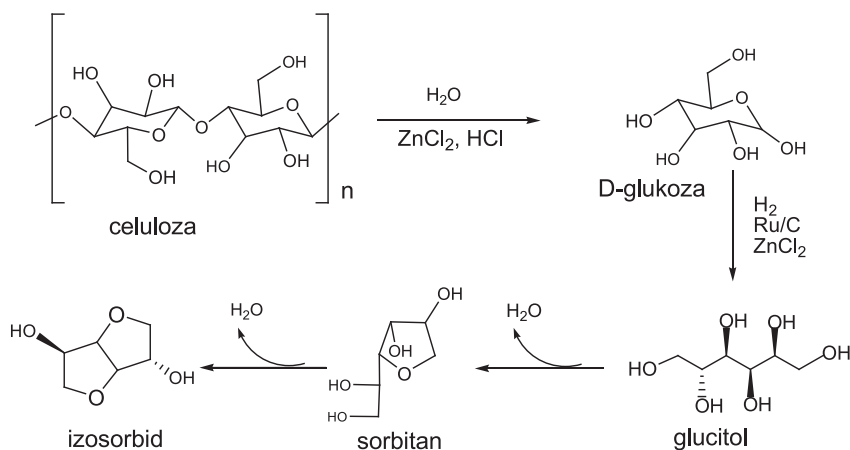
Ponad 800 000 ton sorbitolu rocznie otrzymuje się w procesie katalitycznego uwodornienia D-glukozy uzyskanej na drodze hydrolizy skrobi, która z kolei jest pozyskiwana z upraw zbóż, ziemniaków, manioku, a także kukurydzy. Sorbitol jest związkiem szeroko stosowanym w przemyśle, w szczególności w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, papierniczym, jako zmiękczejący i nawilżający stabilizator. Związek ten stosuje się również do otrzymywania witaminy C. Ester sorbitolu pozyskiwany w reakcji transestryfikacji z olejem słonecznikowym tworzy przyjazny środowisku emulgator Hostacerin SFO (Schemat 2).



Schemat 2. Schemat reakcji otrzymywania emulgatora Hostacerin SFO

Scheme 2. The reaction scheme for preparing the emulsifier Hostacerin SFO

Poprzez podwójne odwodnienie sorbitolu można otrzymać sorbid, który ma duże znaczenie i ze względu na pozytywny wpływ na środowisko stosowany jest do syntezy farmaceutyków, środków higieny osobistej oraz polimerów. Ponadto pochodne 1,4-dianhydrosorbitolu mogą zastąpić groźne dla zdrowia ftalany oraz bisfenol A. Azotowe pochodne 1,4-dianhydrosorbitolu są stosowane w leczeniu choroby wieńcowej oraz jaskry. Związek ten może być otrzymywany z celulozy w trzech następujących po sobie etapach, bez wyodrębniania produktów pośrednich (Schemat 3). W pierwszym etapie zachodzi depolimeryzacja w obecności $ZnCl_2$ w środowisku HCl. W kolejnym etapie prowadzona jest reakcja uwodornienia z zastosowaniem katalizatora Ru/C, ostatni natomiast to dehydratacja [4–8].



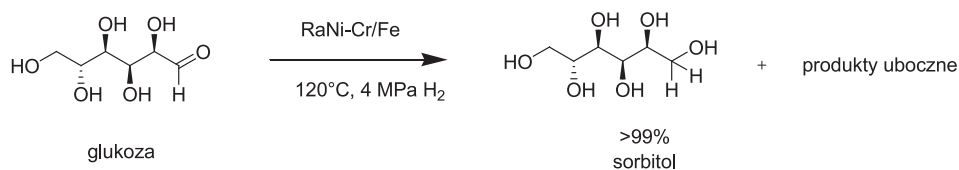
Schemat 3. Schemat otrzymywania izosorbidu z celulozy
 Scheme 3. Reaction scheme the preparation of isosorbide from cellulose

Dehydratację wodnego roztworu sorbitolu zawierającego 5% wag. tego związku przeprowadza się w $245^{\circ}C$ i w atmosferze wodoru. Reakcję prowadzi się w reaktorze ze stali nierdzewnej, natomiast katalizatorem w tej reakcji jest $Pt/Al_2O_3-SiO_2$. Przy wartości parametru WHSV (wyrażającym przepływ masy reagentów w czasie na masę katalizatora) $11,64 h^{-1}$, w wyniku tej reakcji jako jedyny produkt otrzymuje się dwuanhydrat sorbitolu (konwersji surowca 19%) [9].

Reakcja odwodnienia sorbitolu zazwyczaj prowadzona jest w reaktorze zaopatrzone w mieszadło, w zakresie temperatur $80-150^{\circ}C$, pod ciśnieniem od 3 do 7 MPa i w obecności katalizatora na bazie niklu (Nikiel Raneya). Reakcja przebiega w środowisku lekko kwaśnym (pH od 4,5 do 7,0). Szybkość reakcji uwodornienia wzrasta wraz z podwyższaniem pH. Warunki wyższego pH sprzyjają zachodzeniu reakcji Cannizaro, w wyniku czego w reakcji uwodornienia glukozy uzyskuje się 50% sorbitolu oraz 50% kwasu glukonowego [10].

Działanie katalizatora jakim jest Nikiel Raneya może być ulepszone dzięki dodaniu metalicznego aktywatora, co daje poprawę jego aktywności oraz stabilności. Katalizatory te wykazywały selektywność powyżej 99%. Podejmowano również próby uwodornienia glukozy do sorbitolu na Niklu Raneya aktywowanym metalami, takimi jak: Mo, Cr oraz Fe (Schemat 4). Taki układ katalityczny uzyskuje się poprzez działanie sody na stop Ni-Al-M. Uzyskany w ten sposób katalizator wykazuje 7-krotnie wyższą aktywność w porównaniu z katalizatorem bez metalicznego aktywatora. Wyższa aktywność została przypisana polaryzacji wiązania $C=O$ (z aldehydowej formy glukozy) poprzez naładowany dodatnio metal, pełniący funkcję aktywatora, działającego jako centrum kwasowe Lewisa. Ciekawą obserwacją było zachowanie katalizatorów promowanych żelazem, które bardzo szybko ulegają dezaktywacji przez ługowanie. Natomiast katalizatory promowane Mo i Cr wyróżniają się powolnym starzeniem, co wynika z zatrucia centrów przez zaadsorbowanie związków

organicznych. Dezaktywacja katalizatora Nikiel Raneya jest wywoływana obecnością kwasu glukonowego powstającego w reakcji Cannizaro, który powoduje zatrucie centrów aktywnych. Po wielokrotnym wykorzystaniu katalizatora do procesów przemysłowych dochodzi do spiekania metalu, co wpływa na zmniejszenie aktywności powierzchniowej katalizatora, a tym samym ma wpływ na jego dezaktywację [11,12].



Schemat 4. Reakcja uwodornienia glukozy do sorbitolu katalizowanej Nikiem Raneya modyfikowanym Cr/Fe
 Scheme 4. The reaction of hydrogenation of glucose to sorbitol catalyzed with Raney nickel modified with Cr/Fe

Nikiel próbowano zastąpić katalizatorem niklowym na odpowiednio dobranym nośniku. Uwodornienie roztworu zawierającego 40% wag. glukozy było prowadzone w 130°C pod ciśnieniem wodoru (8 MPa). Proces przebiegał w reaktorze fluidalnym w obecności katalizatora niklowego osadzonego na ziemi krzemkowej, zawierającego 48,4% wag. niklu. Aktywność tego katalizatora była niska (5,9 mmol h⁻¹ g Ni⁻¹) i wzrastała w czasie z powodu stopniowego ługowania niklu i nośnika w środowisku reakcji. Z użyciem takiego katalizatora można uzyskać sorbitol przy konwersji glukozy na poziomie 100%. Amorficzny katalizator Ni-B/SiO₂ został przygotowany przez redukcję wodnym roztworem KBH₄. Najlepsze właściwości wykazał katalizator o wielkości ziaren nośnika w postaci SiO₂ pomiędzy 40 a 60 w skali mesh oraz katalizator uzyskiwany w procesie kalcynacji w temperaturze 200°C w czasie dwóch godzin. Katalizator ten wykazywał wyższą aktywność (TON : 0,024 s⁻¹) niż Nikiel Raneya. Katalizator Ni/SiO₂ był otrzymywany różnymi metodami, jednak miał on tendencję do dezaktywowania się w wyniku ługowania, spiekania metalu oraz degradacji nośnika. Katalizatory Ni/SiO₂ były przygotowywane poprzez impregnację kompleksu niklu z etylenodiaminą. Po 5 godzinach w strumieniu, katalizator ten nie ulegał wymywaniu, jednak wykazywał nieco mniejszą aktywność niż dostępne komercyjne katalizatory oraz mniejszą selektywność w reakcji otrzymywania sorbitolu. Katalizatory niklowe osadzone na tlenkach ZrO₂, TiO₂ oraz mieszaninie ZrO₂/TiO₂, wykazywały wyższą aktywność i stabilność niż katalizator Ni/SiO₂ ze względu na brak ługowania nośnika [13–17].

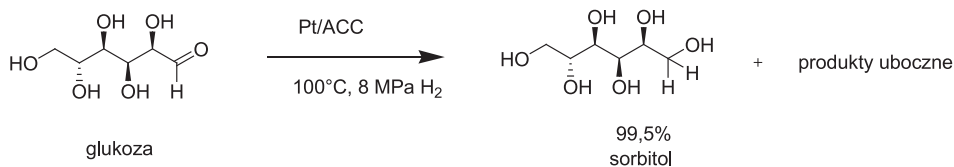
Katalizatory niklowe były podatne na wymywanie i spiekanie oraz wykazywały niską aktywność, dlatego stopniowo zaczęła wzrastać liczba procesów wykorzystujących katalizatory rutenowe. Porównanie aktywności katalizatorów na bazie niklu i rutenu w tych samych reakcjach wykazało, że katalizatory rutenowe są 50 razy bardziej aktywne niż niklowe oraz charakteryzują się dłuższym czasem życia [12, 16, 18].

Alternatywą dla reakcji uwodornienia glukozy do sorbitolu z wykorzystaniem katalizatorów na bazie niklu, może być użycie katalizatora rutenowego osadzonego na węglu. Proces przebiega w autoklawie ze stali nierdzewnej, pod ciśnieniem wodoru równym 4 lub 6 MPa oraz w zakresie temperatur od 100 do 140°C. Warto zauważyć, że zastosowanie katalizatora rutenowego osadzonego na węglu pochodzenia torfowego umożliwia uzyskanie wyższej aktywności niż dla katalizatora osadzonego na węglu drzewnym [16].

Innym, stosowanym w tej przemianie katalizatorem jest katalizator rutenowy osadzony na tlenku niklu modyfikowany tlenkiem tytanu ($\text{Ru}/\text{NiO}-\text{TiO}_2$). Zastosowanie takiego katalizatora pozwala na uzyskanie sorbitolu z większą selektywnością. Odpowiedni dobór warunków reakcji przy określonej zawartości rutenu i tlenku niklu pozwala na uzyskanie sorbitolu z selektywnością powyżej 96%, przy konwersji surowca bliskiej 97%. Powodem tak wysokiej selektywności może być mniejszy stopień wylugowania rutenu z niklowego podłoża w porównaniu z układem katalitycznym, w którym ruten jest osadzony na tlenku tytanu [19].

Szybkości reakcji prowadzonych w reaktorze ze złożem ociekowym są niższe niż tych zachodzących w reaktorze zbiornikowym z mieszaniem i z ciągłym przepływem reagentów, ze względu na ograniczenie przenoszenia masy pomiędzy fazą stałą, ciekłą i gazową. Aktywność katalizatorów rutenowych jest proporcjonalna do powierzchni właściwej katalizatora i nie zależy od rozmiarów cząsteczek. Jednym z przebadanych katalizatorów rutenowych w reakcji uwodornienia glukozy był katalizator osadzony na mezoporowatym materiale typu MCM-40. Katalizator $\text{Ru}/\text{MCM}-40$ otrzymuje się poprzez nasycenie MCM-40 chlorkiem rutenu oraz redukcję z wykorzystaniem formaldehydu, która jest prostszym rozwiązaniem niż redukcja wodorem w wysokiej temperaturze i pod ciśnieniem, co niewątpliwie jest zaletą tej metody. Zastosowanie tak przygotowanego katalizatora pozwoliło na uzyskanie sorbitolu z wydajnością 83%, która zmniejszyła się do 63% w 4 cyklu stosowania katalizatora. Rutenowe nanocząstki osadzone na mezoporowatych mikrowłóknach węglowych wykazywały dużo wyższą stabilność i aktywność niż katalizatory rutenowe, osadzone na węglowych nanorurkach o wielowarstwowych ścianach. Aktywność katalityczna poprawiła się poprzez włączenie azotu w strukturę mikrowłókien, m.in. dzięki zwiększeniu adsorpcji wodoru [20–22].

ACC (ang. *Activated Carbon Clothes*) to materiał wykazujący szereg zalet w stosunku do zwykłej formy sproszkowanych węgla aktywnych (m.in. ma on większą powierzchnię właściwą). Materiał ten całkowicie składa się z węgla aktywnego. Jest to elastyczny materiał posiadający zdolność wydajnego przenoszenia masy z fazy ciekłej bez konieczności stosowania dekantacji i filtracji, a przy tym może być zastosowany do każdego typu reaktora, bez względu na geometrię. Katalizator Ru/ACC wykazuje wysoką aktywność w reakcji otrzymywania sorbitolu ($2,40 \text{ mol h}^{-1} \text{ g Ru}^{-1}$) oraz wysoką selektywność wynoszącą 99,5%, przy konwersji surowca sięgającej 99,7%. Dodatkowym atutem tego katalizatora jest jego łatwe odzyskiwanie. Jeszcze lepsze wyniki udało się osiągnąć z użyciem katalizatora platynowego (Pt/ACC), aż 99,5% selektywności przy 100% konwersji surowca (Schemat 5) [23].



Schemat 5. Reakcja uwodornienia glukozy do sorbitolu katalizowana Pt/ACC

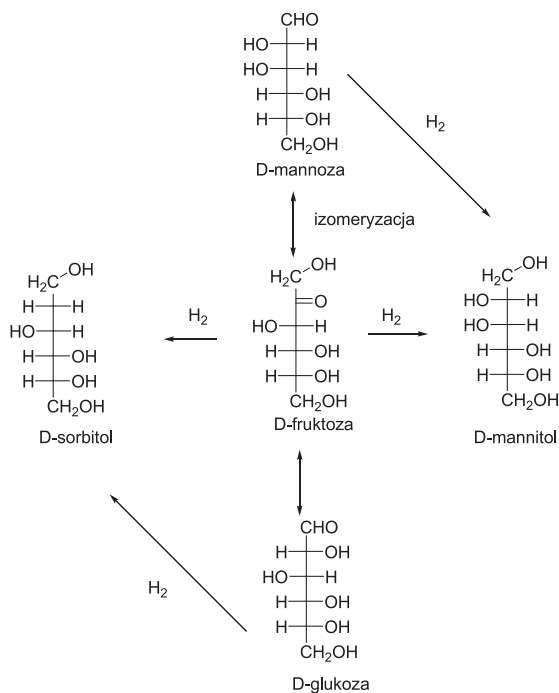
Scheme 5. Hydrogenation of glucose to sorbitol catalyzed by Pt /ACC

Wszystkie badania wskazują, że cząstki rutenu nie ulegają ługowaniu w środowisku reakcji bez względu na ich rozmiar. Jednak ługowaniu mogą ulec niektóre nośniki, np. tlenek glinu i krzemionka. Stabilnymi w środowisku reakcji okazały się TiO₂ i ZrO₂. Po długim czasie przebywania w reaktorze ze złożem fluidalnym pod ciśnieniem, Ru/Al₂O₃ uległ dezaktywacji z powodu przekształcenia struktury tlenku glinu, a także przez zatrucie powierzchni związkami siarki, kwasem glukonowym oraz atomami żelaza, które powstały w procesie wymywania ze ścian reaktora. Wymywanie pierwiastków metalicznych ze ścian reaktora i zatrucie powierzchni katalizatora jest też powodem zmniejszenia konwersji z 99,9% do 98% po 1080 godzinach reakcji w reaktorze. Z kolei katalizator Ru/C wzięty do reakcji w ilości 1,6% wag. po 596 godzinach reakcji w reaktorze ze złożem ociekowym pod ciśnieniem, wykazał mniejszą aktywność o 3,7%, przy czym selektywność utrzymała się na stałym poziomie, otrzymano 99,3% sorbitolu [1, 24–26].

Warto zwrócić uwagę na fakt, że nie wykryto ani ługowania, ani spiekania rutenu. Mniejsza selektywność sorbitolu wynika z jego izomeryzacji do mannitolu z powodu długiego kontaktu sorbitolu z katalizatorem. Katalizator zawierający dwa rodzaje metali (1,6% wag. Ru – 0,2% wag. Pt/C) wykazuje większą stabilność w czasie w porównaniu z komercyjnie dostępnym katalizatorem Ru/C w ilości 1% wag. w mieszaninie reakcyjnej. Katalizator Ru/C był również wykorzystywany w reakcji uwodornienia innych heksoz, takich jak: arabinoza lub galaktoza, a także do uwodornienia disacharydów (maltozy i laktozy) [1, 27, 28].

1.2. FRUKTOZA

Reakcja uwodornienia fruktozy może prowadzić do uzyskania dwóch związków, a mianowicie sorbitolu i mannitolu, ze względu na istnienie fruktozy w dwóch formach cyklicznych (w formie α i β). W trakcie reakcji dochodzi do izomeryzacji fruktozy do mannozy i glukozy, które w reakcji uwodornienia przekształcają się odpowiednio w mannitol i sorbitol według Schematu 6 [1].

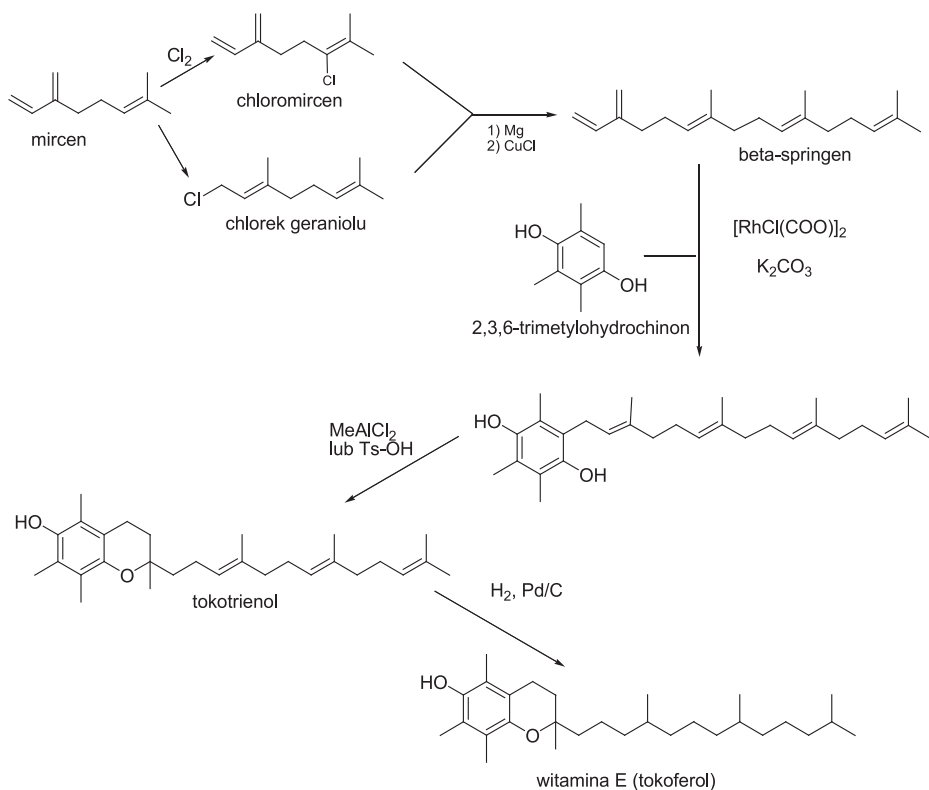


Schemat 6. Schemat uwodornienia fruktozy
 Scheme 6. Diagram of hydrogenation of fructose

Wyzwaniem jest uzyskanie jak największej ilości mannitolu, który jest wartościowym produktem ze względu na swoje właściwości. Mannitol jest stosowany jako niskokaloryczny słodzik. Dużą selektywność tego związku można uzyskać poprzez zastosowanie odpowiedniego bimetalicznego układu katalitycznego. Selektywność mannitolu bliską 50% można uzyskać przy zastosowaniu katalizatorów na bazie platyny oraz Niklu Raneya [11, 29].

Selektywność na poziomie 67% udało się uzyskać katalizując reakcję przy pomocy Cu/SiO₂. Modyfikacja tego katalizatora poprzez dodatek oksoboranów do środowiska reakcji, pozwoliła osiągnąć selektywność w wysokości 85%. Niestety katalizatory na bazie miedzi nie wykazywały wysokiej aktywności, dlatego podjęto próby z użyciem katalizatorów platynowych modyfikowanych dodatkiem aktywującego metalu. Zastosowanie komercyjnie dostępnego Pt/C zmodyfikowanego dodatkiem 1% wag. cyny zwiększyło selektywność z 47% do 63%. Taką selektywność można osiągnąć w temperaturze 72°C i pod ciśnieniem 0,1 MPa H₂. Podobny efekt daje zastosowanie katalizatora palladowego na węglu aktywnym [30, 31].

Inulina jest wielocukrem na bazie monomerów fruktozowych i jest szeroko stosowana w przemyśle spożywczym m.in. do modyfikacji tekstury związków niskotłuszczowych. Może być również przekształcana do mannitolu i sorbitolu w katalitycznej reakcji hydrolizy i uwodornienia. Przykładem takiej reakcji jest reakcja z wykorzystaniem katalizatora rutenowego na podłożu węglowym (Ru/C)

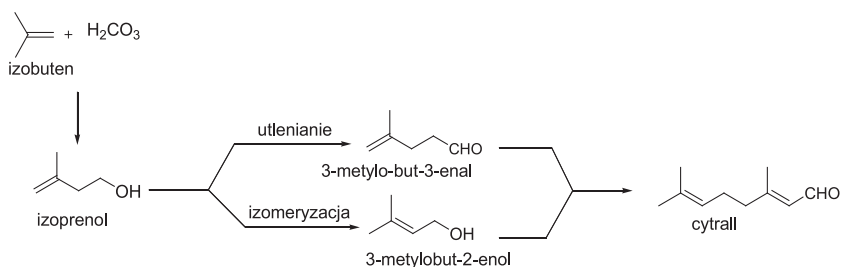


Schemat 8. Schemat syntezy witaminy E

Scheme 8. Scheme of the synthesis of vitamin E

Terpeny pozyskuje się z ciekłej żywicy (terpentyny) głównie drzew iglastych, a także z olejków eterycznych pozyskiwanych z cytrusów. Większość olejków eterycznych jest droga, natomiast naturalne związki, takie jak: limonen, α -, czy β -pinen są tanimi surowcami do syntez wielu cennych związków stosowanych jako środki zapachowe, dodatki do żywności, środki farmaceutyczne oraz rozpuszczalniki [2].

Liczne procesy katalityczne z udziałem terpenów umożliwiają pozyskiwanie wartościowych produktów na drodze uwodornienia, utleniania, izomeryzacji, przegrupowania, hydratacji, hydroformylowania, kondensacji, czy cyklizacji. Głównymi związkami należącymi do terpenów i wykorzystywanymi jako surowiec do syntez związków smakowo-zapachowych są: α -pinen, β -pinen pozyskiwane z terpentyny oraz limonen otrzymywany z olejku pomarańczowego. Jednak przemysłowe otrzymywanie związków zapachowych zazwyczaj odbywa się z użyciem węglowodorów. Dobrym przykładem sposobu syntezy z zastosowaniem węglowodorów jest synteza cytralu. Synteza tego związku, w której substratem jest α -pinen wymaga 5 etapów, podczas gdy użycie do syntezy formaldehydu lub izobutenu skraca ten proces do trzech etapów, a produkt otrzymuje się z wyższą wydajnością (95%) (Schemat 9) [37, 38].

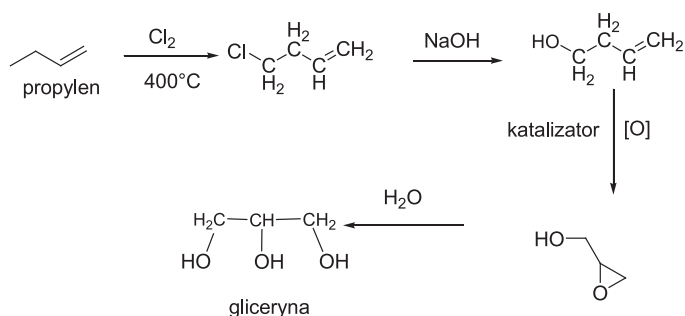


Schemat 9. Otrzymywanie cytralu z izobutenu

Scheme 9. Receiving of citral from isobutene

3. GLICERYNA

Gliceryna (glycerol) może służyć jako substrat w katalitycznych reakcjach utleniania, dehydratacji, estryfikacji i eteryfikacji a także uwodornienia. W wyniku w/w reakcji otrzymuje się wiele użytecznych produktów, takich jak monoglicerydy i diglicerydy stosowane jako surfaktanty w żywności, poliglicerole i ich estry wykorzystywane w farmaceutyce, propanodiole wykorzystywane w medycynie, w przemyśle spożywczym i kosmetycznym oraz wiele innych. Rozwój procesów organicznych opartych na wykorzystaniu glicerolu jako bezpiecznego substratu jest utrudniony ze względu na właściwości fizykochemiczne gliceryny wynikające z obecności trzech grup hydroksylowych, które są powodem dużej hydrofilowości tego związku. Gliceryna jest produktem ubocznym w takich procesach, jak: produkcja mydła, czy też produkcja estrów kwasów tłuszczowych. Glicerol jest też pozyskiwany w procesie fermentacji alkoholowej oraz w syntezach, w których jako substrat stosuje się propylen (Schemat 10) [39, 40].

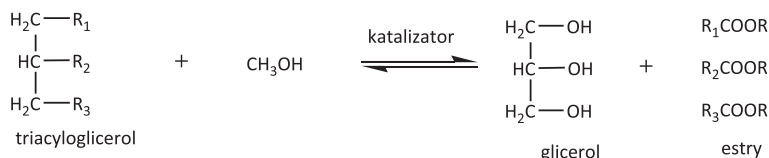


Schemat 10. Otrzymywanie gliceryny z propylenu

Scheme 10. Glycerol obtaining from propylene

Glicerol uzyskuje się w reakcji transestryfikacji triglicerydów do estrów kwasów tłuszczowych stosowanych jako paliwo w silnikach diesla (Schemat 11). Zwiększająca się produkcja biodiesla jest powodem wytwarzania dużych ilości glicerolu,

co wpływa na obniżenie ceny tego związku. Oczekuje się, że w najbliższym czasie cena glicerolu będzie niższa niż sorbitolu, czy glikolu propylenowego. Glicerol ze względu na swoje właściwości jest dobrym zamiennikiem glikolu propylenowego. Zamiast glikolu propylenowego, glicerol może być stosowany do produkcji żywności, w farmaceutykach, w kosmetykach, w płynnych detergentach i jako środek obniżający temperaturę krzepnięcia. Glicerol może również stanowić zamiennik sorbitolu, jako substancja słodząca, składnik past do zębów, dodatek do żywności oraz w pochłaniaczach wilgoci [3].



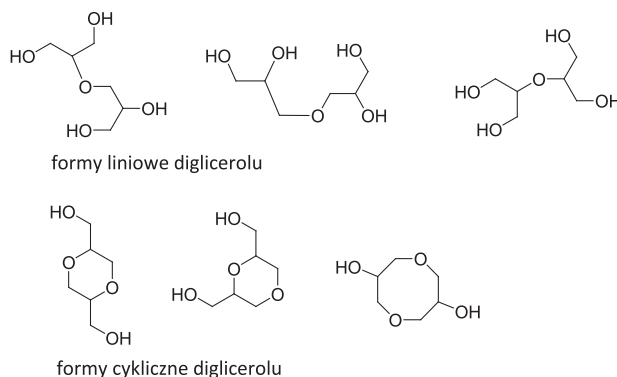
gdzie:
 R1= grupa kwasu palmitynowego
 R2= grupa kwasu oleinowego
 R3= grupa kwasu alfa-linolenowego

Schemat 11. Schemat reakcji transestryfikacji triglicerydów do estrów kwasów tłuszczowych i glicerolu
 Scheme 11. Transesterification of triglycerides, fatty acid esters and glycerol

3.1. POLIMERYZACJA GLICEROLU

W wyniku kondensacji glicerolu otrzymuje się polimery, które są lepкими cieczami o przyjemnym zapachu. Stanowią one półprodukty do otrzymywania estrów z kwasami tłuszczowymi, które mogą być wykorzystane jako substancje emulgujące w przemyśle kosmetycznym i spożywczym. Polimeryzację glicerolu prowadzi się w wysokiej temperaturze (200–260°C) w obecności wodorotlenku sodu lub potasu lub węglanów metali alkalicznych.. W takich warunkach powstaje mieszanina produktów (diglicerolu oraz wyższych poligliceroli). Ze względu na dużą ilość produktów trudno jest kontrolować ich jakość i cechy. W celu uzyskania produktów o niskim stopniu polimeryzacji stosuje się małe ilości katalizatora, co pozwala na pozyskanie 75–80% poliglicerolu. Dzięki temu w pewnym stopniu możliwa jest kontrola tej reakcji. Wśród produktów polimeryzacji najprostszym jest diglicerol, który może występować w formie liniowej lub cyklicznej (Schemat 12). W wyniku kondensacji terminalnych grup hydroksylowych powstają liniowe formy, a rozgałęzione formy powstają w czasie kondensacji drugorzędowych grup hydroksylowych. Obie formy mogą być przekształcane w cykliczne związki w wyniku kondensacji wewnątrzcząsteczkowej. Reakcja polimeryzacji była katalizowana wodorotlenkami, węglanami, tlenkami, a także za pomocą metali. Badania wykazały, że w porównaniu z wodorotlenkami lepsze wydajności osiąga się stosując węglany, co przypisuje się lepszej rozpuszczalności węglanów w glicerolu. Mniejszą aktywność wykazują tlenki magnezu, wapnia i cynku, które nie rozpuszczają się w takich warunkach.

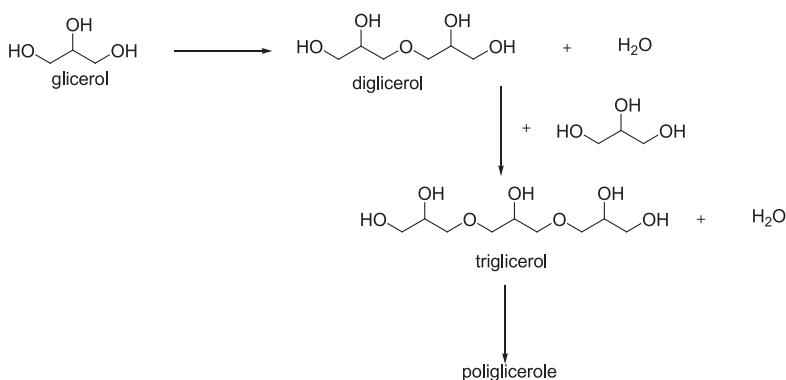
W ostatnich latach polimeryzację glicerolu przeprowadzano w obecności NaOH, a następnie alkoksylowano tlenkiem etylenu lub tlenkiem propylenu [41–43].



Schemat 12. Różne formy glicerolu powstałego w reakcji polimeryzacji

Scheme 12. The different forms of diglycerol formed in the polymerization reaction

Zastosowanie jako katalizatorów zeolitów modyfikowanych magnezem, lantanem, glinem, czy manganem zwiększa selektywność pozyskiwania diglicerydów w porównaniu z selektywnością uzyskiwaną w reakcji katalizowanej węglanami. Zastosowanie zeolitów modyfikowanych lantanem pozwala na otrzymanie diglicerolu z selektywnością 82%, przy konwersji surowca 33%. Natomiast reakcja katalizowana węglanem sodu umożliwia otrzymanie diglicerolu z 27% selektywnością przy wysokiej konwersji surowca, wynoszącej 94%. Dobre wyniki obejmujące aktywność, selektywność oraz stabilność wykazuje czysty mezoporowaty materiał krzemionkowy impregnowany cezem, co pozwala uzyskać sumaryczną selektywność di- i triglicerolu wynoszącą 90% przy konwersji surowca 80% [44].

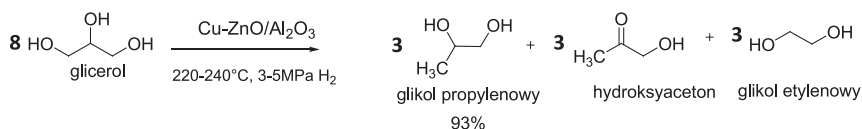


Schemat 13. Schemat otrzymywania poligliceroli z glicerolu

Scheme 13. Reaction scheme of the obtaining polyglycerols from glycerol

3.2. KONWERSJA GLICEROLU DO GLIKOLU PROPYLENOWEGO

Inną, użyteczną przemianą glicerolu może być jego przemiana w glikol propylenowy (propano-1,2-diol). Do niedawna w systemach chłodzonych wodą stosowano glikol etylenowy, co zapobiegało jej zamarzaniu. Jednak pomimo swoich właściwości coraz częściej jest on zastępowany przez propano-1,2-diol (PPD). PPD oprócz zastosowania jako środek obniżający temperaturę krzepnięcia może być również stosowany w przemyśle spożywczym oraz w kosmetykach. Jest on substancją nietoksyczną, a dzięki właściwościom higroskopijnym jest stosowany w kremach, ponieważ zapobiega wysuszeniu skóry. Najczęściej stosowanymi katalizatorami w tej przemianie są katalizatory miedziowo-chromowe oraz niklowo-wolframowe osadzone na tlenku glinu. Zastosowanie bimetalicznego katalizatora Cu-ZnO/Al₂O₃ umożliwia uzyskanie glikolu propylenowego z wysoką selektywnością (93%), przy konwersji surowca 81% (Schemat 14) [45].



Schemat 14. Reakcja otrzymywania glikolu propylenowego z glicerolu katalizowana Cu-ZnO/Al₂O₃

Scheme 14. Reaction scheme of the obtaining of propylene glycol from glycerol catalyzed by Cu-ZnO/Al₂O₃

Komercyjnie PPD otrzymuje się w reakcji uwodnienia tlenku propylenu lub chlorohydryny propylenowej. Propano-1,2-diol można również otrzymać z cukru oraz glicerolu w wyniku fermentacji tlenowej lub beztlenowej. Poprzez uwodornienie gliceryny uzyskuje się propano-1,2-diol z zastosowaniem katalizatora składającego się z różnych rodzajów metali w warunkach wysokiej temperatury i ciśnienia. Proces ten jest mniej selektywny niż wcześniej opisane metody, gdyż oprócz pożądanego produktu otrzymuje się tym sposobem glikol etylenowy, propanol, metanol, dwutlenek węgla, acetal, akroleinę oraz kwas mlekowy. Zaobserwowano, że pod ciśnieniem 30 MPa i w temperaturze 260°C, zastosowanie jako katalizatorów Ni, Ru, Rh oraz Ir sprzyja powstawaniu metanolu, który jest głównym produktem tej reakcji. Natomiast reakcja uwodornienia z zastosowaniem jako katalizatora Miedzi Raneya sprzyja powstawaniu propano-1,2-diolu. Uwodornienie cukrów i glicerolu na katalizatorach zawierających Re (Ni/Re), prowadzi do uzyskania propan-1,2-diolu z wydajnością 44% oraz propano-1,3-diolu z wydajnością 5% po 4 godzinach reakcji przebiegającej pod ciśnieniem 8 MPa oraz w temperaturze 230°C [46–49].

Zespołowi naukowemu Alvise'a Perosa udało się otrzymać propano-1,2-diol z dużą selektywnością. Reakcję prowadzono bez udziału rozpuszczalnika, pod niskim ciśnieniem wodoru (1,01 MPa) w obecności Niklu Raneya i w temperaturze 190°C. Metoda ta pozwala na otrzymanie w/w produktu z wydajnością 71% przy konwersji surowca 97%. W procesie tym nie otrzymuje się propano-1,3-diolu, co

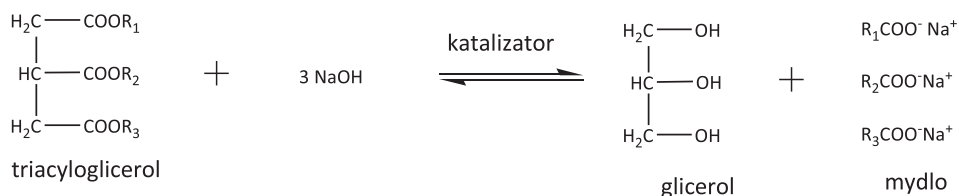
daje przydatną informację, że drugorzędowa grupa –OH jest niereaktywna w reakcji prowadzonej w takich warunkach [49].

Inną metoda otrzymywania jest reakcja z zastosowaniem glikolu propylenowego z udziałem katalizatora mezoporowatego (materiał typu SBA-15), na który naniesiono miedź. Katalizator ten otrzymuje się w wyniku wymiany jonowej. Duża powierzchnia właściwa wysoce uporządkowanego materiału, jakim jest SBA-15, ma znaczący wpływ na stabilność centrów miedziowych i wysoką aktywność katalizatora. Katalizator ten oprócz dużej stabilności, umożliwia otrzymanie produktu z dużą selektywnością, powyżej 92% przy konwersji surowca 96% [50].

4. TŁUSZCZE

Tłuszcze i oleje są najważniejszym surowcem odnawialnym przetwarzanym w przemyśle chemicznym. Rocznie produkuje się 133 Mton olejów roślinnych, z których 107 Mton wykorzystuje się jako produkty żywnościowe, około 11 Mton jest stosowanych do produkcji, pozostałe działy przemysłu wykorzystują 15 Mton olejów roślinnych. Dzięki dużemu postępowi w dziedzinie syntezy organicznej, w katalizie i w biotechnologii nastąpił rozwój produktów na bazie oleju, takich jak surfaktanty, środki smarujące i plastyfikatory. Tłuszcze podobnie jak ropa naftowa, zawierają dużo parafin i olefin, dlatego badania ukierunkowane są głównie na produkcję różnego rodzaju paliw z olejów. Jednak z ekonomicznego punktu widzenia zastosowanie ich do produkcji chemikaliów może być bardziej ekonomiczne. Tłuszcze i oleje mogą być pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego, składają się głównie z triglicerydów mieszanym i pochodnym kwasowym [1].

Trójglicerydy zawarte w tłuszczach pochodzenia roślinnego i zwierzęcego przekształcane są głównie w glicerynę i mieszaninę kwasów tłuszczowych. (Schemat 15). W temperaturze przekraczającej 400°C, w warunkach odpowiedniego ciśnienia, utrzymywanego w czasie 20–30 minut, glicerol jest wychwytywany przez wodę. Produktami częściowej hydrolizy są m.in. monoglicerydy i diglicerydy oraz kwasy tłuszczowe. Kwasy tłuszczowe mogą być wykorzystywane do kolejnych przemian, w wyniku których uzyskuje się produkty o szerokim zastosowaniu, m.in. pochodne amin tłuszczowych wykorzystywane w środkach bakteriobójczych i grzybobójczych oraz pochodne alkoholi oksyetylenowanych, stosowane jako plastyfikatory lub emulgatory. Ze względu na niską rozpuszczalność olejów w wodzie, reakcja w niskiej temperaturze przebiega bardzo powoli, dlatego w celu przeprowadzenia tej reakcji niezbędne są katalizatory. Tłuszcze mogą być podgrzewane w rozcieńczonym kwasie solnym, siarkowym lub rozcieńczonym roztworze NaOH, co pozwala na łatwiejsze oddzielenie produktów. W wodnym roztworze wodorotlenku sodu uzyskuje się glicerol i mydła (sole sodowe kwasów tłuszczowych) (Schemat 15). W wysokiej temperaturze hydroliza zachodzi szybko bez zastosowania katalizatora, ze względu na zwiększoną rozpuszczalność tłuszczu w wodzie. W mniejszej skali do hydrolizy tłuszczów można również stosować lipazę [51, 52].



gdzie:

R1= grupa alkilowa od kwasu palmitynowego

R2= grupa alkilowa od kwasu oleinowego

R3= rgrupa alkilowa od alfa-linolenowego

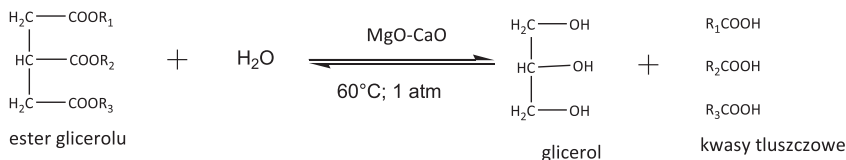
Schemat 15. Otrzymywanie mydła w zasadowej hydrolizie trójglicerydów

Scheme 15. Preparation of soap in the alkaline hydrolysis of triglycerides

Jeden ze sposobów produkcji kwasów tłuszczowych i glicerolu z tłuszczu został odkryty w 1898 roku przez Twitchela. Metoda ta opiera się na wykorzystaniu różnic w temperaturach wrzenia tłuszczu i wody, w obecności kwasowego katalizatora. W badaniach nad hydrolizą naukowcy przyjrzeni się reakcji tłuszczu palmowego z wodą w obecności liniowego kwasu alkilobenzenosulfonowego oraz kwasu siarkowego. Metoda ta była przemysłowo wykorzystywana ze względu na niski koszt i nieskomplikowaną aparaturę, jednak metoda ta wymaga długiego czasu reakcji. Za pomocą tej metody osiąga się w reakcji hydrolizy wydajność około 95% [51, 52].

Inną metodą pozyskiwania glicerolu i kwasów tłuszczowych z tłuszczu jest proces odkryty przez Millsa i Ittnera w pierwszej połowie XX wieku. Ich metoda polegała na ciągłym usuwaniu glicerolu ze środowiska reakcji poprzez przeciwną przepływ wody. Reakcja przebiegała przez kilka godzin z wydajnością do 98%. Proces ten jest wydajny, tani i może być stosowany na skalę przemysłową, jednak nie jest stosowany do hydrolizy wielonienasyconych tłuszczu oraz tłuszczu wielofunkcyjnych, takich jak: np. olej rycynowy. W tych przypadkach stosuje się inne metody obejmujące, m.in. niższą temperaturę reakcji. Chociaż rozpuszczalność tłuszczu w wodzie jest niska, można ją powoli zwiększać poprzez zwiększenie temperatury i zastosowanie odpowiedniego ciśnienia zapobiegającemu jej odparowaniu [1, 53].

W hydrolizie mono-, di- i trójglicerydów zawartych w tłuszczach pochodzenia roślinnego stosuje się heterogeniczną katalizę mieszaniną tlenków MgO-CaO (Schemat 16). Dużą zaletą tego procesu były jego niskie koszty i duża dostępność związków, pełniących funkcję katalizatora. Reakcja biegnie w temperaturze 60°C z wydajnością do 98%. Tlenki magnezu i wapnia w postaci minerałów umożliwiają wymianę jonową między katalizatorem a reagentami, a zajmując 1/15 średnicy kolumny stanowią duży obszar kontaktu pomiędzy emulsją, a katalizatorem. Emulsję utworzoną z oleju i wody umieszcza się na szczycie kolumny, a produkty reakcji są gromadzone i rozdzielane na jej dnie [54].



gdzie:
 $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ = grupy alkilowe pochodzące od kwasów tłuszczowych.

Schemat 16. Hydroliza estru glicerolu katalizowana MgO-CaO

Scheme 16. Hydrolysis of ester of glycerol catalyzed by MgO-CaO

Hydrolizę tłuszczu prowadzi się również z zastosowaniem żywic jonowymiennych. Przebadano różne żywice protonowymiennicze o podobnej kwasowości, różniące się średnicą, objętością porów oraz powierzchnią właściwą. Wytypowane katalizatory były stosowane w reakcji biegnącej z ciągłym wtryskiem pary wodnej, w czasie 6 godzin i w temperaturze 155°C w reaktorze wsadowym. Ten sposób pozwolił uzyskać wydajność 75% [55].

W późniejszych badaniach tej samej grupy badawczej poddano hydrolizie tłuszczu palmowego stosując jako katalizatory kwas wolframofosforowy i molibdenofosforowy oraz sole cezu poddane częściowej wymianie jonowej. Uzyskane wyniki porównano z makroporowatymi żywicami kationowymiennymi oraz mezoporowatym tlenkiem aluminium w postaci sit molekularnych. Okazało się, że sole cezu wykazują 13-krotnie większą aktywność niż kationowymiennicze żywice. Reakcję prowadzono również w reaktorze periodycznym z ciągłym wtryskiem pary wodnej w temperaturze 140–180°C. Z badań wynika, że dobre rezultaty osiąga się z zastosowaniem katalizatorów zawierających silniejsze centra kwasowe, co może być przyczyną niskiej aktywności katalizatorów będących mezoporowatymi materiałami tlenków glinu i krzemu [56].

W 1998 roku udało się otrzymać z dużą wydajnością kwasy tłuszczowe z estrów metylowych zawierających w swojej strukturze od 6 do 10 atomów węgla. Do reakcji prowadzonej w podwyższonej temperaturze użyto kwasu sulfonowego osadzonego na krzemionce. Sposób ten stworzył nowy kierunek badań dotyczący hydrolizy estrów metylowych na zeolitach, żywicach wymiennych oraz związkach zawierających związki krzemu i glinu. Zastosowanie zeolitów okazało się korzystne ze względu na wysoką odporność termiczną tych katalizatorów, która wynika z odpowiedniego stosunku $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$. Prace te doprowadziły do uzyskania wydajności od 53% do 72% w reakcji hydrolizy prowadzonej w temperaturze 230–300° i pod ciśnieniem 7 MPa. Reakcję prowadzono w reaktorze, a zastosowanymi katalizatorami były zeolity. Znacznie lepsze wyniki zostały osiągnięte, gdy proces był prowadzony w reaktorze z ciągłym przepływem pary wodnej, co pozwoliło uzyskać wydajność na poziomie 87–90% [57].

UWAGI KOŃCOWE

Do tej pory dużą uwagę poświęcano procesom uzyskiwania biopaliw z biomasy. Mniejszą wagę przykładano do uzyskiwania z biomasy wartościowych związków chemicznych. Ostatnie badania skupiają się na budowie i mechanizmie działania wielofunkcyjnych katalizatorów, takich jak układy składające się ze stopów metali, zeolity, czy materiały mezoporowate i podkreślają potrzebę dążenia do uzyskania ich lepszych właściwości. Przedstawiony zbiór przemian związków naturalnych zawartych w biomase ukazuje nie tylko szereg możliwości uzyskania cennych produktów, ale też ciągle ulepszone metody i stosowane w nich katalizatory. Dużo pracy zostało już wykonane przez badaczy, co pozwoliło na uzyskiwanie produktów z dużą wydajnością i selektywnością. Są jednak procesy, do których należy chociażby izomeryzacja limonenu, które wymagają ulepszenia pod względem selektywności, reaktywności, czy wydajności, co nadal stanowi wyzwanie dla chemików. Ponadto właściwym kierunkiem badań nad wykorzystaniem surowców odnawialnych do pozyskiwania związków chemicznych powinny być metody przyjazne środowisku, obejmujące tanie procesy bez konieczności separacji produktów końcowych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Besson, P. Gallezot, C. Pinel, *Chem. Rev.*, 2014, **114**, 1827.
- [2] A. Corma, S. Iborra, A. Velty, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 2411.
- [3] B. Burczyk, *Biomasa. Surowiec do syntezy chemicznych i produkcji paliw*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2006.
- [4] J. Dołęga, D. Reutt, *Świat Przem. Kosm.*, 2010, **4**, 44.
- [5] M. Diestelhorst, B. Hinzpeter, G.K. Krieglstein, *Inter. Opth.*, 1991, **15**, 259.
- [6] R. Menegassi de Almeida, J. Li, C. Nederlof, P. O'Connor, M. Makkee, J. A. Moulijn, *Chem. Sus. Chem.*, 2010, **3**, 325.
- [7] M. Kurszewska, E. Skorupowa, J. Madaj, A. Konitz, W. Wojnowski, A. Wiśniewska, *Carbohydr. Res.*, 2002, **337**, 1261.
- [8] H. Kobayashi, H. Yokoyama, Bo Feng, *Green Chem.*, 2015, **17**, 2732.
- [9] N. Li, G. W. Huber, *J. Catal.*, 2010, **270**, 48.
- [10] B. Chena, U. Dingerdisenb, J.G.E. Krauterc, H.G.J. Lansink Rotgerinkc, K. Mobusa, D.J. Ostgardc, P. Pansterc, T.H. Riermeierd, S. Seebaldc, T. Tackec, H. Trauthwein, *Appl. Catal. A: General*, 2005, **280**, 17.
- [11] P. Gallezot, P.J. Cerino, B. Blanc, G. Fleche, P. Fuertes, *J. Catal.*, 1994, **146**, 93.
- [12] B.W. Hoffer, E. Crezee, F. Devred, P.R.M. Mooijman, W.G. Sloof, P.J. Kooyman, A.D. van Langeveld, F. Kapteijn, *J.A. Moulijn, Appl. Catal. A: General*, 2003, **253**, 437
- [13] H. Li, H. Li, J-F. Deng, *Catal. Today*, 2002, **74**, 53.
- [14] N. Dechamp, A. Gamez, A. Perrard, P. Gallezot, *Catal. Today*, 1995, **24**, 29.
- [15] B. Kusserow, S. Schimpf, P. Claus, *Adv. Synth. Catal.*, 2003, **345**, 289.
- [16] K. van Gorpa, E. Boermana, C.V. Cavenaghib, P.H. Berbena, *Catal. Today*, 1999, **52**, 349.
- [17] A.W. Heinen, J.A. Peters, H. van Bekkum, *Carbohydr. Res.*, 2001, **330**, 381.
- [18] B.W. Hoffer, E. Crezee, P.R.M. Mooijman, A.D. van Langeveld, F. Kapteijn, J.A. Moulijn, *Catal. Today*, 2003, **79–80**, 35.

- [19] D.K. Mishra, J.-M. Lee, J.-S. Chang, J.-S. Hwang, *Catal. Today*, 2012, **185**, 104.
- [20] E. Crezee, B.W. Hoffer, R.J. Berger, M. Makkee, F. Kapteijn, J.A. Moulijn, *Appl. Catal. A: General*, 2005, **251**, 1.
- [21] J. Zhang, L. Lin, J. Zhang, J. Shi, *Carbohydr. Res.*, 2011, **346**, 1327.
- [22] J. Liu, P. Bai, X. S. Zhao, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, **13**, 3758.
- [23] A. Perrard, P. Gallezot, J.-P. Joly, R. Durand, C. Baljou, B. Coq, P. Trems, *Appl. Catal. A: General*, 2007, **331**, 100.
- [24] E.P. Maris, W.C. Ketchie, V. Oleshko, R.J. Davis, *J. Phys. Chem.*, 2006, **110**, 7869.
- [25] P. Gallezot, N. Nicolaus, G. Flèche, P. Fuytes, A. Perrard, *J. Catal.*, 1998, **180**, 51.
- [26] Ch.S. Sell, *The Chemistry of Fragrances*, RSC Publishing, Cambridge, 2006.
- [27] D. Sifontes, J.P. Rivero, J.-P. Warma, J.-P. Mikkola, T. Salmi, *Top Catal.*, 2010, **53**, 1278.
- [28] R. Geyer, P. Kraak, A. Pachulski, R. Schodel, *Chem. Ing. Tech.*, 2012, **84**, 513.
- [29] M. Makkee, A.P.G. Kieboom, H. Bekkum, *Carbohydr. Res.*, 1985, **138**, 225.
- [30] A.W. Heinen, J.A. Peters, H. van Bekkum, *Carbohydr. Res.*, 2000, **328**, 449.
- [31] J. Kuusisto, J.-P. Mikkola, P. Perez Casal, H. Karhu, J. Vayrynen, T. Salmi, *Chem. Eng. J.*, 2005, **115**, 93.
- [32] A.W. Heinen, J.A. Peters, H. van Bekkum, *Carbohydr. Res.*, 2001, **330**, 381.
- [33] A. Kołodziejczyk, *Naturalne związki organiczne*, Warszawa 2004, PWN 2003, 504.
- [34] R.G. Berger, *Flavours and Fragrances*, Springer, Berlin, Heidelberg 2007.
- [35] Ch.S. Sell, *The Chemistry of Fragrances*, RSC Publishing, Cambridge 2006.
- [36] E. Breitmaier, *Terpenes. Flavors, Fragrances, Pharmacia, Pheromones*, Wiley-VCH, Weinheim 2006.
- [37] R.A. Sheldon, I. Arends, U. Hanefeld, *Green Chemistry and Catalysis*, Wiley-Vch. Weinheim 2007.
- [38] G.A. Rudakov, L.S. Ivanova, T.N. Pisareva, A.G. Borovskaya, *Gidroliz. Lesokhim. Prom-st.*, 1975, **4**, 7.
- [39] A.N. Misra, R. Soman, S. Dev, *Elsevier*, 1988, **44**, 6941.
- [40] Ch.-H. Zhou, J.N. Beltrami, Y.-X. Fan, G.Q. Lu, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 527.
- [41] F. Jerome, Y. Pouilloux, J. Barrault, *Chem. Sus. Chem.*, 2008, **1**, 586.
- [42] V. Babayan, H. Lehman, *Process for preparation and purification of polyglycerols and esters thereof*, Patent US 3637774 A, 1969.
- [43] Z. Klukowska-Majewska, T. Mroczek, E. Osiejuk, A. Kulczycka, B. Chmielarz, *Sposób otrzymywania poliglicerolu o jasnej barwie*, PL 176878, 1994.
- [44] C. Marquez-Alvarez, E. Sastre, J. Perez-Pariente, *Top. Catal.*, 2004, **27**, 1.
- [45] J.-M. Clacens, Y. Pouilloux, J. Barrault, *Appl. Catal. A: General*, 2002, **227**, 181.
- [46] K. Jarosz, *Katalityczne uwodornienie glicerolu*, [online], internet, [dostęp: 2016-11-28]. Dostępny w internecie: <http://docplayer.pl/10979899-Katalityczne-uwodornienie-glicerolu.html>.
- [47] M. Gryta, W. Tomczak, J. Bastryk, *Inż. Ap. Chem.*, 2013, **52**, **5**, 423.
- [48] T.A. Werpy, J.G. Frye, A.H. Zacher, D.J. Miller, *Hydrogenolysis of 6-carbon sugars and other organic compounds*, WO Patent 2003035582, 2002.
- [49] M.A. Dasaria, P.-P. Kiatsimkula, W.R. Sutterlin, G.J. Suppesa, *Appl. Catal. A: General*, 2005, **281**, 225.
- [50] A. Perosa, P. Tundo, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2005, **44**, 8535.
- [51] J. Zheng, W. Zhu, Ch. Ma, Y. Hou, W. Zhang, Z. Wang, *Reac. Kinet. Mech. Cat.*, 2010, **99**, 455.
- [52] N. Ambrose, J.A. Dzobo, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2006, **45**, 1604.
- [53] L. Lascaray, *L. Ind. Eng. Chem.*, **41**, 786.
- [54] M.H. Ittner, *Hydrolysis of fats and oils*, US Patent 2139589, 1938.
- [55] E. Dias de Moraes E. Silva, K. Hampton, *Continuous splitting process to produce free fatty acids*, US Patent 2006047131, 2006.

- [56] C.J. Yow, K.Y. Liew, J. Amer. Oil Chem. Soc., 1999, **76**, 529.
[57] C.J. Yow, K.Y. Liew, J. Amer. Oil Chem. Soc., 2002, **79**, 357.

Praca wpłynęła do Redakcji 25 stycznia 2017

**RUSZTOWANIA (SCAFFOLDS) STOSOWANE
W MEDYCYNIE REGENARACYJNEJ**
SCAFFOLDS FOR REGENERATIVE MEDICINE

**Agata Chaberska, Piotr Rosiak, Zbigniew J. Kamiński,
Beata Kolesińska***

*Institut Chemii Organicznej, Politechniki Łódzkiej
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź
e-mail: beata.kolesinska@p.lodz.pl

Abstract

Wprowadzenie

1. Standardowe biomateriały stosowane w regeneracji tkanek
 - 1.1. Naturalne materiały
 - 1.2. Materiały syntetyczne
 - 1.3. Materiały hybrydowe
2. Nowoczesne podejścia do tworzenia rusztowań (scaffolds) stosowanych w medycynie regeneracyjnej
3. Peptydy ulegające samo-agregacji/organizacji jako nośniki komórek
 - 3.1. Rodzaje procesów prowadzących do samo-organizacji peptydów
 - 3.2. Czynniki wpływające na proces samo-organizacji peptydów
 - 3.3. Wykorzystanie peptydów ulegających samo-organizacji w inżynierii tkankowej

Podsumowanie

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr inż. Agata Chaberska jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej. W 2016 roku rozpoczęła Studia Doktoranckie na tym samym wydziale. W pracy badawczej zajmuje się syntezą oraz wykorzystaniem materiałów peptydowych otrzymywanych w wyniku procesu samoorganizacji przeznaczonych do regeneracji tkanek.

Inż. Piotr Rosiak jest studentem Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej. Pracę inżynierską wykonał pod opieką dr hab. Beaty Kolesińskiej i dotyczyła ona wykorzystania aromatycznych peptydów jako materiałów użytecznych w medycynie regeneracyjnej.

Prof. dr hab. inż. Zbigniew J. Kamiński jest profesorem zwyczajnym Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej. Badania w dziedzinie nowych metod syntezy organicznej, poszukiwania nowych odczynników kondensujących, odczynników stereoróżnicujących i chemii peptydów.

dr hab. inż. Beata Kolesińska, prof. PŁ jest pracownikiem Instytutu Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej. Jej zainteresowania naukowe koncentrują się wokół syntezy peptydów o zróżnicowanej aktywności biologicznej i ich szerokim wykorzystaniu, poczynając od leków o budowie peptydowej, materiałów peptydowych tworzonych w procesie samoorganizacji peptydów, badań nad agregacją peptydów/białek i poszukiwaniu inhibitorów tego procesu, a skończywszy na oddziaływaniach peptydów z białkami (przeciwciałami). Autor 74 prac naukowych oraz 28 patentów i zgłoszeń patentowych.

ABSTRACT

The presence of three dimensional support is indispensable condition for successful regeneration of the tissue. In the absence of natural scaffold, or absence of its artificial substitute, regeneration is not possible.

The advantage of natural building blocks to create new scaffolds results from the requirements of the materials structures used for tissue regeneration: biocompatibility, biodegradability, lack of cytotoxicity and desirable mechanical properties. Application of these building blocks for the preparation of three dimensional materials should ensure completely biocompatibility of the temporary extracellular matrix equivalent, thus offering construct resembling a natural milieu for the cells and finally regeneration of tissues. These include framework with elements stimulating adhesion of *in vitro* grown cells, growth factors, hormones and vitamins offered as a completed ingredients in the commercially available culture media. 3D frameworks applied for cell growing should facilitate formation of required tissue shape and size as well as appropriate functioning of the cells. The key factor for the successful regeneration of tissues is the function of the scaffold determining the environment for growing cells, directing proliferation and regulating differentiation processes. The basic feature of the cellular scaffold, determining its functioning is porosity. Pore diameter and their abundance consists a critical factor for penetration of cells into the interior of the implant and finally for successful regeneration of damaged tissue. The progress of tissue regeneration *in vitro* depends on the presence of cytokines and growth factors, which are controlling cell differentiation process. Nowadays neither of implant material offered on the market has a property comparable to the natural tissue. However, there are many reports presenting preliminary experiments conducted towards attaining novel supports for regenerative medicine derived from peptides and formed by their self-organization. The most advanced of them are known under trade name PuraMatrix, which recently were applied for the regeneration of soft tissues. However, due to tendency of this materials for hydrogels formation, characteristic for them are disadvantageous mechanical properties. The alternative approach based on application of native ECM proteins was also taken into consideration. The weak points of this materials are the susceptibility of proteins towards proteolytic enzymes and theirs immunogenic properties. The diversity of peptide modules give the opportunity to design and synthesize a variety of biomaterials that mimic the structural complexity of the natural ECM.

Keywords: regenerative medicine, self-assembled peptides, biomimetic scaffolds, extracellular matrix (ECM), functional components of ECM

Słowa kluczowe: medycyna regeneracyjna, samo-organizacja peptydów, biomimetyczne rusztowania, macierz pozakomórkowa (ECM), składniki funkcjonalne ECM

WPROWADZENIE

Inżynieria tkankowa będącą jednym z działów medycyny regeneracyjnej jest definiowana jako „wykorzystanie narzędzi właściwych biologii, chemii i inżynierii materiałowej do naprawy, renowacji i regeneracji tkanek, poprzez wykorzystanie do tego biomateriałów, komórek i czynników wzrostu” [1–3]. Celem inżynierii tkankowej jest zaprojektowanie oraz wytworzenie biomimetyków środowiska komórek, które stanowią trójwymiarową matrycę do osadzania komórek i są zdolne wpływać na komórki w taki sposób, aby były one w stanie funkcjonować tak jak w naturalnym dla nich środowisku [4]. Tym samym materiały stosowane jako rusztowania dla komórek (*scaffolds*) muszą zapewniać odpowiednie mikrootoczenie komórkom i gwarantować wzrost tkanek [5, 6]. Dodatkowo biomateriały te muszą zapewniać adhezję komórkom, ich proliferację, różnicowanie i w końcu odtwarzanie tkanki. Biorąc pod uwagę wszystkie wymagania stawiane biomateriałom stosowanym w inżynierii tkankowej, kluczowy jest skład chemiczny rusztowania, jego właściwości fizyczne oraz aktywność biologiczna, bowiem dopiero połączenie tych wszystkich cech gwarantuje powodzenie procesu regeneracji tkanek [7, 8].

1. STANDARDOWE BIOMATERIAŁY STOSOWANE W REGENERACJI TKANEK

1.1. NATURALNE MATERIAŁY

Naturalnie występujące białka takie jak: kolagen, fibronektyna, żelatyna oraz polisacharydy takie jak chityna, chitozan są od dawna szeroko stosowane jako rusztowania w regeneracji różnorodnych tkanek [9]. Z uwagi na ich pochodzenie, posiadają one właściwości podobne do natywnych tkanek co warunkuje adhezję komórek [10]. Kolagen jest stosowany w inżynierii tkankowej, głównie w regeneracji tkanki nerwowej, chrząstki, naczyń krwionośnych, zastawek serca, więzadeł i ścięgien [11]. Zasadniczą wadą kolagenu jest jego zwierzęce pochodzenie (materiał ksenogeniczny) lub pochodzenie allogeniczne, co powoduje aktywację układu immunologicznego i odrzucanie materiału zastosowanego do regeneracji. Ponadto kolagen pochodzenia ksenogenicznego może nie być dostatecznie czysty, zwłaszcza pod względem mikrobiologicznym, co niesie ryzyko nieznanego wpływu zanieczyszczeń na proces regeneracji [12, 13].

1.2. MATERIAŁY SYNTETYCZNE

Biodegradowalne polimery takie jak kwas poli-mlekowy (PLLA) [14], kwas poli-glikolowy (PGA) [15], poli- ϵ -kaptoprolakton (PCL) [16], ich kopolimery: poli-

(laktydo-*ko*-glycolid) (PLGA) [17], poli(laktydo-*ko*-kaprolakton (PLCL) [18] i ich mieszaniny są stosowane jako materiały do wytwarzania rusztowań użytecznych w regeneracji różnych typów tkanek [19–22]. Materiały te są biokompatybilne i charakteryzują się szerokim zakresem biodegradowalności zależnym od ciężaru cząsteczkowego polimeru, struktury krystalicznej oraz składu mieszanych polimerów. Co istotne, szybkość degradacji, właściwości mechaniczne i właściwości fizyczne mogą być modulowane i przystosowywane do zamierzonego celu [23]. Większość dopuszczonych do stosowania przez FDA poliestrowych biopolimerów stosowanych w medycynie regeneracyjnej charakteryzuje się jednak obniżoną adhezją do osadzanych na nich komórek, co wynika z ich hydrofobowego charakteru [24]. W celu wyeliminowania tej wady prowadzone są badania nad modyfikacją syntetycznych materiałów polimerowych poprzez wprowadzanie związków poprawiających ich aktywność biologiczną [25–32]. Należy również zwrócić uwagę na fakt, że materiały poliestrowe ulegają degradacji a powstające produkty kwasowe mogą powodować znaczne lokalne obniżanie pH tkanek [33, 34].

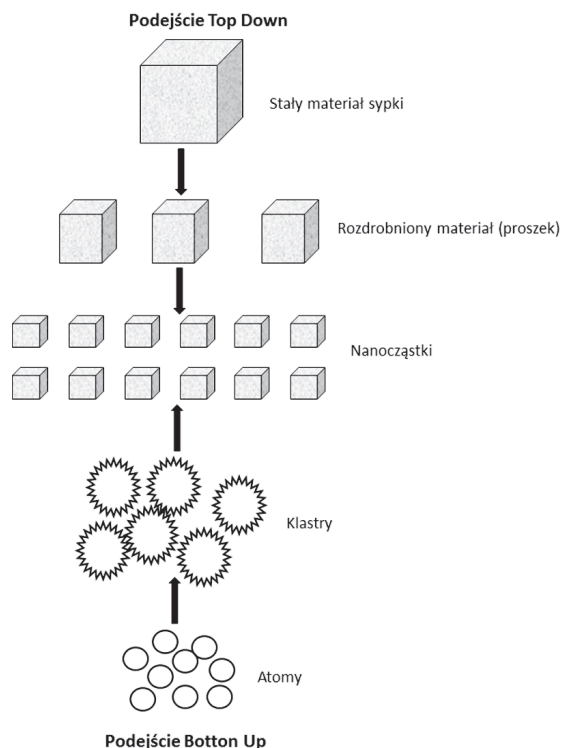
1.3. MATERIAŁY HYBRYDOWE

Rusztowania hybrydowe łączą w sobie zalety zarówno materiałów syntetycznych jak i naturalnych, co pozwala na osiągnięcie właściwości lepszych do pojedynczych składowych. W literaturze opisane zostały przykłady materiałów, które otrzymano w wyniku modyfikacji syntetycznych polimerów za pomocą biocząsteczek, co pozwoliło na otrzymanie układów biomimetycznych, naśladujących funkcję natywnej macierzy pozakomórkowej pod względem topografii oraz funkcji. Almany i współpracownicy opisali syntezę i zastosowanie hydrożeli otrzymanych z glikolu polietylenowego oraz fibrynogenu, co pozwoliło na wytworzenie materiału o ściśle zdefiniowanych właściwościach mechanicznych z zachowaną biofunkcjonalnością niezbędną do regeneracji tkanek [35–37].

2. NOWOCZESNE PODEJŚCIA DO TWORZENIA RUSZTOWAŃ (SCAFFOLDS) STOSOWANYCH W MEDYCYNIE REGENERACYJNEJ

Rusztowania wytwarzane z nanowłókien posiadają ogromny potencjał użytkowy z punktu widzenia inżynierii tkankowej, gdyż naśladują architekturę natywnej macierzy pozakomórkowej (ECM). Charakteryzują się one wysokim stosunkiem pola powierzchni do objętości oraz mikroporowatą strukturą, co ułatwia przyleganie, proliferację, infiltrację, migrację i różnicowanie komórek [38]. Włókna o nano-wymiarach wykazują znaczne podobieństwo do złożonej sieci włókienek kolagenu o średnicach zawartych w przedziale 50-500 nm, które występują w ECM. Dodatkowo właściwości struktur uzyskanych z nanowłókien takie jak elastyczność, czy też porowatość mogą być dostosowywane do wymagań regenerowanej tkanki

[39, 40]. To co istotne, to udowodniony fakt, że komórki dobrze przywierają i we właściwy sposób ulegają organizacji w przypadku rusztowań złożonych z włókien, których średnica jest mniejsza niż średnica komórek [41]. Nanowłókna mogą być otrzymywane na drodze elektroprzędzenia (ang. *electrospinning*), rozdzielania faz (ang. *phase separation*) oraz samo-organizacji (ang. *self-assembly*) [42, 43]. Te trzy techniki zostały również skalsyfikowane z punktu widzenia procesowego jako *top-down* i *bottom-up* (Rys. 1).

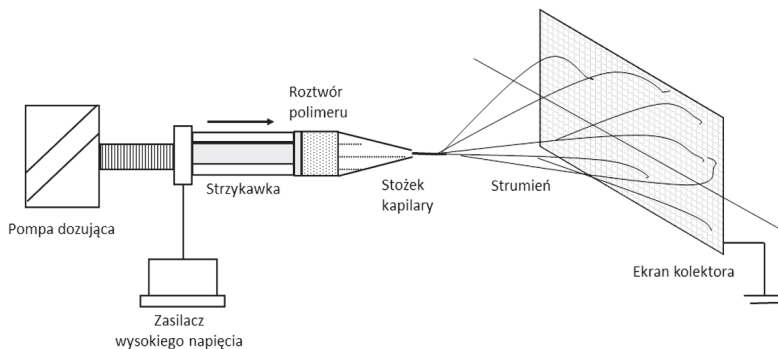


Rysunek 1. Podejście *top-down* oraz *bottom up* do wytwarzania nanocząstek
Figure 1. Top-down and the bottom-up approach for manufacturing of nanoparticles

PODEJŚCIE TOP-DOWN

Podejście „top-down” to tradycyjny sposób zmniejszania rozmiarów materiału (miniaturyzacja większych struktur). Procesy *top-down* obejmują w większości przypadków metody przetwarzające ciała stałe: mielenie – materiał jest rozdrobniony pomiędzy dwoma żarnami w warunkach beztlenowych (co zapobiega utlenianiu materiału rozdrabnianego), nanolitografię podobną do stosowanej do wytwarzania układów scalonych lub elementów optoelektronicznych), technikę wykorzystującą zogniskowaną wiązkę jonów (ang. *Focused Ion Beam*, FIB), trawienie chemiczne

oraz elektroprzędzenie [44, 45]. Wśród wymienionych metod, nanolitografia oraz chemiczne trawienie są metodami najmniej użytecznymi do wytwarzania nanowłókien. Elektroprzędzenie jest obecnie jedną z najważniejszych metod wytwarzania nanowłókien wykorzystywanych do otrzymywania rusztowań dla medycyny regeneracyjnej. Elektroprzędzenie polega na zastosowaniu wysokiego napięcia do przezwyciężenia napięcia powierzchniowego kropli polimeru tworzonej na końcu kapilary. Zastosowanie kapilary pozwala na rozciąganie roztworu do postaci włókien, które zbierane są w statycznym lub dynamicznym kolektorze umiejscowionym w określonej odległości od kapilary.



Rysunek 2. Elektroprzędzenie nanowłókien

Figure 2. Electrospinning as a method of nanofiber production

Uniwersalność tej techniki wynika z możliwości zmian parametrów procesu oraz składu i stężenia roztworów polimeru, co prowadzi do tworzenia nanowłókien o wymaganych wymiarach i orientacji. Elektroprzędzenie jest stosunkowo prostą i niezawodną techniką pozwalającą na uzyskiwanie włókien o odpowiedniej porowatości oraz pożądanym parametrach mechanicznych [46]. Metoda ta pozwala na uzyskiwanie rusztowań o założonych parametrach dwu- i trójwymiarowych (2-D i 3-D) [47]. Technika ta jest stosowana do wytwarzania rusztowań wykorzystanych w regeneracji różnorodnych tkanek. Otrzymano tą metodą jednokierunkowo zorientowane nanowłókna PLGA, które okazały się być efektywniejszym podłożem do osadzania i proliferacji komórek Schwanna w porównaniu do materiałów utworzonych z losowo rozmieszczonych włókien PLGA. Podobne obserwacje stwierdzono dla rusztowań wytworzonych z porowatych włókien z PLGA, które zastosowano w badaniach z użyciem fibroblastów NIH3T3 [48]. Wadą elektroprzędzenia jest otrzymywanie włókien o zróżnicowanym wymiarze (średnica włókna może osiągać nawet wartość mikrometrów) ponadto zmiana rozpuszczalnika wykorzystanego do przygotowania roztworu polimeru może powodować zróżnicowanie porowatości materiału.

Inną techniką szeroko stosowaną w podejściu top-down jest proces rozdzielania faz (ang. *phase separation*) polegający na tworzeniu nanowłóknistych form z polimeru poddanego indukcji termicznej. Proces obejmuje rozpuszczanie polimeru,

rozdzielanie faz ciecz-ciecz, żelowanie polimeru, ekstrakcję odpowiednim rozpuszczalnikiem, a następnie zamrożenie i liofilizację. Rozdzielenie faz jest stosunkowo prostą techniką pozwalającą na otrzymywanie makroporowatych struktur, które zapewniają zagnieżdżanie się komórek. Główną zaletą tej metody jest możliwość modulowania zarówno kształtu i rozmiarów porów poprzez wykorzystanie porogów. Porowate, nanowłókniste materiały uzyskane z PLLA wykorzystano do zagnieżdżania i proliferacji neuronalnych komórek macierzystych (NSC). Stwierdzono, że zastosowane materiały sprzyjały różnicowaniu NSC, co wskazuje na możliwość ich wykorzystania do regeneracji tkanki nerwowej [49]. W porównaniu do elektroprzędzenia, rozdzielenie faz charakteryzuje się niską wydajnością i nie może być zastosowane do wytwarzania długich włókien ciągłych, ponadto metoda ta może być zastosowana jedynie do wybranych polimerów. Natomiast metody wykorzystujące litografię oraz ogniskowane wiązki elektronów (jonów) mogą prowadzić do strukturalnych deformacji materiałów wytwarzanych z biomateriałów (polisacharydy, białka).

PODEJŚCIE BOTTOM-UP

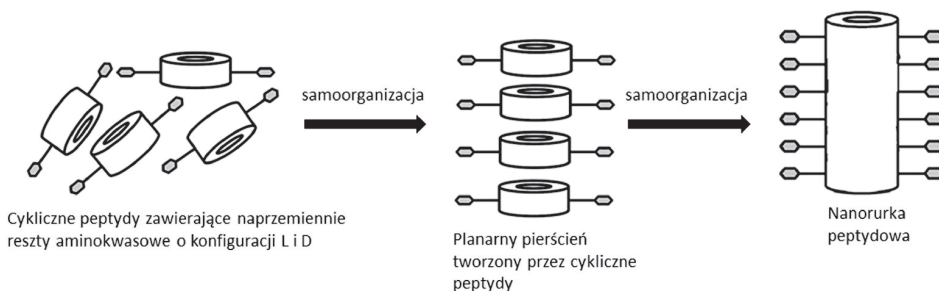
Choć podejście odgórne (*top-down*) jest powszechnie stosowane do otrzymywania rusztowań, charakteryzuje się ono ograniczeniami wynikającymi z niedostatecznej kontroli nad procesem zachodzącym w nanoskali. Ponadto, do wytworzenia złożonych 3-D struktur, żadna z wymienionych metod nie zapewnia możliwości uzyskania materiału o wymiarach nanometrycznych. W podejściu oddolnym (*bottom-up*), pojedyncze bloki budulcowe (atomy, cząsteczki) oddziałują pomiędzy sobą w uporządkowany sposób tworząc nowe supramolekularne struktury. Proces samo-organizacji (samo-agregacji) jest spontanicznym, oddolnym podejściem pospolicie występującym w naturze. Aminokwasy, peptydy, nukleotydy, lipidy, cukry na drodze samo-organizacji tworzą funkcjonalne, złożone struktury [50].

3. PEPTYDY ULEGĄCE SAMO-AGREGACJI/ORGANIZACJI JAKO NOŚNIKI KOMÓREK

Wykorzystanie procesów samo-organizacji jest obecnie jednym z najintensywniej rozwijanych kierunków badań nakierowanych na wytwarzanie rusztowań użytecznych w inżynierii tkankowej. Dzieje się tak, gdyż produkty samo-organizacji naśladują naturalny ECM zarówno pod względem strukturalnym (tworzone są z naturalnych bloków budulcowych) jak i funkcjonalnym (produktami są złożone struktury identyczne z naturalnymi) [51–58]. Proces samo-organizacji jest spontanicznym procesem porządkowania niezorganizowanych cząsteczek w złożone i uporządkowane struktury poprzez wykorzystanie specyficznych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami. Proces ten zachodzi bez jakichkolwiek metod stymulacji

czy kierunkowania [59]. Panuje przekonanie, że samo-organizacja posiada ogromny potencjał do racjonalnego projektowania nanostruktur. Tworzenia założeń (ang. *tailored*) struktur wymaga poznania właściwości bloków budulcowych ulegających samo-organizacji, mechanizmu samo-organizacji czy w końcu kinetyki i dynamiki tego procesu. Oddziaływaniami, które grają kluczową rolę w procesie samo-organizacji są słabe niekowalencyjne oddziaływania takie jak: wiązania jonowe, elektrostatyczne, hydrofobowe oraz van der Waalsa.

Chociaż energia każdego z pojedynczych oddziaływań jest zbyt niska aby tworzyć trwale złożone struktury, to jednak ich współdziałanie w procesie samo-organizacji powoduje, że finalnie tworzone supra-cząsteczki są stabilne. Aminokwasowe bloki budulcowe (peptydy) w procesie samoorganizacji tworzą finalnie uporządkowane struktury drugo- i trzeciorzędowe. Struktury takie jak alfa helisy czy też β -kartki tworzone są z udziałem sieci wiązań wodorowych pomiędzy resztami aminokwasowymi w łańcuchu peptydowym [60]. Jednym z pierwszych przykładów tworzenia nanostruktur na drodze samo-organizacji peptydów były nanorurki peptydowe tworzone przez cykliczne peptydy złożone z naprzemiennie ułożonych D- i L-aminokwasów. Oddziaływanie płaskich pierścieni cyklopeptydów *via* oddziaływanie pierścieni (ang. *stacking*) prowadziło do tworzenia nanorurek [61] (Rys. 3).

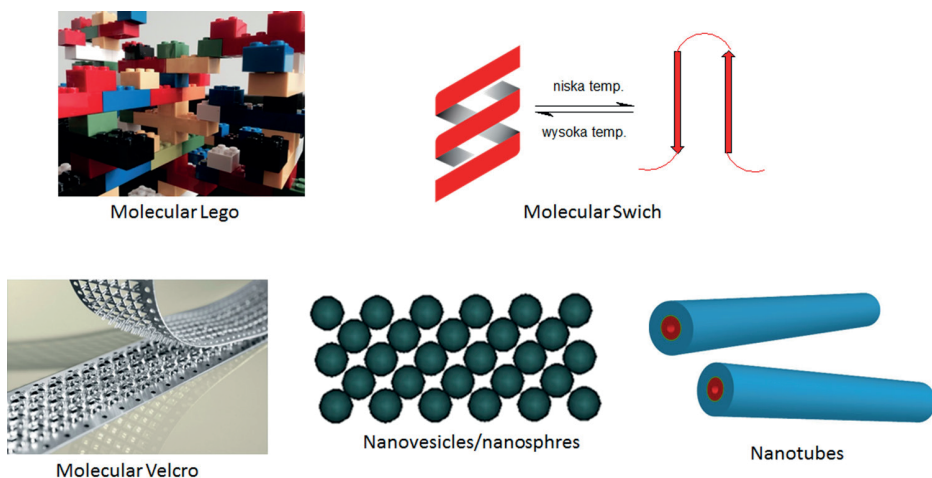


Rysunek 3. Tworzenia nanorurek peptydowych z cyklicznych oktapeptydów cyklo[-(D-Ala-Glu-D-Ala-Gln)₂-] *via* antyrównoległe układanie pierścieni w stos (ang. *antiparallel stacking*)

Figure 3. Formation of nanotubes by cyclic octapeptide cyklo[-(D-Ala-Glu-D-Ala-Gln)₂-] *via* antiparallel stacking of rings

3.1. RODZAJE PROCESÓW PROWADZĄCYCH DO SAMO-ORGANIZACJI PEPTYDÓW

Procesy samo-organizacji peptydów podzielone zastały na kilka kategorii w zależności od struktury peptydów. Grupy te obejmują takie kategorie jak: molekularne Lego (ang. *molecular Lego*), molekularne cargo (ang. *molecular cargo*), molekularne zaczepy (haki) (ang. *molecular hooks*), molekularne rzepy/powierzchnie (ang. *Velcro/molecular carpets*) (Rys. 4).



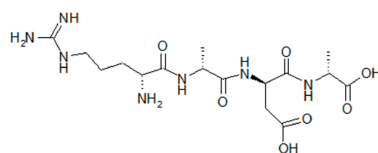
Rysunek 4. Procesy samo-organizacji peptydów prowadzące do zróżnicowanych form finalnych struktur
 Figure 4. The processes of self-organization of peptides leading to various forms of final structures

Peptydy należące do grupy molekularnego lego tworzą wysoce uporządkowane nanowłókna przekształcające się w hydrożelowe rusztowania użyteczne w regeneracji tkanek. Peptydy z grupy molekularnego cargo tworzą nanorurki peptydowe zdolne do przenoszenia leków, białek, czy genów [62], natomiast molekularne zaczepy, czy też molekularne rzepy (Velcro model) wykorzystywane są jako uporządkowane i odpowiednio zorganizowane powierzchnie użyteczne z punktu widzenia medycyny regeneracyjnej [63]. Istnieje jeszcze odrębna grupa tzw. molekularnych łączników, które mogą zmieniać konformację w odpowiedzi na sygnał elektryczny i działać jako siłowniki molekularne [64]. Z pośród wymienionych kategorii, dwie pierwsze klasy są najczęściej wykorzystywane w medycynie regeneracyjnej. Przedstawiona klasyfikacja jest umowna, co powoduje, że identyczne sekwencje peptydowe mogą być przypisane do różnych klas i mieć różne zastosowanie. Peptydy mogą być pochodzenia naturalnego jak również być otrzymywane na drodze syntezy. Również peptydy otrzymywane na drodze technik rekombinacyjnych z wykorzystaniem bakterii i drożdży ostatnimi czasy są coraz częściej stosowane w badaniach, z uwagi na relatywnie niski koszt ich wytwarzania jak i możliwość prowadzenia syntez w dużej skali. Pierwszym syntetycznym peptydem, który znalazł zastosowanie w licznych próbach w obszarze inżynierii tkankowej był peptyd EAK16 – II, tworzący w wyniku samo-organizacji rusztowania o strukturze nanowłókien. Jest to 16 aminokwasowy peptyd, który jest fragmentem białka Zuotin. Białko Zuotin jest 433-aminokwasowym białkiem drożdży zawierającym 34-aminokwasową domenę złożoną z reszt alaniny, lizyny oraz kwasu glutaminowego o sekwencji: AGARAEAEAKAKAESEAKANASAKAD [65]. Z punktu widzenia kategoryzacji peptydów ulegających samo-organizacji jest to peptyd z grupy molekularnego Lego typ I, który w wyniku samoorganizacji tworzy struktury β -kartek tworzące

finalnie hydrożele peptydowe. Peptydy z grupy molekularnego Lego określane są również jako jonowe peptydy ulegające samo-organizacji z uwagi na obecność w ich strukturach zarówno kationowych jak i anionowych aminokwasów.

JONOWE PEPTYDY ULEGAJĄCE SAMO-ORGANIZACJI

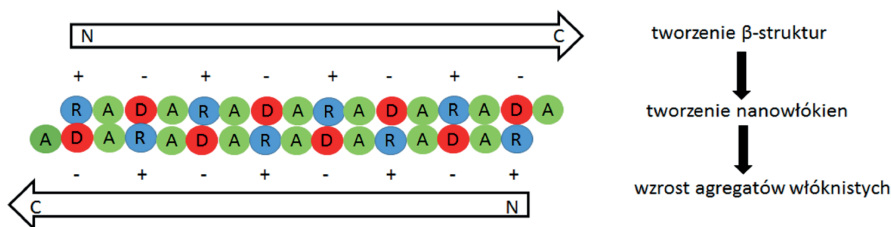
Jedną z najlepiej poznanych grup peptydowych biomateriałów stosowanych w medycynie regeneracyjnej są ulegające samo-organizacji amfifilowe peptydy [66] złożone z powtarzających się jednostek dodatnio naładowanych reszt aminokwasowych (lizyna, arginina) i ujemnie naładowanych reszt aminokwasowych (kwas asparaginowy, kwas glutaminowy), które odseparowane są resztami hydrofobowych pozbawionych ładunków aminokwasów (alanina, leucyna). Najlepiej scharakteryzowanymi peptydami tej klasy są peptydy: RADA16-I o strukturze Ac-RADARADA-RADARADANH₂ oraz RADA16-II (AcRARADADARARADADA-NH₂). Peptydy te tworzą stabilne struktury β -kartek w roztworach wodnych. Charakteryzują się obecnością powierzchni hydrofobowej oraz hydrofilowej i tworzą w wyniku organizacji uporządkowane struktury supramolekularne. Utworzone struktury supramolekularne są stabilne w szerokim zakresie temperatury, pH oraz działania czynników denaturujących.



podstawowa jednostka strukturalna peptydu RADA16-I

Ac-R-A-D-A-R-A-D-A-R-A-D-A-R-A-D-A-CONH₂

RADA16-I



Rysunek 5. Struktura podstawowej jednostki strukturalnej peptydu RADA16-I i jego samo-organizacja
Figure 5. Structure of basic fragment of RADA16-I and its self-organization

Jonowe peptydy ulegające samo-organizacji można podzielić na kilka podtypów w zależności od sposobu ułożenia dodatnio naładowanych reszt aminokwasowych oraz ujemnie naładowanych reszt aminokwasowych tworzących hydrofilową powierzchnię peptydu.

Tabela 1. Podział jonowych peptydów ulegających samo-organizacji na podtypy
 Table 1. Subtypes of ionic peptides undergoing self-organization (self-assembling)

Podtyp I	- + - + - + - +
Podtyp II	- - + + - - + +
Podtyp III	- - - + + +
Podtyp IV	- - - - + + + +

Peptydy RADA16-I oraz RADA16-II (RARADADARARADADA) są pierwszymi ulegającymi samo-organizacji peptydami, które są handlowo dostępne pod nazwą PuraMatrix™. PuraMatrix™ wykorzystany został do regeneracji tkanki nerwowej [67], tkanki kostnej [68], oraz ścięgien [69]. Pomimo faktu, że dokładny mechanizm adhezji oraz proliferacji komórek osadzonych na tym materiale nie jest znany to jednak wykazano, że zagnieżdżone komórki wiążą się z motywem RAD na innej drodze niż klasyczna adhezja z wykorzystaniem integryn zawierających motyw RGD.

PEPTYDY AROMATYCZNE TWORZĄCE W WYNIKU SAMO-ORGANIZACJI STRUKTURY β -KARTEK

Zarówno peptydy (naturalne i syntetyczne) jak i białka zawierające fragmenty tworzące struktury β -kartek charakteryzują się podatnością do samoorganizacji i tworzenia włóknistych nanostruktur [70]. Powstawanie włóknistych nanostruktur łączy się z wytwarzaniem depozytów amyloidowych powstających w wyniku niewłaściwego fałdowania białek. Złogi amyloidowe są charakterystyczne dla chorób określanych jako amyloidozy lub choroby konformacyjne. Przykładami takich chorób są choroba Alzheimera, Parkinsona, cukrzyca i inne. *In vivo* obecność depozytów β -amyloidu utworzonych z włókien peptydowych o strukturze β -kartki stwierdzono w przypadku wielu organów, poczynając od mózgu [71], przez trzustkę, nerki i inne. Dipeptyd złożony z dwóch reszt fenyloalaniny (FF) został zidentyfikowany w strukturach β -amyloidu. Wykazano, że stanowi on motyw rozpoznawczy tworzący, na skutek oddziaływań z pierścieniami aromatycznymi, agregaty peptydowe [72] charakteryzujące się zwiększoną zawartością β struktur. β -Struktury ulegają nakładaniu bocznemu lub osiowemu tworząc finalnie struktury włókniste. W nakładanie osiowe zaangażowane są oddziaływania π - π , zaś w nakładanie bocznym biorą udział głównie oddziaływania elektrostatyczne oraz wodorowe.

Natura utworzonych na drodze samo-organizacji struktur zależy głównie od składu aminokwasowego peptydu. Krótkie peptydy stanowią więc bloki budulcowe w procesie samoorganizacji typu *bottom-up* i są wykorzystywane do tworzenia nowych materiałów w kontrolowanych warunkach fizycznych i chemicznych (pH, temperatura, substraty i inne). Umożliwiło to uzyskanie różnorodnych struktur: nanorurek, nanowłókien, nanopęcherzyków i innych, przy czym morfologia materiału zależała od struktury peptydu oraz warunków samo-organizacji [73].

3.2. CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA PROCES SAMO-ORGANIZACJI PEPTYDÓW

Wiele peptydów w roztworach wodnych o pH zawartym w szerokim przedziale ulega spontanicznej agregacji tworząc uporządkowane struktury makroskopowe. Zazwyczaj tworzone są hydrożele, w których zawartość wody wynosi więcej niż 99%. Dzieje się tak z uwagi na charakter jonów obojnaczych struktur ulegających agregacji. Fakt ten sprawia, że układy takie są zdolne mimikować [74] natywną tkankę nerwową [75], skórę, tkankę mięśnia sercowego [76] czy naczynia krwionośne [77]. W oparciu o badania SEM oraz AFM wykazano, że struktury powstające na drodze samo-organizacji tworzą sieć nanowłókien o średnicy 10–20 nm oraz średnicy porów 10–200 nm. Proces tworzenia uporządkowanych struktur przez amfifilowe peptydy zależy od warunków zewnętrznych: pH, temperatura, stężenie soli i innych.

Przykładowo peptydy RADA16 i EAK16 przy niskim stężeniu soli nie są podatne na tworzenie hydrożeli, jednak już w warunkach fizjologicznych ulegają samo-organizacji tworząc hydrożelowe agregaty [78]. Przykładem obrazującym wpływ pH na proces samo-organizacji jest peptyd P11-4 (QQRFEWEFEQQ) dla którego punkt izoelektryczny wynosi 4,2. Obecność reszt kwasu glutaminowego i argininy w cząstce sprawia, że jest on wrażliwy na zmiany pH. Przy niskim pH występuje jako stabilny zdyspergowany układ zawierający struktury włókniste, w których grupy guanidynowe obdarzone są ładunkiem dodatnim, jednak przy wyższym pH, grupy funkcyjne kwasu glutaminowego przyjmują ładunek ujemny co może być przyczyną oddziaływań odpychających prowadzących do dysocjacji fibryli do monomerów [79]. Również stężenie peptydu może wpływać na proces samo-organizacji. Przy niskim stężeniu (<10 mg/ mL) peptyd P11-4 tworzy hydrożele przy pH poniżej wartości punktu izoelektrycznego. Wytlumaczeniem tego jest antyrównoległe ułożenie łańcuchów tworzących strukturę β -kartek co prowadzi do tworzenia włókien. Powyżej krytycznego stężenia (>10 mg/mL), peptyd ten tworzy hydrożele przy pH 7,4. Postuluje się, że za wynik samo-organizacji odpowiedzialne jest tworzenie wiązań wodorowych pomiędzy łańcuchami peptydów. Wykazano, że zmiany w strukturze reszt hydrofobowych aminokwasów w łańcuchu peptydowym, czy też ilości tych reszt wpływają na szybkość tworzenia struktur włóknistych oraz mechaniczną wytrzymałość włókien. Zmiany w obrębie reszt hydrofilowych nie wpływają na szybkość procesu samo-organizacji, jednak mają wpływ na morfologię tworzonych struktur. Zależność ta dotyczy zmian strukturalnych w aminokwasach przy zachowaniu ich sumarycznego ładunku oraz jego lokalizacji w peptydzie. Warto tu podkreślić, że odwrotne rozmieszczenie ujemnie oraz dodatnio naładowanych reszt aminokwasowych poprzez ich zamianę odpowiednio na dodatnio lub ujemnie naładowane reszty skutkuje brakiem podatności na samo-organizację.

3.3. WYKORZYSTANIE PEPTYDÓW ULEGAJĄCYCH SAMO-ORGANIZACJI W INŻYNIERII TKANKOWEJ

Peptydy RADA16-I i RADA16-II wykorzystane zostały w regeneracji tkanki nerwowej [80]. W badaniach z użyciem komórek PC 12 (*rat pheochromocytoma 1*) stwierdzono, że rusztowanie zbudowane z peptydu RADA16-I sprzyja proliferacji i różnicowaniu neuronalnych komórek macierzystych (ang. *neural stem cells*, NSCs) wspomagając rozrost neurytów. RADA16-I wykorzystany został również w badaniach nad regeneracją mózgu i wspomagał regenerację nerwu wzrokowego (badania na chomikach). Peptyd ten wykorzystano również w rekonstrukcji uszkodzeń mózgu (badania na szczurach) [81]. Oprócz prac badawczych wykorzystujących peptyd RADA16-I w regeneracji tkanki nerwowej, wykazano, że rusztowanie z tego peptydu poprawia proliferację hepatocytów szczurzych oraz co istotne, hepatocyty namnożone na tym rusztowaniu peptydowym podejmowały właściwe funkcje komórek wątroby po ich przeszczepie do uszkodzonego organu [82].

Peptydy RAD (Tab. 2) wykorzystane zostały jako rusztowania dla komórek trzustki. Stwierdzono, że komórki nie tylko proliferowały, ale zachowywały również swoje funkcje. Autorzy twierdzą, że wyniki te wskazują na możliwość zastosowania peptydów ulegających samo-organizacji jako obiecujących układów, które mogą znaleźć zastosowanie w przeszczepach trzustki [83].

Hydrożele tworzone w wyniku samo-organizacji peptydu KLD-12 (Tab. 2) zostały wykorzystane jako rusztowania do utworzenia materiału mimikującego macierz pozakomórkową chrząstki. Wykorzystanie tego rusztowania pozwoliło na stworzenie 3-D kolonii komórek umożliwiających regenerację tkanki chrzęstnej. Peptyd KLD-12 wykorzystano w regeneracji krążków międzykręgowych (badania na królikach) używając do tego celu mezynchemałnych komórek macierzystych (MSCs).

W innych badaniach, dodekapeptyd (KLDL)₃ zastosowano w badaniach *in vivo* regeneracji chrząstki stosując chondrocyty i komórki macierzyste szpiku kostnego (ang. *bone marrow stem cells*, BMSCs) [84].

Peptyd d-EAK16 złożony z aminokwasów o konfiguracji D pozwolił na regenerację uszkodzenia wątroby [85].

Rusztowania złożone z nanowłókien peptydu IKVAV wykorzystano w badaniach z użyciem komórek PC12. Obserwowano znaczący wzrost adherencji komórek. Ten sam peptyd wykorzystano w badaniach nad angiogenezą (regeneracja naczyń krwionośnych).

Tabela 2. Wybrane przykłady wykorzystania rusztowań (*scaffolds*) tworzonych przez samo-organizujące się peptydy

Table 2. Selected examples of scaffolds formed by the self-assembling peptides

Peptyd	Sekwencja	Pochodzenie peptydu	Zastosowanie	Wynik badań
RADA16-1 BMHP1	Ac-RADARADARADARADA- GGPFSSTKT-CONH ₂	Peptyd 1 specyficzny dla szpiku kostnego (BMHP1)	Transplantacja jako układów o działaniu neu- roprotetycznym Hybryda zło- żona z nano- włóknien uzyska- nych techniką elektroprzędze- nia oraz nano- materiałów peptydowych otrzymanych w wyniku procesu samo- organizacji	Rekonstrukcja oraz odbudo- wanie uszko- dzeń w rdzeniu kręgowym
RADA 16-1- BMHP1	Ac-(RADA) ₄ GGPFSSTKT-NH ₂	BMHP	3-D ruszto- wanie dla zagnieżdżenia i proliferacji neuronowych komórek macierzystych (NSC)	Obecność funk- cjonalnego frag- mentu poprawia znaczaco proli- feracje oraz różnicowanie komórek NSC
RADA16-1- BMHP2	Ac-(RADA) ₄ GGSKPPGTSS-NH ₂	BMHP		
RADA16-1- RGD	Ac-(RADA) ₄ - GPRGDSGYRGDSG-NH ₂	Kolagen VI		
RADA16-1	(RADA) ₄	-		
MMP-2	(C16-GTAGLIGQS)	Metalopro- teinaza 2 macierzy pozakomór- kowej	Hybrydowy materiał zło- żony z nano- włóknien PCL uzyskanych na drodce elektro- przędzenia oraz nanostruktur peptydowych otrzymanych w wyniku samoorganizacji	Znacząca po- prawa adhezji, infiltracji i pro- liferacji ludzkich mezenchymal- nych komórek macierzystych
RGDS+MMP-2	(C16-GTAGLIGQSRGDS)	Naturalny ligand pro- cesu adhezji RGDS		
Fmoc FF/RGD	FF/RGD	Sekwencja RGD	3-D ruszto- wanie dla ludz- kich fibrobla- stów skóry	Proliferacja komórek na rusztowaniu FF/ RGD Właściwa mor- fologia komórek

Peptyd	Sekwencja	Pochodzenie peptydu	Zastosowanie	Wynik badań
SAPNF	RADA	-	Potencjalne substraty pozwalające na transplatację wysepek trzustki	Wzrost vitalności i efekt stymulowania wysepek trzustki przez materiał rusztowania
d-EAK6	EAK16	Peptyd ulegający samo-organizacji złożony z aminokwasów o konfiguracji D	Badania hemostazy w króliczym modelu gojenia urazów wątroby	Szybka homeostaza
YIG	AcN-YIGSR-GG-(RADA)-CONH ₂	Laminina 1	Rusztowanie uzyskane z koniugatu funkcjonalnego peptydu oraz peptydu podanego na samoorganizację, badanie funkcji komórek śródbłonna ludzkiej aorty	Poprawa adhezji komórek
RYV	AcN-RYVVLPR-GG-(RADA) ₄ -CONH ₂	Laminina 1		
TAG	AcN-TAGSCLRKFSTM-GG-(RADA) ₄ -CONH ₂	Kolagen IV		
IKVAV-PA	C ₁₆ H ₃₁ O-A ₃ G ₄ D ₂ IKVAV	Domena występująca w łańcuchu α1 lamininy	Badania różnicowania komórek macierzystych szpiku kostnego (BMSC) do neurocytów	Znacząca poprawa adhezji komórek BMSC oraz ich różnicowania do neurocytów
FGL-PA	C ₂₂ H ₄₅ -NH-AAAGGGEVYVVAENQQGKSKA-COOH	Modulator czynnika wzrostu fibroblastów	<i>In vitro</i> biokompatybilność z neuronalnymi komórkami macierzystymi	Poprawa różnicowania neuronów
P24	(S[PO ₄]) KIPKASSVPTLSAISTLY-LDDD	Fragment białka morfogenetycznego kości 2 (BMP2)	Badanie nad regeneracją tkanki kostnej z użyciem rusztowania utworzonego z kolagenu funkcjonalizowanego fragmentami białka BMP2	Osteoinduktywność oraz osteogeniczność na poziomie białka BMP2

Peptyd	Sekwencja	Pochodzenie peptydu	Zastosowanie	Wynik badań
KLDL3	AcN-KLDLKLKLDL-CNH ₂	-	Rusztowanie uzyskane z peptydów ulegających samo-organizacji oraz fragmentów czynników wzrostu dla chondrocytów i komórek podścieliska szpiku kostnego	Obserwowane uwalnianie czynnika wzrostu, umożliwiające regenerację tkanki chrzęstnej w warunkach <i>in vivo</i>

Jednak rusztowania oparte o peptydy tworzące w wyniku samo-organizacji trójwymiarowe struktury nie są materiałem idealnym. Głównym ich ograniczeniem jest brak specyficznych oddziaływań z komórkami. Funkcje takie posiada naturalna macierz zewnątrzkomórkowa. Idealnym z punktu widzenia inżynierii tkankowej byłoby uzyskanie materiałów łączących powierzchnię nanowłókien z aktywnością składników ECM.

W odpowiedzi na to wyzwanie, podjęte zostały badania nad drugą generacją rusztowań peptydowych, utworzonych z peptydów podatnych na samo-organizację ale zawierających dodatkowo fragmenty białek macierzy pozakomórkowej, które taką aktywność gwarantują [86]. Najprostszym rozwiązaniem jest bezpośrednio dobudowywanie funkcjonalnych fragmentów do peptydów ulegających samo-organizacji. Fragment funkcjonalny dobudowywany jest do C-końca peptydu. W celu zwiększenia eksponowania fragmentu funkcjonalnego i tym samym lepszego jego oddziaływania z receptorem komórki stosowane są łączniki pomiędzy obydwoma fragmentami peptydowymi. Najczęściej jako łącznik stosuje się dipeptyd złożony z reszt glicyny. Podejście to zostało zastosowane w syntezie koniugatu zawierającego peptyd RADA-I 16 z dwoma jednostkami RGD dając w ten sposób strukturę PRG (PRGDSGYRGDS). Uzyskane z tych koniugatów rusztowania zastosowane w badaniach z użyciem osteoblastów charakteryzowały się podwyższoną proliferacją, zdolnością do różnicowania i migracji. Peptyd RADA16 w połączeniu z motywem PRG (PRGDSGYRGDS) oraz fragmentem lamininy PDS (PDSGR) warunkującej adhezję komórek znacząco stymulował fibroblasty więzadeł okołozębowych do produkcji białek macierzy: kolagenu typu I i typu III, bez użycia dodatkowych czynników wzrostu, co wskazuje na przydatność takiego koniugatu w leczeniu ran oraz regeneracji tkanki przyzębia [87].

W innych badaniach peptyd RADA16-I połączony z dwoma fragmentami funkcyjnymi PRG oraz fragmentem KLT (aktywującym receptor VEGF) użyto w badaniach nad proliferacją ludzkich komórek śródbłonna żyły pępowinowej (ang. *Human Umbilical Vein Endothelial Cell*, HUVEC). Stwierdzono wyższą przeżywalność, migrację, proliferację oraz tubulogenezę komórek w porównaniu do zastosowa-

nia rusztowania złożonego jedynie z RADA16-I [88]. Koniugaty peptydu RADA16-I z fragmentami białek błony podstawnej: lamininy-1 (YIGSR, RYVVLPR) oraz kolagenu IV (TAGSCLRKFSTM) wykorzystano w badaniach z komórkami śródbłonna ludzkiej aorty. Podjęte zostały również próby łączenia izolowanych z ECM ligandów o sekwencjach: RGDS, DGEA z amfifilami peptydowymi (ang. *Peptide Amphiphiles*, PA). Uzyskane materiały charakteryzowały się synergistycznym wzrostem różnicowania osteoblastów [89].

Od idealnego materiału użytecznego w inżynierii tkankowej oczekuje się dodatkowo odpowiedniej porowatości. Porowatość materiału sprzyja inkorporacji komórek, ich migracji i proliferacji. Materiały peptydowe tworzone w procesie samo-organizacji niestety charakteryzują się niską porowatością (w tym również brakiem kontroli rozmiarów porów), brakiem zdolności do tworzenia struktur trójwymiarowych (z wyjątkiem hydrożeli) oraz niewystarczająca trwałością mechaniczną. Należy również pamiętać, że peptydy ulegają degradacji pod działaniem enzymów proteolitycznych, tym samym konieczne jest synteza obiektów odpornych na działanie enzymów bądź prowadzenie systematycznych badań nad optymalnym profilem degradacji rusztowań peptydowych pod działaniem proteaz.

W przeciwieństwie do nanowłókien uzyskiwanych na drodze elektroprzędzenia z polimerów, nanowłókna peptydowe otrzymywane w procesie samo-organizacji nie są ciągłe, co może skutkować ich fagocytozą do wnętrza komórek [90]. Z drugiej jednak strony należy pamiętać, że nanowłókna otrzymane z syntetycznych polimerów w procesie elektroprzędzenia, pomimo, że mają bardzo dobre parametry mechaniczne, fizyczne i zapewniają porowatość struktur, również posiadają liczne wady. Nie mają one możliwości wytworzenia sygnału molekularnego do rozpoczęcia adhezji komórek na ich powierzchni, co skutkuje koniecznością ich modyfikowania w sposób zapewniający zachowanie właściwości mechanicznych i topografii [91], co nie jest operacją prostą do wykonania. Co prawda próbowano wykorzystać elektroprzędzenie do tworzenia włókien z kolagenu lub żelatyny, jednak białka te ulegały denaturacji i traciły również integralność strukturalną [92]. Przedstawione fakty wskazują więc na konieczność poszukiwania trzeciej generacji rusztowań komórkowych, które nie tylko zapewnią odpowiednią powierzchnię, porowatość, właściwości mechaniczne, oddziaływanie z receptorami komórkowymi, ale zagwarantują również komunikowanie się komórek poprzez cytokiny lub czynniki wzrostu. Wykazano, że najbardziej obiecujące wyniki uzyskiwane są w przypadku zastosowania jako rusztowań, hybrydowych układów wieloskładnikowych złożonych z odpowiednio uformowanych polimerów oraz struktur uzyskiwanych na drodze samo-organizacji peptydów. Podejście to zostało zastosowane w regeneracji rdzenia kręgowego. Jako rusztowanie zastosowano: nanokompozyt utworzony w procesie elektroprzędzenia PLGA/PCL włókien, hydrożelu uzyskanego w trakcie samo-organizacji włókien koniugatu peptydu RADA16-1 z fragmentem funkcjonalnym BMHP1. W tym przypadku stwierdzono, że gdy zastosowano łącznik glicynowy pomiędzy peptydem RADA16-I oraz fragmentem funkcjonalnym finalne hydrożele

charakteryzowały się wyższą stabilnością rusztowania. Dla dłuższych łączników glicynowych obserwowano wzrost stabilności rusztowania oraz poprawę adhezji i proliferacji komórek [93].

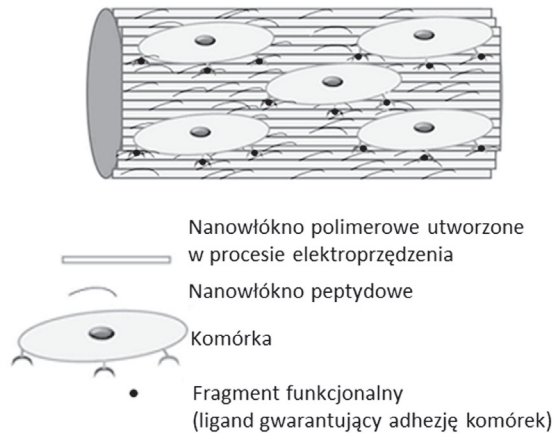
Hybrydowe implanty kostne tworzone były poprzez wypełnianie porowatych pianek tytanowych Ti-6Al-4V za pomocą nanowłókien peptydów amfifilowych. Dla tego materiału wykazano zarówno oczekiwaną mineralizację jak również odpowiedź komórkową na granicy komórki gospodarza – implant [94]. Porowate implanty tytanowe gwarantują długotrwałą stabilność materiału, zaś pożądana osteointegracja ulega wzrostowi dzięki obecności w amfifilowych nanowłóknach peptydowych motywu RGD.

Hybrydowy hydrożel złożony z *N*-(2-hydroksypropylo)metakrylamidu (HPMA) oraz nanowłókien peptydowych o strukturze β -kartki jest jednym z pierwszych materiałów, dla którego obserwowano osteoindukcję w warunkach *in vivo* [95]. Opisany hybrydowy hydrożel posiadał zdolność orientowania hydroksyapatytu (HA) tak jak w kości. Autorzy sugerują, że za orientację HA odpowiada struktura β -kartki nanowłókna peptydowego. Obecność HPMA eliminuje słabe właściwości mechaniczne charakterystyczne dla agregatów peptydowych.

Kompozyt złożony z hydroksyapatytu oraz peptydu RADA16 testowano z użyciem mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) pod kątem regeneracji tkanki kostnej. Obserwowano właściwe różnicowanie komórek [96]. W tym przypadku hydrożel otrzymany z RADA16 zapewnia trójwymiarowe rusztowanie dla zagnieżdżania się komórek MSC, zaś HA gwarantuje odpowiednie właściwości mechaniczne rusztowania.

Wieloskładnikowy kompozyt zawierający gąbkę kolagenową, porowate rusztowanie utworzone z poli-(ϵ -kaprolaktonu) (PCL), plazmy wzbogaconej płytkami krwi (ang. *platelet rich plasma*, PRP), morfogenetycznego białka-2 kości (ang. *bone morphogenic protein-2*, BMP 2) osadzonego na mikrocząstkach nanoporowatej krzemionki, amfifili peptydowych o właściwościach mineralizacyjnych oraz mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) okazał się efektywny *in vivo* w szybkiej regeneracji kości oraz procesie angiogenezy. Synergistyczne działanie wszystkich składników kompozytu zapewnia proliferację komórek oraz angiogenezę z uwagi na obecność naturalnych czynników wzrostu tego procesu (białko PRP).

Rusztowanie komórkowe uzyskane z mikrowłókien kwasu poliglikolowego zmodyfikowane za pomocą amfifili peptydowych zawierających sekwencje RGDS oraz PHSRSN wykorzystano w eksperymentach z użyciem komórek mięśni gładkich. Stwierdzono zwiększenie infiltracji komórek, ich adhezji oraz odkładania się w rusztowaniu. Amfifile peptydowe zawierające reszty argininy gwarantowały oddziaływanie pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami guanidynowymi i błoną komórkową, co wspomagało proces zagnieżdżania i infiltracji komórek.



Rysunek 6. Nanowłókna rusztowania polimerowego pokryte nanowłóknami peptydowymi tworzonymi w procesie samo-organizacji oraz fragmentami funkcjonalnymi gwarantującymi oddziaływanie z receptorami komórkowymi

Figure 6. Nanofibers of polymer scaffold covered with a peptide nanofibers formed under self-assembling process and functional fragments assuring interaction with cell receptors

Rusztowania hybrydowe zawierające nanowłókna PCL wytworzone techniką elektroprzędzenia po pokryciu ich nanowłóknami amfifili peptydowych mimi-kujących naturalną ECM testowano pod kątem wykorzystania w kardiologii [97]. Trójwymiarowe wymagania strukturalne oraz porowatość rusztowania gwarantuje wykorzystanie nanowłókien z PCL, natomiast charakterystyczną funkcjonalność ECM mimikuje wbudowanie do amfifili peptydowych bioaktywnych ligandów adhezji komórek. Nanowłókna PCL wykorzystano również do uzyskania materiału, który funkcjonalizowany był poprzez zastosowanie peptydów zawierających fragmenty RGD [98]. Peptydy z fragmentami RGD oprócz funkcjonalności biologicznej gwarantowały również wzrost hydrofilowości materiału w porównaniu do rusztowań wytworzonych jedynie z PCL. Gelain i współpracownicy [99] wykazali, że zastosowanie nanowłókien tworzonych z PLGA oraz PCL techniką elektroprzędzenia pozwala na uzyskanie nanorurek o wymiarach dwukrotnie większych w porównaniu do nanorurek uzyskiwanych z peptydów na drodze samo-organizacji. Zróżnicowanie wymiarów nanomateriałów zastosowanych do tworzenia struktur hybrydowych pozwala na modulowanie ich właściwości mechanicznych. Uważa się, że zastosowanie hybrydowych materiałów jest przyszłością medycyny regeneracyjnej oraz inżynierii tkankowej.

PODSUMOWANIE

Idealne z punktu widzenia inżynierii tkankowej materiały stanowiące rusztowania powinny być: biokompatybilne, biodegradowalne/bio-resorbowalne, bioneu-tralne, gwarantować bioneutralność produktów ich biodegradacji, brak cytoto-k-syczości oraz posiadać pożądane właściwości mechaniczne. Rusztowania stanowiąc powinny syntetyczne, tymczasowe zamienniki naturalnej macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) i zapewniać komórkom środowisko jak najbardziej zbliżone do natu-ralnego, warunkujące i przyspieszające proces tworzenia nowej tkanki. W chwili obecnej żaden z dostępnych materiałów implantacyjnych nie posiada właściwości takich, jakie wykazuje naturalna tkanka. Stosowane materiały stanowią kompromis pomiędzy różnorodnymi kryteriami jakościowymi, którymi powinien charaktery-zować się biomateriał. Dla uzyskania pełnego sukcesu niezbędne jest wielopłaszc-zyzynowe podejściu do projektowania oraz wytwarzania materiałów do regeneracji tkanek [100-105]. Pod uwagę należy brać wszystkie funkcjonalne składniki ECM: frakcję kolagenową, frakcję niekolagenową oraz matrycę węglowodanową. Dzia-łania wykorzystujące białka będące składnikami ECM niosą ze sobą pewne słabości takie jak np. podatność na działanie enzymów proteolitycznych, właściwości immu-nogenne i inne. Wyeliminowania wspomnianych powyżej ograniczeń związanych ze stosowaniem białek możliwe jest poprzez wykorzystanie ich funkcjonalnych fragmentów oraz peptydów syntetycznych o właściwościach samo-organizujących i tworzących struktury trójwymiarowe frakcji białkowej ECM.

Problem „naprawy” ubytków ludzkiego ciała zawsze wzbudzał i wzbudza zain-teresowanie naukowców i ośrodków badawczych bowiem uważa się, że ten obszar stanowi przyszłość medycyny regeneracyjnej. Główny efekt takich działań widoczny oczywiście będzie w obszarze medycyny regeneracyjnej, jednak do jego uzyskania niezbędne jest ciągle rozszerzanie badań z chemii organicznej, chemii związków naturalnych, inżynierii materiałowej, biochemii, biologii, enzymologii oraz immu-nologii.

PODZIĘKOWANIE

Niniejsza praca została sfinansowana z projektu badawczego UMO-2015/19/B/ST8/02594, pt. ”Innowacyjne materiały hybrydowe do regeneracji tkanek wywo-dzące się wyłącznie ze związków naturalnych”

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H. Wobma, G. Vunjak-Novakovic, *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2016, **22**, 101.
- [2] V. Marx, *Nature*, 2015, **522**, 373.
- [3] A. Atala, F.K. Kasper, A.G. Mikos, *Sci. Transl. Med.*, 2012, **4**, 160.

- [4] M.J. Webber, J.A. Kessler, S.I. Stupp, *J. Intern. Med.*, 2009, **267**, 71.
- [5] P.X. Ma, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008, **60**, 184.
- [6] N. Manasa, K. Priyadarshini, M.K. Uma, S. Swaminathan, *Curr. Prot. Pepti. Sci.*, 2013, **14**, 70.
- [7] S. Sethuraman, L.S. Nair, S. El-Amin, M. Nguyen, A. Singh, N. Krogman, Y. E. Greish, H. R. Allcock, P. W. Brown, C. T. Laurencin, *Acta. Biomater.*, 2010, **6**, 1931.
- [8] S. Sethuraman, L.S. Nair, S. El-Amin, M. Nguyen, A. Singh, N. Krogman, Y.E. Greish, H.R. Allcock, P.W. Brown, C.T. Laurencin, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2011, **22**, 733.
- [9] I. Vroman, L. Tighzert, *Materials*, 2009, **2**, 307.
- [10] F. Gelain, *Int. J. Nanomed.*, 2008, **3**, 415.
- [11] S. Kyle, A. Aggeli, E. Ingham, M.J. McPherson, *Trends Biotechnol.*, 2009, **27**, 422.
- [12] L. Cen, W. Liu, L. Cui, W. Zhang, Y. Cao, *Pediatr. Res.*, 2008 **63**, 492.
- [13] N. Angelova, D. Hunkeler, *Trends Biotechnol.*, 1999, **17**, 409.
- [14] J. Hu, X. Sun, H. Ma, C. Xie, Y. E. Chen, P.X. Maa, *Biomaterials*, 2010, **31**, 7971.
- [15] L. Zhao, M.S. Detamore, *J. Biomed. Sci. Eng.*, 2010, **3**, 1041.
- [16] K. Ragaert, F. De Somer, I. De Baere, L. Cardon, J. De Grieck, *Adv. Product. Eng. Manag.*, 2011, **6**, 163.
- [17] Z. Pan, J. Ding, *Interface Focus*, 2012, **2**, 366.
- [18] E. Chung, S.H. Kim, Y.G. Ko, J.H. Kwon, J.-W. Han, I.S. Park, S.S. Han, S.H. Kim, *Key Eng. Mat.*, 2007, **342-343**, 321.
- [19] L.S. Nair, C.T. Laurencin, *Adv. Biochem. Engin/Biotechnol.*, 2006, **102**, 47.
- [20] S.Y. Chew, R. Mi, A. Hoke, K.W. Leong, *Biomaterials*, 2008, **29**, 653.
- [21] J.S. Choi, K.W. Leong, H.S. Yoo, *Biomaterials*, 2008, **29**, 587.
- [22] L.N. Novikova, J. Pettersson, M. Brohlin, M. Wiberg, L.N. Novikov, *Biomaterials*, 2008, **29**, 1198.
- [23] S.J. Lee, S.H. Oh, J. Liu, S. Soker, A. Atala, J.J. Yoo, *Biomaterials*, 2008, **29**, 1422.
- [24] F. Gelain, S. Panseri, S. Antonini, C. Cunha, M. Donega, J. Lowery, F. Taraballi, G. Cerri, M. Montagna, F. Baldissera, A. Vescovi, *ACS Nano.*, 2011, **5**, 227.
- [25] E. Dawson, G. Mapili, K. Erickson, S. Taqvi, K. Roy, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008, **60**, 215.
- [26] J.S. Choi, S.J. Lee, G.J. Christ, A. Atala, J.J. Yoo, *Biomaterials*, 2008, **29**, 1.
- [27] E. Schnell, K. Klinkhammer, S. Balzer, G. Brook, D. Klee, P. Dalton, J. Mey, *Biomaterials*, 2007, **28**, 3012.
- [28] M. Kallrot, U. Edlund, A.C. Albertsson. *Biomaterials*, 2006, **27**, 1788.
- [29] B.S. Miguel, M. Ehrbar, C. Ghayor, M. Textor, F. Weber, *Eur. Cells Mat.*, 2006, **11**, 5.
- [30] A.S. Rowlands, S.A. Lim, D. Martin, J. J. Cooper-White, *Biomaterials*, 2007, **28**, 2109.
- [31] T.W. Chung, S.S. Wang, W.J. Tsai, *Biomaterials*, 2008, **29**, 228.
- [32] H. Shen, X. Hu, F. Yang, J. Bei, S. Wang, *Biomaterials*, 2007, **28**, 4219.
- [33] A.M.A. Ambrosio, H.R. Allcock, D.S. Katti, C.T. Laurencin, *Biomaterials*, 2002, **23**, 1667.
- [34] P.A. Gunatillake, R. Adhikari, *Eur. Cells Mat.*, 2003, **5**, 1.
- [35] L. Almany, D. Seliktar, *Biomaterials*, 2005, **26**, 2467.
- [36] E. Alsberg, K.W. Anderson, A. Albeiruti, R.T. Franceschi, D.J. Mooney, *J. Dent. Res.*, 2001, **80**, 202.
- [37] E.A. Silva, D.J. Mooney, *Curr. Topics Development. Biol.*, 2004, **64**, 181.
- [38] D.S. Katti, K.W. Robinson, F.K. Ko, C.T. Laurencin, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, 2004, **70B**, 286.
- [39] A. Subramanian, U.M. Krishnan, S. Sethuraman, *Biomed. Mater.*, 2011, **6**, 025004.
- [40] P. Kuppan, K.S. Vasanthan, D. Sundaramurthi, U.M. Krishnan, S. Sethuraman, *Biomacromolecules*, 2011, **12**, 3156.
- [41] L.S. Nair, S. Bhattacharyya, C.T. Laurencin, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2004, **4**, 659.
- [42] R. Vasita, D.S. Katti, *Int. J. Nanomed.*, 2006, **1**, 15.

- [43] H-Q. Mao, S.H. Lim, S. Zhang, G. Christopherson, K. Kam, S. Fischer, *Tissue Eng. Biomater.*, 2010, **2**, 89.
- [44] S. Zhang, *Nat. Biotechnol.*, 2003, **21**, 1171.
- [45] D.A. Harrington, A.K. Sharma, B.A. Erickson, E.Y. Cheng, *World J. Urol.*, 2008, **26**, 315.
- [46] B. Dhandayuthapani, U.M. Krishnan, S. Sethuraman, J. *Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, 2010, **94B**, 264.
- [47] C.P. Barnes, S.A. Sell, E.D. Boland, D.G. Simpson, G.L. Bowlin, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2007, **59**, 1413.
- [48] V. Milleret, B. Simona, P. Neuenschwander, H. Hall, *Eur. Cell Mater.*, 2011, **21**, 286.
- [49] F. Yang, R. Murugan, S. Ramakrishna, X. Wang, Y-X. Mac, S. Wang, *Biomaterials*, 2004, **25**, 1891.
- [50] S. Zhang, *Materials Today*, 2003, **6**, 20.
- [51] C. Aleman, A. Bianco, M. Venanzi, *Peptide Materials. From nanostructures to applications*, John Wiley & Sons Ltd., 2013.
- [52] M. Caruso, E. Placidi, E. Gatto, C. Mazzuca, L. Stella, G. Bocchinfuso, A. Palleschi, F. Formaggio, C. Toniolo, M. Venanzi, *J. Phys. Chem. B*, 2013, **117**, 5448.
- [53] M. Caruso, E. Gatto, E. Placidi, G. Ballano, F. Formaggio, C. Toniolo, D. Zanuy, C. Aleman, M. Venanzi, *Soft Matter.*, 2014, **10**, 2508.
- [54] E. Longo, K. Wright, M. Caruso, E. Gatto, A. Palleschi, M. Scarselli, M. De Crescenzi, M. Crisma, F. Formaggio, C. Toniolo, M. Venanzi, *Nanoscale*, 2015, **7**, 15495.
- [55] L. Sun, C. Zheng, T.J. Webster, *Int. J. Nanomedicine*, 2017, **12**, 73.
- [56] D.B. Rasale, A.K. Das, *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, **16**, 10797.
- [57] M.W. Tibbitt, C.B. Rodell, J.A. Burdick, K.S. Anseth, *PNAS*, 2015, **112**, 14444.
- [58] E. De Santis, M.G. Ryadnov, *Amino Acids, Pep. Prot.*, 2015, **40**, 199.
- [59] P. Kumaraswamy, R. Lakshmanan, S. Sethuraman, U. M. Krishnan, *Soft Matter.*, 2011, **7**, 2744.
- [60] K. Rajagopal, J. P. Schneider, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2004, **14**, 480.
- [61] J.D. Hartgerink, T.D. Clark, M.R. Ghadiri, *Chem. Eur. J.*, 1998, **4**, 1367.
- [62] A. Bolhassani, *Biochim. Biophys. Acta.*, 2011, **1816**, 232.
- [63] S. Zhang, L. Yan, M. Altman, M. Lasse, H. Nugent, F. Frankel, D.A. Lauffenburger, G.M. Whitesides, A. Rich, *Biomaterials*, 1999, **20**, 1213.
- [64] J. Hyun, W.K. Lee, N. Nath, A. Chilkoti, S. Zauscher, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 7330.
- [65] S. Zhang, C. Lockshin, A. Herbert, E. Winter, A. Rich, *EMBO J.*, 1992, **11**, 3787.
- [66] P.X. Ma, J.H. Elisseeff, *Scaffolding in tissue engineering*, CRC press: Boca Raton, 2005.
- [67] R.G. Ellis-Behnke, Y.-X. Liang, S.-W. You, D.K.C. Tay, S. Zhang, K.-F. So, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2006, **103**, 5054.
- [68] A. Horii, X. Wang, F. Gelain, S. Zhang, *Plos One*, 2007, **2**, e190.
- [69] R.N. Shaha, N.A. Shah, M.M. Del Rosario Lim, C. Hsieha, G. Nuber, S.I. Stupp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2010, **107**, 3293.
- [70] S. Gilead, E. Gazit, *Supramol. Chem.*, 2005, **17**, 87.
- [71] T.P.J. Knowles, M.J. Buehler, *Nat. Nanotechnol.*, 2011, **6**, 469.
- [72] E. Gazit, *FASEB J.*, 2002, **16**, 77.
- [73] W. Wang, Z. Yang, S. Patanavanich, B. Xub, Y. Chau, *Soft Matter.*, 2008, **4**, 1617.
- [74] B.V. Slaughter, S.S. Khurshid, O.Z. Fisher, A. Khademhosseini, N.A. Peppas, *Adv. Mater.*, 2009, **21**, 3307.
- [75] A. Liedmann, S. Frech, P.J. Morgan, A. Arndt Rolfs, M.J. Frech, *Biores. Open Access*, 2012, **1**, 16.
- [76] D.A. Narmoneva, R. Vukmirovic, M.E. Davis, R.D. Kamm, R.T. Lee, *Circulation*, 2004, **110**, 962.
- [77] D.A. Narmoneva, O. Oni, A.L. Sieminski, S. Zhang, J.P. Gertler, R.D. Kamm, R.T. Lee, *Biomaterials*, 2005, **26**, 4837.
- [78] S. Zhang, *Biotech. Adv.*, 2002, **20**, 321.

- [79] A. Aggeli, M. Bell, L.M. Carrick, C.W.G. Fishwick, R. Harding, P.J. Mawer, S.E. Radford, A.E. Strong, N. Boden, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 9619.
- [80] T.C. Holmes, S. de Lacalle, X. Su, G. Liu, A. Rich, S. Zhang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2000, **97**, 6728.
- [81] J. Guo, K.K.G. Leung, S. Huanxing, Q. Yuan, L. Wang, T.H. Chu, W. Zhang, J.K.S. Pu, G.K.P. Ng, W.M. Wong, X. Dai, W. Wu, *Nanomed: Nanotech. Biol. Med.*, 2009, **5**, 345.
- [82] S. Wang, D. Nagrath, P.C. Chen, F. Berthiaume, M.L. Yarmush, *Tissue Eng. Part A*, 2008, **14**, 227.
- [83] Y. Yuan, C. Cong, J. Zhang, L. Wei, S. Li, Y. Chen, W. Tan, J. Cheng, Y. Li, X. Zhao, Y. Lu, *Transplant Proc.*, 2008, **40**, 2571.
- [84] R.E. Miller, P.W. Kopesky, A.J. Grodzinsky, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2010, **469**, 2716.
- [85] Z. Luo, S. Wang, S. Zhang, *Biomaterials*, 2011, **32**, e2013.
- [86] G.A. Silva, C. Czeisler, K.L. Niece, E. Beniash, D.A. Harrington, J.A. Kessler, S.I. Stupp, *Science*, 2004, **303**, 1352.
- [87] Y. Kumada, S. Zhang, *Plos One*, 2010, **5**, e10305.
- [88] X. Wang, A. Horii, S. Zhang, *Soft Matter.*, 2008, **4**, 2388.
- [89] J.M. Anderson, M. Kushwaha, A. Tambralli, S.L. Bellis, R.P. Camata, H.-W. Jun, *Biomacromolecules*, 2009, **10**, 2935.
- [90] M. Goldberg, R. Langer, X. Jia, *Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 2007, **18**, 241.
- [91] I.R. Degano, L. Quitana, M. Vilalta, D. Horna, N. Rubio, S. Borros, C. Semino, J.M. Blanco, D. Horna, N. Rubio, S. Borros, C. Semino, J. Blanco, *Biomaterials*, 2009, **30**, 1156.
- [92] A. Tambralli, B. Blakeney, J. Anderson, M. Kushwaha, A. Andukuri, D. Dean, H.-W. Jun, *Biofabrication*, 2009, **1**, 025001.
- [93] F. Taraballi, A. Natalello, M. Campione, O. Villa, S. M. Doglia, A. Paleari, F. Gelain, *Front. Neuro-engineering*, 2010, **3**, 1.
- [94] T. D. Sargeant, M.O. Guler, S.M. Oppenheimer, A. Mata, R.L. Satcher, D.C. Dunand, S.I. Stupp, *Biomaterials*, 2008, **29**, 161.
- [95] L.C. Wu, J. Yang, J. Kopecek, *Biomaterials*, 2011, **32**, e5341.
- [96] T. Matsumoto, M. Tadokoro, K. Hattori, H. Ougushi, J. Satou, *Bioceram. Dev. Appl.*, 2011, **1**, 1.
- [97] A. Andukuri, M. Kushwaha, A. Tambralli, J.M. Anderson, D.R. Dean, J.L. Berry, Y.D. Sohn, Y. Yoon, B.C. Brott, H. Jun, *Acta. Biomaterialia*, 2011, **7**, 225.
- [98] W. Zheng, Z. Wang, L. Song, Q. Zhao, J. Zhang, D. Li, S. Wang, J. Han, X. Zheng, Z. Yang, D. Kong, *Biomaterials*, 2012, **33**, 2880.
- [99] C. Cunha, S. Panseri, F. Gelain, *Methods Mol. Biol.*, 2013, **1058**, 171.
- [100] D.A. Grande, *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2017, **13**, 67.
- [101] Z.M. Jessop, A. Al-Sabah, W.R. Francis, I.S. Whitaker, *BMC Med.*, 2016, **14**, 115.
- [102] L. Zhi, X. Mao-Bin, L. Yi, M. Yan, L. Jia-Shen, D. Fang-Yin, *J. Biomater. Tissue Eng.*, 2016, **6**, 755.
- [103] H. Wobma, G. Vunjak-Novakovic, *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2016, **22**, 101.
- [104] A.S. Mao, D.J. Mooney, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, **112**, 14452.
- [105] R.K. Upadhyay, *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2015, **4**, 1.

INFORMACJE

PATRONAT MEDIALNY

„Wiadomości Chemiczne” objęły patronatem medialnym ostatnie publikacje książkowe Wydawnictwa Naukowego PWN SA, które mogą być niezwykle interesujące i przydatne dla społeczności polskich chemików:

Wiktor Kubiński

„Wybrane metody badania materiałów. Badanie metali i stopów”

Praca zbiorowa pod redakcją Kamilli Małek

„Spektroskopia oscylacyjna. Od teorii do praktyki.”

Zdzisław Migaszewski, Agnieszka Gałuszka

„Geochemia środowiska”

Robert J. Whitehurst, Marten Van Oort

„Enzymy w technologii spożywczej”

Jan F. Rabek

„Współczesna wiedza o polimerach. Tom 1. Budowa strukturalna polimerów i metody badawcze.”

Jan F. Rabek

„Współczesna wiedza o polimerach. Tom 2. Polimery naturalne i syntetyczne, otrzymywanie i zastosowania.”

Praca zbiorowa pod redakcją Anny Swiderskiej-Środy, Witolda Wojkowskiego, Małgorzaty Lewandowskiej i Krzysztofa J. Kurzydłowskiego

„Świat nanocząstek”

Praca zbiorowa pod redakcją Kamili Żelechowskiej

„Nanotechnologia w praktyce”

W najbliższych numerach czasopisma ukażą się recenzje wyżej wspomnianych książek.

6 ZJAZD NAUKOWY POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

**17-21 IX 2017
WROCLAW**

Chemia w mieście spotkań

PTCh
POLSKIE TOWARZYSTWO CHEMICZNE

EuChemS
EUROPEAN CHEMICAL SCIENCES

www.60PTChem.ch.pwr.edu.pl

Politechnika Wroclawska

Uniwerytet Wroclawski

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCLAWIU

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. PIASTOW SLASKICH WE WROCLAWIU

III Konferencja Naukowa Doktorantów i Młodych Naukowców

MŁODZI DLA TECHNIKI 2017

Płock, 7-8 września 2017 roku

KONFERENCJA NAUKOWA MŁODZI DLA TECHNIKI 2017 EDYCJA TRZECIA

Organizator:	Politechnika Warszawska Wydział Budownictwa, Mechaniki i Petrochemii w Płocku
Data:	7-8 września 2017.
Miejsce:	Politechnika Warszawska Filia w Płocku ul. Łukasiewicza 17, Płock

Konferencja Młodzi dla Techniki 2017 stanowi integralną część obchodów 50-lecia Filii Politechniki Warszawskiej w Płocku.

Celem Konferencji jest prezentacja dorobku naukowego młodych pracowników nauki, doktorantów i studentów. Konferencja dedykowana jest nie tylko początkującym, ale także doświadczonym młodym badaczom, działającym w szerokim obszarze budownictwa i inżynierii lądowej, inżynierii środowiska, inżynierii mechanicznej i materiałowej, jak również inżynierii chemicznej i petrochemicznej.

Założeniem organizatorów jest stworzenie okazji do wymiany doświadczeń, poglądów, jak również integracji środowiska zainteresowanego współczesnymi problemami techniki.

Tematyka Konferencji Młodzi dla Techniki 2017 obejmuje następujące zagadnienia:

- konstrukcje budowlane i inżynierskie
- technologia i organizacja budowy
- mechanika budowli
- fizyka budowli
- ciepłownictwo, ogrzewnictwo, wentylacja, gazownictwo
- inżynieria wodna i sanitarna
- konwencjonalne i alternatywne źródła energii

- technologia chemiczna i petrochemiczna
- inżynieria mechaniczna i materiałowa
- urządzenia i systemy mechaniczne,
- budowa maszyn,
- ochrona środowiska.

Terminarz konferencji

- 1 grudnia 2016–31 stycznia 2017: rejestracja, przesłanie abstraktu on-line (wyłącznie po rejestracji)
- 10 lutego 2017: akceptacja abstraktów
- 31 marca 2017: ostateczny termin nadsyłania prac
- 05 maja 2017: ostateczna kwalifikacja referatów
- 15 maja 2017: termin uiszczenia opłaty konferencyjnej
- 7–8 września 2017: KONFERENCJA

Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego – dr inż. Anna Krawczyńska-Piechna
Przewodniczący Komitetu Naukowego – prof. nzw. dr hab. inż. Roman Marcinkowski

Kontakt: mdt2017@pw.plock.pl

Więcej informacji na: www.mdt2017.pw.plock.pl

XI COPERNICAN INTERNATIONAL YOUNG SCIENTISTS CONFERENCE



MARSHAL OF THE
KUYAVIAN-POMERANIAN
VOIVODESHIP



PRESIDENT OF THE CITY
OF TORUŃ



NICOLAUS COPERNICUS
UNIVERSITY
IN TORUŃ

Faculty of Chemistry



POLSKIE TOWARZYSTWO CHEMICZNE
POLISH CHEMICAL SOCIETY
1920



POLSKIE TOWARZYSTWO FARMACEUTYKÓW
POLISH PHARMACEUTICAL SOCIETY
1920



WHEN?

28-30 JUNE, 2017

WHERE?

TORUŃ, POLAND

PANELS

BIOLOGY AND
MEDICINE

CHEMISTRY

PHYSICS AND
TECHNICALS

FIND OUT MORE: www.ciyscon.umk.pl

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

CENY PRENUMERATY NA ROK 2017

Redakcja miesięcznika PTChem „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2017 r. będzie wynosiła **231 zł** dla instytucji i niezrzeszonych prenumeratorów indywidualnych. Dla członków PTChem **20 zł**. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

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

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

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2017 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 PTChem, którzy zechcą zaprenumerować „Wiadomości Chemiczne” na podanych tu warunkach, proszeni są o wnoszenie opłat na konto:

PTChem Warszawa, ul. Freta 16
Bank BGŻ
54 2030 0045 1110 0000 0261 6290

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 indywiduali 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 substacji prostych do życia. Świat RNA – początki życia na Ziemi, Zdzisław Chilmonczyk – NAKŁAD WYCZERPANY.

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

Chemia koordynacyjna w Polsce. Część I. Nakład wyczerpany, dostępna wersja elektroniczna.

Chemia koordynacyjna w Polsce. Część II. Nakład wyczerpany, dostępna wersja elektroniczna

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

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

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

REGULAMIN I INFORMACJE DLA AUTORÓW PUBLIKUJĄCYCH W CZASOPIŚMIE „WIADOMOŚCI CHEMICZNE”

1. Informacje ogólne

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

Dodatkową ofertę Wydawnictwa stanowi seria, „Biblioteka Wiadomości Chemicznych”, gdzie publikowane są dłuższe artykuły przeglądowe lub monografie poświęcone ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii. Autorzy, którzy chcieliby takie prace napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją, a następnie przesłać wstępnie przygotowaną publikację (redagowaną na wzór artykułów w czasopiśmie „Wiadomości Chemicznych”) lub informację na temat przygotowywanej pracy – tytuł przygotowywanej publikacji, przybliżoną liczbę stron, tabel, rysunków. W chwili obecnej Redakcja nie posiada środków na finansowanie prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych”. W zależności od sytuacji finansowej Wydawnictwa, Redakcja zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

„Wiadomości Chemiczne” wydawane są zarówno w wersji drukowanej jak i elektronicznej. Wersja elektroniczna udostępniana jest bezpłatnie w Internecie.

Czasopismo jest indeksowane/abstraktowane w kilku bazach danych: Chemical Abstracts, Polska Bibliografia Naukowa, BazTech, Polska Bibliografia Lekarska, Index Copernicus, Baza ARIANTA.

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

- Prace nie były wcześniej publikowane, ani nie są złożone w redakcji innego czasopisma.
- Autorzy prac stosują się do wymagań praw autorskich tzn. w przypadku zamieszczania rysunków, tabel itp., pochodzących z opracowań opublikowanych w innych czasopismach lub publikacjach zwartych, posiadają pisemną zgodę na ich przedruk.
- Opublikowana raz praca bez zgody Redakcji, nie może być wydawana gdzie indziej.
- Autorzy przysyłający prace po raz pierwszy powinni podać swój numer telefonu oraz adresy poczty tradycyjnej i elektronicznej. Jest to niezbędny warunek sprawnego przebiegu opracowania redakcyjnego tekstu.
- Autorzy zobowiązani są do wykonania korekty tekstu. W pracach przyjętych do druku Redakcja ma prawo dokonywania niezbędnej korekty.
- Jeżeli autorzy nie zastrzegą inaczej w momencie zgłoszenia pracy, wydawca nabywa ogólnych praw autorskich do wydrukowanych prac (w tym prawo wydawania na nośnikach elektronicznych oraz w Internecie). Tytułem powyższego wykorzystania utworów autorom nie są wypłacane honoraria.
- Wszystkie nadsyłane prace są poddawane wstępnej ocenie, która określa czy odpowiadają randze i profilowi „Wiadomości Chemicznych” oraz czy zostały przygotowane zgodnie z formalnymi wymogami MNiSW oraz Redakcji.
- Po uzyskaniu pozytywnej wstępnej oceny wszystkie prace są recenzowane przez co najmniej dwóch niezależnych recenzentów, zgodnie ze wskazówkami zawartymi w broszurze informacyjnej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user_upload/ministerstwo/Publikacje/20110216_MNISW_broszura_210x210.pdf.
- O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny.
- Prace, które Komitet Redakcyjny na podstawie uzyskanych recenzji stwierdził, że nie należy przyjąć do druku w czasopiśmie, po uwzględnieniu sugestii recenzentów mogą być powtórnie przesłane do czasopisma. W takim przypadku praca traktowana jest jako nowy tekst i ponownie przechodzi pełną procedurę recenzowania.
- Ponadto Komitet Redakcyjny informuje, że tzw. „ghostwiting” (ktoś wniósł znaczący wkład w powstanie publikacji, a nie został przedstawiony jako współautor lub też nie został wymieniony w podziękowaniu zamieszczonym w publikacji) lub „guest authorship” (udział autora jest znikomy lub też w ogóle nie miał miejsca, a mimo to jest współautorem publikacji) są przejawem nierzetelności naukowej. Wszelkie przejawy nierzetelności naukowej, łamania i naruszania zasad etyki obowiązującej w nauce będą ujawniane, włącznie z powiadomieniem jednostek zatrudniających autorów.
- Autorzy mają prawo do zaproponowania co najmniej trzech niezależnych recenzentów, jednak ostatecznego wyboru anonimowych recenzentów dokonuje Redakcja.

3. Koszty

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

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

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

4. Informacje szczegółowe dotyczące przygotowania maszynopisu do druku

4.1. Wymagania merytoryczne

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

4.2. Wymagania techniczne składu tekstu

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

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Tytuł rozdziału

1.1. Tytuł podrozdziału itp.

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

- **Kolejne strony pracy powinny zawierać:**

- **notki o autorach** pracy wraz z tytułami naukowymi (można dołączyć osobno pliki z fotografiami autorów (zob. **Pliki jakie należy przekazać do Redakcji**),

- **obszerne streszczenie pracy w języku angielskim** (od 1800 do 2700 znaków ze spacjami) z uwzględnieniem cytowanego piśmiennictwa oraz odsyłaczami do tabel, rysunków zamieszczonych w tekście (Rys. 1, Tab. 1-2, Schemat 1) oraz **słowa kluczowe** – nie więcej niż 6, uzyskane najlepiej z bazy haseł przedmiotowych podawane w języku angielskim i polskim,
- **wykaz stosowanych skrótów** – w przypadku niewielkiej liczby skrótów lub akronimów nie jest konieczne zamieszczanie tej pozycji, wówczas, skróty wyjaśniamy w tekście przy pierwszym użyciu. Angielskie skróty należy podać i wyjaśnić wg poniżej podanego wzoru lub w oparciu o inne prace zamieszczone w „Wiadomościach Chemicznych”. Przykład: dla skrótu SSRI – selektywne inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny (ang. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*),
- **dalszy tekst pracy zgodny z podawanym wcześniej spisem treści.**
- **Tabele, rysunki, fotografie**
Tabele i rysunki **powinny być zamieszczone w przesyłanym tekście** oraz dodatkowo (po zatwierdzeniu pracy do druku, na etapie przygotowywania szczotki) dołączone w postaci osobnych plików zapisanych w formacie pdf, doc, jpg, tiff.
Tabele i rysunki powinny być przejrzyste, zawierać informacje niezbędne do zrozumienia treści, bez konieczności poszukiwania objaśnień w tekście pracy, należy je numerować cyframi arabskimi oraz podać tytuł (polski/angielski, nad tabelą, pod rysunkiem, Times New Roman, 10 p).
Wszystkie fotografie – należy przesłać w postaci plików zapisanych w formacie tif, jpg lub podobnym, **każdą zapisać w oddzielnym pliku o rozdzielczości co najmniej 300 dpi.**
- **Piśmiennictwo cytowane**
Piśmiennictwo należy zestawić numerycznie według kolejności cytowania w tekście, należy cytować wyłącznie pozycje istotne dla treści pracy w sposób precyzyjny.
W przypadku **artykułów z czasopism tradycyjnych**, opis powinien zawierać kolejno następujące elementy: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, **numer wolumenu zaznaczony pogrubioną czcionką**, numer pierwszej strony cytowanej pracy, np.
[1] J. Kowalski, Wiad.Chem., 2007, **61**, 473.
[2] W. Kowalski, A. Nowak, Przem. Spoż. 2010, **51**, 3.
W przypadku **książek** najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł książki, nazwę wydawcy, miejsce wydania, rok wydania, np.
[1] J. Malinowski, Tytuł książki, PWN, Warszawa, 2004.
[2] W. Kowalski, Tytuł książki, Volumed, Wrocław, 1999
W przypadku zasobów Internetowych najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł (artykułu) dokumentu online, [dostęp], wydawca, [data dostępu]. Warunki dostępu, np.
[7] J. Kowalski, Tytuł artykułu. [online], wydawca, [dostęp: 2010-05-20]. Dostępny w Internecie: <http://www.....>

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

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

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

- 1 plik tekstu zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji;
- 1 plik zawierający krótkie notki biograficzne o autorach nadesłanej pracy (każda notka do 150 wyrazów powinna zawierać: tytuł naukowy, miejsce pracy oraz inne ważne informacje o autorze);
- pliki zawierające zdjęcia portretowe autorów, w nazwie powinny wskazywać autora, którego zdjęcie dotyczy (dobrowolne, przesłanie plików jest jednoznaczne ze zgodą na jego opublikowanie);
- 1 plik zawierający: stronę tytułową, streszczenie (abstrakt), słowa kluczowe, podpisy pod rysunki, tabele, schematy (wszystko w obu wersjach językowych); jeśli zachodzi potrzeba to również oddzielne pliki z rysunkami, schematami, tabelami (zob. Tabele, rysunki, fotografie).

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

Na etapie przygotowania szczotki, w przypadku przesyłania prac z kolorowymi stronami prosimy o zaznaczenie stron, które w formie druku mają być kolorowe. Brak tej czynności będzie skutkowało **czarno-białym wydrukiem wersji papierowej**. W przypadku zmian w wersji drukowanej kolorowych rysunków na czarno-białe, prosimy o przesłanie dostosowanych do tego celu rysunków.

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

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

SPIS TREŚCI

Iwona E. GŁOWACKA, Anna ZDZIENICKA: Nukleozydy 8-azapurynowe – synteza i aktywność biologiczna	147
Renata KOŁODZIEJSKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA: Atroposelektywna synteza naturalnych chiralnych osiowo związków biarylowych. Część I	177
Renata KOŁODZIEJSKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA: Atroposelektywna synteza naturalnych chiralnych osiowo związków biarylowych. Część II	199
Agnieszka PIOTROWSKA, Joanna DRZEŹDŹON, Dagmara JACEWICZ, Lech CHMURZYŃSKI: Właściwości antyoksydacyjne, antybakteryjne i przeciwrzybicze związków kompleksowych miedzi(II)	219
Monika RETAJCZYK, Agnieszka WRÓBLEWSKA: Biomasa – źródło cennych związków organicznych	241
Agata CHABERSKA, Piotr ROSIAK, Zbigniew J. KAMIŃSKI, Beata KOLESIŃSKA: Rusztowania (<i>scaffolds</i>) stosowane w medycynie regeneracyjnej	263
Informacje	287

W NASTĘPNYCH ZESZYTACH UKAŻĄ SIĘ:

- Dagmara JACEWICZ, Lech CHMURZYŃSKI: Zastosowanie spektrofotometrycznej metody „stopped flow” do badania kinetyki wychwytu gazów oraz ich oznaczania w materiale biologicznym. Związki koordynacyjne chromu(III) z ligandami biologicznie czynnymi jako biosensory molekularne w reakcjach wychwytu CO₂ i NO₂
- Błażej KUDŁAK: Obciążenie wód powierzchniowych związkami wykazującymi zagrożenie endokrynnie wynikające z ludzkiej działalności
- Maria PALUCH: Cienkie ciekłe czarne filmy
- Monika RETAJCZYK, Agnieszka WRÓBLEWSKA: Katalizatory metatezy olefin, modyfikacje na ligandzie NHC