

WIADOMOSCI *chemiczne*



2011

(65)

1-2

(763-764)

ELEKTROOPTYCZNY EFEKT KERRA W CHEMII

ELECTROOPTIC KERR EFFECT IN CHEMISTRY

**Oleg Prezhdo¹, Karol Olan², Walentyna Zubkova²,
Wiktor Preżdo²**

¹ *Department of Chemistry, University of Rochester, Rochester, NY 14627-0216*

² *Instytut Chemii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy,*

Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy Jana Kochanowskiego w Kielcach,

ul. Świętokrzyska 15 G, 25-406 Kielce

Abstract

Wprowadzenie

1. Elektrooptyczny efekt Kerra
 - 1.1. Tensor polaryzowalności
 - 1.2. Stała Kerra
 - 1.3. Określanie stałych Kerra w roztworach
 - 1.4. Aparatura do pomiaru stałych Kerra w roztworach
2. Zastosowanie elektrooptycznego efektu Kerra
 - 2.1. Określenie tensora polaryzowalności cząsteczki
 - 2.2. Analiza konformacyjna
 - 2.3. Efekty oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych
 - 2.4. Oddziaływania międzycząsteczkowe
 - 2.5. Nowe możliwości zastosowania efektów elektrooptycznych w chemii
 - 2.5.1. Nowe efekty elektrooptyczne
 - 2.5.2. Dynamiczny efekt Kerra w badaniach ciekłych kryształów, biomolekuł oraz dendrymerów

Piśmiennictwo cytowane



prof. dr Oleg Prezhdo urodził się w 1970 roku w Charkowie (Ukraina). W latach 1986–1991 studiował chemię na Wydziale Chemii Uniwersytetu Charkowskiego. Od 1993 roku prowadzi badania naukowe w Stanach Zjednoczonych – początkowo jako doktorant (w 1997 roku obronił pracę doktorską na Uniwersytecie w Teksasie), następnie jako Associate Professor of Chemistry, Professor of Chemistry, Senior Professor of Chemistry na uniwersytetach w Seattle i Rochester. Odbýwał staże naukowe w kilku uniwersytetach: Yale University 1998; Université d'Evry-Val-d'Essonne, Paris, France, 2004; Max-Planck Fellowship, Institute for the Physics of Complex System, Dresden, Germany, 2005–2006; Kyoto University 2007. Od roku 2008 jest redaktorem *Journal of Physical Chemistry* oraz członkiem Amerykańskiej Akademii Nauk Fizycznych.

Wypromował dziesięciu doktorów nauk chemicznych. Na stażu po doktorskim, pod jego opieką przebywało ośmiu doktorów. Jest autorem stu siedemdziesięciu artykułów, w tym dziesięciu prac przeglądowych oraz czterech rozdziałów w monografiach naukowych.

Dotychczas wygłosił 75 wykładów na zaproszenia uniwersytetów oraz 112 referatów na konferencjach naukowych jako zapraszany wykładowca.

Naukowe zainteresowania prof. O. Prezhdo to: nanomateriały (nanorurki węglowe, warstwy grafenowe, punkty kwantowe), elektryczne właściwości cząsteczek, alternatywne źródła energii, sekwencje aminokwasów w DNA, struktura i oddziaływania w białkach.



Karol Olan urodził się w 1988 roku w Kielcach. W latach 2007–2010 studiował Chemię na studiach licencjackich na Uniwersytecie Humanistyczno-Przyrodniczym Jana Kochanowskiego w Kielcach. W 2010 roku obronił z wyróżnieniem pracę licencjacką pt. Efekt Kerra w Chemii. Obecnie kontynuuję naukę oraz pracuje na rzecz koła naukowego w Instytucie Chemii UJK. Jego zainteresowania naukowe związane są z wykorzystaniem elektrooptycznego efektu Kerra w badaniach oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych w układach heterocyklicznych.



dr inż. Walentyna Zubkova w roku 1975 ukończyła studia na Wydziale Fizyko-Technicznym Politechniki Charkowskiej o specjalności Fizyczne Metody Badań. W tym samym roku podjęła pracę w Instytucie Chemicznej Przeróbki Węgla (Charków, Ukraina) w zespole naukowym prof. Michała Skłara. W 1989 roku obroniła pracę doktorską, w której zastosowała metodę rentgenowską do badań procesu koksovania. Od 1996 roku pracuję w Instytucie Chemii Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego w Kielcach. Jest autorem i współautorem prac dotyczących zastosowania metod elektrooptycznych, optycznych, spektroskopowych, rentgenowskich i in. w chemii oraz technologii chemicznej.



prof. dr hab. Wiktor Preżdo w roku 1964 ukończył studia na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Charkowskiej o specjalności Technologia Chemiczna Paliw. W tym samym roku podjął prace w Katedrze Chemii Fizycznej Politechniki Charkowskiej, gdzie w 1970 roku obronił pracę doktorską. W 1987 roku obronił pracę habilitacyjną, którą wykonywał w Instytucie Chemii Fizycznej AN w Moskwie. W roku 1988 otrzymał tytuł profesora. Od 1992 roku pracuje w Polsce – początkowo na Uniwersytecie Opolskim (1992–1996), a od roku 1996 na Uniwersytecie Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego w Kielcach. W roku 1997 Prezydent RP Aleksandr Kwaśniewski wręczył prof. W. Preżdo akt nadania tytułu profesora chemii. Od roku 2005 jest obywatelem RP. Autor dziesięciu monografii i podręczników,

w tym czterech w języku polskim oraz ponad dwustu pięćdziesięciu oryginalnych prac naukowych. Wypromował ośmiu doktorów nauk chemicznych.

ABSTRACT

The electro-optical Kerr effect finds wide application in conformational analysis of molecules and molecular aggregates [1–5], particularly in cases where the standard X-ray and NMR techniques cannot be used. For instance, NMR allows to establish conformations of linear and cyclic unsaturated organic compounds. However, it is less effective in an analysis of molecular complexes, particularly of those that have several rotational symmetry axes. In such cases a combination of techniques based on molecular dipole moments, electro-optical Kerr effect, optical Kerr effect, IR spectroscopy, and Rayleigh scattering can be applied [6]. The foundations of conformational analysis of molecular complexes using several complementary physical approaches are developed in Ref. [7].

The electro-optical methods are particularly useful for an investigation of intramolecular interactions [8–18]. The strength, direction and other details of intramolecular interactions can be determined by analyzing the deviations of the experimental molar Kerr constant (mK) from its value calculated according to the tensor-additive scheme that operates with polarizability tensors of molecular cores and functional groups [19, 20]. For instance, using this approach it has been shown that weakening of conjugation in an electron donor-acceptor chain can lead to flattening of the molecular structure [21].

The Kerr constant is also very sensitive to intermolecular interactions [22–29]. In order to assess quantitatively an extent of the solvent effect on the mK values, both molecular and continuum models of solution structure have been used [30, 31]. The mK values are greatly affected by the mutual orientation of solvent and solute molecules, which interact by dispersive, inductive and dipole-dipole forces [32]. Hydrogen and donor-acceptor bonding have an even stronger influence on the mK values [33]. The equimolar mixtures approach developed in Ref. [34] allows to determine the molar Kerr constant (mK), dipole moment (m), equilibrium constant (K) and, ultimately, structure of a molecular complex based on measurements of the Kerr constant (B), dielectric permittivity (ϵ), density (d) and refractive index (n) of a series of dilute solutions of the complex.

Future trends in the development of the electro-optical methods in chemistry are discussed. Theories that relate the electric-optic properties of molecules with their reactivity are particularly important. Such theories should be able to predict the changes in the polarizabilities and dipole moments of bonds, molecules and molecular aggregates during the course of chemical reactions.

Keywords: electro-optical Kerr effect, conformational analysis, intra-molecular interactions, intermolecular interactions, polarizability, dipole moment, Kerr constant
Słowa kluczowe: elektro-optyczny efekt Kerra, analiza konformacyjna, oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe, oddziaływania międzycząsteczkowe, polaryzowalność, moment dipolowy, stała Kerra

WPROWADZENIE

Postęp w rozwoju współczesnej chemii wymaga doskonalenia istniejących oraz opracowania nowych metod badań, które nie niszczą by badanych materiałów. Cechy takie wykazują urządzenia oparte na wykorzystaniu zjawisk elektrooptycznych. Przyrządy elektrooptyczne są bardzo czułe na zmiany właściwości molekularnych analizowanego obiektu, co pozwala określić natężenie i rozkład pól elektrycznych, sterować strumieniem świetlnym, przeprowadzić defektoskopię powierzchni, ustalić odległość do przedmiotu, identyfikować substancje w ilościach śladowych w różnych środowiskach [1, 2].

Polaryzowalność elektryczna jest jedną z podstawowych wielkości charakteryzujących atom lub cząsteczkę. Odgrywa ona ważną rolę w modelowaniu właściwości substancji stanowiąc ważny czynnik, który decyduje o charakterze oddziaływań wewnątrz i międzycząsteczkowych oraz o zdolności reakcyjnej związków organicznych i ich przestrzennej budowie elektronowej [3]. Efekty Kerra (elektrooptyczny i optyczny) oraz rozpraszanie światła Rayleigha, których podstawą jest anizotropia polaryzowalności wraz z refrakcją molekularną są zjawiskami wykorzystywanymi do rozwiązywania wielu problemów chemii fizycznej i organicznej [3, 4].

1. ELEKTROOPTYCZNY EFEKT KERRA

1.1. TENSOR POLARYZOWALNOŚCI

Dowolna molekula stanowi układ dodatnich i ujemnych ładunków. Pole elektryczne może wywoływać zmiany rozkładu ładunków powodując utworzenie indukowanego momentu dipolowego (μ). Zdolność atomu lub molekuly do nabycia momentu dipolowego w polu elektrycznym, jak i ilościowa charakterystyka określająca zdolność ładunków do przemieszczania się nazywa się polaryzowalnością. Indukowany moment jest w przybliżeniu proporcjonalny do natężenia działającego pola elektrycznego (E): $\mu = b \cdot E$.

Polaryzowalność (b) określa stosunek wielkości i orientacji w przestrzeni dwóch wektorów – natężenia pola elektrycznego i indukowanego momentu dipolowego. Ponieważ każdy z nich w prostokątnym układzie współrzędnych opisany jest trzema składowymi, zależność między wektorami ogólnie opisuje się układem równań:

$$\mu_i = b_{ix}E_x + b_{iy}E_y + b_{iz}E_z, \quad i = x, y, z.$$

Rozkład współczynników b_{ij} jest prostokątnym tensorem drugiego rzędu [5], nazywanym tensorem polaryzowalności. Ma on postać macierzy:

$$b_{ij} = \begin{vmatrix} b_{xx} & b_{xy} & b_{xz} \\ b_{yx} & b_{yy} & b_{yz} \\ b_{zx} & b_{zy} & b_{zz} \end{vmatrix}.$$

Każda ze składowych tensora polaryzowalności stanowi moment dipolowy indukowany w kierunku osi i przy działaniu pola elektrycznego wzdłuż osi j . We wszystkich wypadkach, oprócz obrotu płaszczyzny polaryzacji światła, przekątne elementy macierzy są parzyste:

$$b_{ij} = b_{ji}.$$

1.2. STAŁA KERRA

Z anizotropią polaryzowalności cząsteczek związana jest dwójłomność optyczna w polu elektrycznym – elektrooptyczny efekt Kerra. Promień światła przechodzący pod kątem różnym od zera do linii siłowych pola elektrycznego, rozszczepia się na tzw. promień zwyczajny i nadzwyczajny.

Gdy promień światła monochromatycznego jest prostopadły do zewnętrznego pola elektrycznego wówczas tworzy się różnicę dróg optycznych (l) pomiędzy promieniami zwyczajnym i nadzwyczajnym, a odpowiadająca tej sytuacji wartość przesunięcia fazowego (Δ_λ) wyraża się następującym wzorem:

$$\Delta_\lambda = nl(n_p - n_s)/\lambda$$

gdzie, n oznacza współczynnik załamania promienia przy braku zewnętrznego pola elektrycznego; n_p współczynnik załamania promienia nadzwyczajnego, którego wektor pola drga równoległe do przyłożonego pola elektrycznego; n_s współczynnik załamania promienia zwyczajnego, którego wektor drga prostopadłe do tego pola.

Prawo Kerra wyraża się równaniem:

$$D = 2\pi l(n_p - n_s)/\lambda = 2\pi B l E^2 \quad (1.1)$$

gdzie: l – długość drogi światła w polu elektrycznym, dwójłomność optyczna wyrażana w radianach, B – stała Kerra charakteryzująca materiał.

Wartość stałej Kerra B , która nie zależy od długości fali lecz charakteryzuje daną substancję otrzymuje się po odpowiednim przekształceniu wzoru (1.2) stanowiącego inną postać stałej Kerra, tzw. stałą Kerra charakteryzująca dany ośrodek (K):

$$K = B\lambda / n = (n_p - n_s) / nE^2 \quad (1.2)$$

Uwzględniając średnią polaryzowalność według wzoru Lorentza-Lorenza, otrzymujemy:

$$B = \frac{\pi N_1 (n^2 + 2)^2 (\varepsilon + 2)}{27 n \lambda} (\Theta_1 + \Theta_2). \quad (1.3)$$

gdzie, N_1 – liczba cząsteczek w jednostce objętości; Θ_1 i Θ_2 – anizotropowy i dipolowy człon stałej Kerra K .

Niezależna od długości fali stała Kerra ma wówczas postać:

$$K = \frac{\pi N_1}{27} \left(\frac{n^2 + 2}{n} \right)^2 (\varepsilon + 2)^2 (\Theta_1 + \Theta_2) = K_1 + K_2, \quad (1.4)$$

gdzie, ε oznacza przenikalność dielektryczną badanego ośrodka.

Briegleb [6] wprowadził tzw. molową stałą Kerra (mK). Molowa stała Kerra wyraża różnicę pomiędzy refrakcjami molekularnymi ($MR_p - MR_s$) dla światła o wektorze elektrycznym zorientowanym równoległe i światła o wektorze elektrycznym zorientowanym prostopadle w stosunku do przykładanego zewnętrznego pola elektrycznego, przypadającą na 1 cm drogi w jednostkowym polu:

$$MR_p - MR_s = \left[\frac{n_p^2 - 1}{n_p^2 + 2} - \frac{n_s^2 - 1}{n_s^2 + 2} \right] \frac{M}{d} = \frac{n_p - n_s}{n} \frac{6n^2}{(n^2 + 2)^2} \frac{M}{d}.$$

gdzie, M – masa molowa badanej substancji, d – jej gęstość.

Uwzględniając pole wewnętrzne oraz wykorzystując wzory (1.1) i (1.2) otrzymujemy:

$$mK = \frac{6B\lambda n}{(n^2 + 2)^2} \left(\frac{3}{\varepsilon + 2} \right)^2 \frac{M}{d} = \frac{6Kn^2}{(n^2 + 2)^2} \left(\frac{3}{\varepsilon + 2} \right)^2 \frac{M}{d}.$$

Podstawiając zamiast B i K ich wyrażenia (1.3) i (1.4) otrzymujemy proste równanie nie zawierające wielkości makroskopowych:

$$mK = 2\pi N (\Theta_1 + \Theta_2).$$

To równanie jest ściśle, jednak w takiej formie nie było wykorzystywane. Rozpowszechnił się natomiast jego wariant, różniący się współczynnikiem liczbowym:

$$mK = \frac{6B\lambda n}{(n^2 + 2)^2 (\varepsilon + 2)^2} \frac{M}{d} = \frac{2\pi}{9} N (\Theta_1 + \Theta_2). \quad (1.5)$$

Tak więc, Stała Kerra określana jest sumą dwóch członów:

$$\Theta_1 = (45kT)^{-1} [(a_1 - a_2)(b_1 - b_2) + (a_2 - a_3)(b_2 - b_3) + (a_3 - a_1)(b_3 - b_1)], \quad (1.6a)$$

$$\begin{aligned} \Theta_2 &= (45k^2T^2)^{-1}[(\mu_1^2 - \mu_2^2)(b_1 - b_2) + (\mu_2^2 - \mu_1^2)(b_2 - b_3) + (\mu_3^2 - \mu_1^2)(b_3 - b_1)] = \\ &= (45k^2T^2)^{-1}[\mu_1^2(2b_1 - b_2 - b_3) + \mu_2^2(2b_2 - b_3 - b_1) + \mu_3^2(2b_3 - b_1 - b_2)], \end{aligned} \quad (1.6b)$$

z których pierwszy nazywa się anizotropowym, drugi zaś dipolowym.

Dokładny przegląd teorii elektrooptycznego efektu Kerra można znaleźć w pracy [4].

1.3. OKREŚLANIE STAŁYCH KERRA W ROZTWORACH

Molowa stała Kerra układu wieloskładnikowego jest addytywna przy wyrażeniu stężeń w ułamkach molowych (f_i):

$$mK = \sum mK_i f_i$$

Stąd jej wielkość określona eksperymentalnie dla roztworu o znanym stężeniu:

$$mK_{12} = 6\lambda n_{12} B_{12} (M_1 f_1 + M_2 f_2) / (n_{12}^2 + 2)^2 (\varepsilon_{12} + 2)^2 d_{12}$$

pozwała obliczyć nieznaną molową stałą Kerra substancji rozpuszczonej [6] jako:

$$mK_2 = [mK_{12} - mK_1(1 - f_2)] / f_2.$$

Ponieważ w roztworach ma miejsce oddziaływanie między cząsteczkami substancji rozpuszczonej, konieczna jest ekstrapolacja wielkości mK_2 do stałej przy nieskończonym rozcieńczeniu ${}_{\infty}(mK_2)$.

W celu określenia molowej stałej Kerra (mK) mierzony jest cały szereg fizycznych parametrów roztworów: dwójłomność optyczna (B), przenikalności dielektryczne (ε), gęstości (d) oraz współczynniki załamania światła (n) – z tego powodu zaproponowana została ekstrapolacja każdej z tych wielkości fizycznej do zerowego stężenia; jednocześnie wprowadzono obliczanie właściwych stałych Kerra, addytywnych wg ułamków wagowych (w):

$$sK_{12} = sK_1(1 - w_2) + sK_2 w_2.$$

Zależności mierzonych parametrów od ułamków wagowych wyrażane są w postaci:

$$\varepsilon_{12} = \varepsilon_1(1 + \alpha w_2), \quad (1.7a)$$

$$d_{12} = d_1(1 + \beta w_2), \quad (1.7b)$$

$$n_{12} = n_1(1 + \gamma w_2), \quad (1.7c)$$

$$B_{12} = B_1(1 + \delta w_2). \quad (1.7d)$$

Ekstrapolacja dokonywana jest graficznie lub poprzez rozwiązanie równań typu:

$$\delta = \frac{\sum(B_{12} - B_1)}{B_1 \sum w_2}$$

Jeśli zależności są krzywoliniowe, to współczynniki równań (1.7) powinny pokazywać nachylenia stycznych w punkcie $w_2 = 0$. Właściwa stała Kerra substancji rozpuszczonej przy nieskończonym rozcieńczeniu jest równa:

$${}_{\infty}(sK_2) = sK_1 [{}_{\infty}(sK_{12}) / \partial w_2]_{w_2=0}.$$

Roboczo wzór dla obliczenia właściwej stałej Kerra wyprowadza się przez podstawienie (1.7) do równania:

$$sK_{12} = \frac{6\lambda n_{12} B_{12}}{(n_{12}^2 + 2)^2 (\varepsilon_{12} + 2)^2} \frac{1}{d_{12}}$$

i różniczkowanie przez w_2 :

$${}_{\infty}(sK_2) = sK_1(1 - \beta + \gamma + \delta - H\gamma - J\alpha\varepsilon_1),$$

gdzie: $H = 4n_1^2 / (n_1^2 + 2)$; $J = 2 / (\varepsilon_1 + 2)$.

Molowa stała otrzymywana jest poprzez pomnożenie powyższego wyrażenia przez masę cząsteczkową.

Przy ekstrapolacji parametrów roztworu, wyrażonych jako funkcje stężeń w częściach molowych:

$${}_{\infty}(mK_2) = mK_1 \left(\frac{M_2}{M_1} - \beta - \frac{2\varepsilon_1}{\varepsilon_1 + 2} \alpha - \frac{2n_1^2 - 4}{n_1^2 + 2} \gamma + \delta \right). \quad (1.8)$$

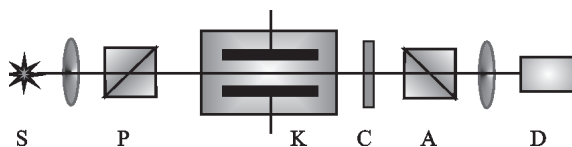
Określone w roztworach molowe stałe Kerra są systematycznie mniejsze od stałych Kerra substancji gazowych. W takiej sytuacji można starać się drogą doskonalenia teorii osiągnąć przybliżenie do rzeczywistych wielkości lub też budować cały układ pojęć o związku anizotropii polaryzowalności cząsteczek z elektryczną dwójłomnością optyczną na podstawie teorii gazowej oraz wyników doświadczalnych uzyskanych z badań rozcieńczonych roztworów. Szerokie zastosowanie znalazł tylko drugi wariant, choć starania o rozwinięcie bardziej ścisłej teorii efektu Kerra w cieczach podnoszone były wielokrotnie.

1.4. APARATURA DO POMIARU STAŁYCH KERRA W ROZTWORACH

Dla określenia molowych stałych Kerr'a niezbędnie należy dokonać następujących pomiarów: stałych Kerr'a B , przenikalności dielektrycznej ϵ , współczynnika załamania światła n oraz gęstości d roztworów badanej substancji; pomiary powinny być prowadzone w stałej temperaturze i przy kontrolowanym natężeniu zewnętrznego pola elektrycznego.

Nie mniej jednak głównym zadaniem w prowadzonych badaniach jest pomiar dwójłomności optycznej, warunkującej wielkości B .

Schemat aparatury pomiarowej przedstawiono na Rysunku 1. Promień światła z monochromatycznego źródła S przechodzi przez polaryzator P i pada na komórkę Kerr'a K (kondensator pomiarowy z płaskimi okładkami). Płaszczyzna polaryzacji światła wchodzącego do komórki K powinna stanowić kąt 45° z liniami siłowymi pola elektrycznego podawanego na komórkę. Po przejściu przez pole elektryczne, promień światła staje się eliptycznie spolaryzowany, w stopniu zależnym od wielkości dwójłomności optycznej. Do analizy światła wykorzystuje się kompensator C w połączeniu z analizatorem A oraz detektorem światła D .



Rysunek 1. Schemat optyczny aparatury do badań elektrooptycznego efektu Kerr'a. S oznacza źródło monochromatycznego światła, P – polaryzator, K – komórka Kerr'a, C – kompensator, A – analizator, D – detektor światła

Figure 1. The optical scheme of the apparatus to investigate the electro-optical Kerr effect. S stands for source of monochromatic light, P – polarizer, K – Kerr cell, C – compensator, A – analyzer, D – light detector

Do obliczeń stałej Kerr'a konieczna jest znajomość: długości okładek komórki l , wielkości dwójłomności optycznej Δn w radianach, natężenia pola elektrycznego E (wartość proporcjonalna do napięcia V podawanego na okładki kondensatora i odwrotnie proporcjonalną odległości G pomiędzy nimi):

$$B = \Delta n / 2\pi\lambda(V/G)^2.$$

Jeżeli kąt powrotu kompensatora φ mierzony jest w stopniach, a napięcie V w woltach, to [3]

$$B = \frac{\varphi}{360} \frac{1}{l(V/300G)^2}.$$

Dla każdej komórki wyrażenie $250G^2/l = C$ jest wielkością stałą, stąd

$$B = C\varphi/V^2.$$

Jako polaryzatory i analizatory mogą być wykorzystane pryzmaty polaryzacyjne lub polaroidy. Źródło światła, najczęściej stanowi lampa sodowa (589 nm) lub rtęciowa (546 nm). W przypadku stosowania lasera jako źródła światła, nie ma konieczności włączania polaryzatora do schematu optycznego.

Do obserwacji dwójłomności optycznej w polu elektrycznym niezbędne jest pole o natężeniu rzędu $50 \text{ kV} \cdot \text{cm}^{-1}$, co odpowiada stosowanemu napięciu 10–15 kV przy odstępnie 2–3 mm pomiędzy okładkami kondensatora.

Komórka Kerra do pomiarów stałej Kerra powinna spełniać kilka wymogów, z których najważniejszym jest jednorodność pola elektrycznego, a co za tym idzie doskonała jakość obróbki powierzchni okładek kondensatora [7].

2. ZASTOSOWANIE ELEKTROOPTYCZNEGO EFEKTU KERRA

2.1. OKREŚLENIE TENSORA POLARYZOWALNOŚCI CZĄSTECZKI

Elektrooptyczna stała Kerra B związana jest z osiami polaryzowalności cząsteczki b_1 , b_2 i b_3 zależnością

$$B = \frac{\pi N_1 (n^2 + 2)^2 (\varepsilon + 2)^2}{27n\lambda} (\Theta_1 + \Theta_2)$$

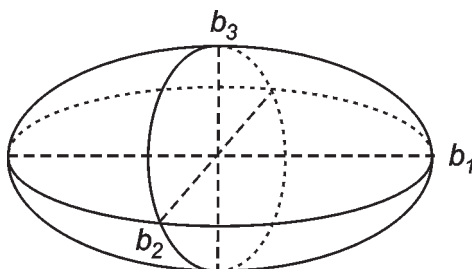
gdzie: n i ε oznaczają odpowiednio współczynnik załamania światła i przenikalność dielektryczną badanego ośrodka; N_1 – liczba cząsteczek w jednostce objętości; Θ_1 i Θ_2 – anizotropowy i dipolowy człon stałej Kerra:

$$\Theta_1 = \frac{1}{45kT} \frac{P_d}{P_e} [(b_1 - b_2)^2 + (b_2 - b_3)^2 + (b_3 - b_1)^2]$$

$$\Theta_2 = \frac{1}{45k^2T^2} [\mu_1^2 (2b_1 - b_2 - b_3) + \mu_2^2 (2b_2 - b_3 - b_1) + \mu_3^2 (2b_3 - b_2 - b_1)]$$

P_d i P_e – polaryzacja deformacyjna i elektronowa, k – stała Boltzmanna, T – temperatura K, μ_i – rzuty momentu dipolowego cząsteczki na wybrane osie współrzędnych.

Z reguły polaryzowalność cząsteczki jest anizotropowa i można ją scharakteryzować trzema wzajemnie prostopadłymi półosiami elipsoidy polaryzowalności: b_1 , b_2 i b_3 (Rys. 2).



Rysunek 2. Elipsoida polaryzowalności cząsteczki

Figure 2. Polarizability ellipsoid of molecule

Za pomocą metod fizycznych (refraktometrii, elektrooptycznego efektu Kerra i badań stopnia depolaryzacji rozproszonego światła lub optycznego efektu Kerra) można otrzymać wszystkie składowe elipsoidy polaryzowalności anizotropowych cząsteczek.

Otrzymano trzy fundamentalne zależności pomiędzy mierzonymi wielkościami a wielkościami półosi molekularnych elipsoid polaryzowalności:

- 1) dla refrakcji molekularnej MR

$$MR = \frac{4\pi N_A}{3} \frac{b_1 + b_2 + b_3}{3} \quad (2.1)$$

- 2) z pomiarów elektrooptycznego efektu Kerra

$$45kT\Theta_1 P_e / P_d = (b_1 - b_2)^2 + (b_2 - b_3)^2 + (b_3 - b_1)^2,$$

$$45k^2 T^2 \Theta_2 = \mu_1^2 (2b_1 - b_2 - b_3) + \mu_2^2 (2b_2 - b_3 - b_1) + \mu_3^2 (2b_3 - b_1 - b_2) \quad (2.2)$$

- 3) z pomiarów stopnia depolaryzacji rozpraszania światła Rayleigha lub optycznego efektu Kerra

$$\gamma^2 = [(b_1 - b_2)^2 + (b_2 - b_3)^2 + (b_3 - b_1)^2] / 2 \quad (2.3)$$

Mamy trzy równania, zawierające trzy nieznanne wielkości półosi b_1, b_2, b_3 :

$$b_1 + b_2 + b_3 \equiv A \quad (2.4)$$

$$(b_1 - b_2)^2 + (b_2 - b_3)^2 + (b_3 - b_1)^2 \equiv B \quad (2.5)$$

$$\sum \mu_i^2 (2b_i - b_j - b_k) \equiv C \quad (2.6)$$

Dla cząsteczek mających symetrię osiową ($b_2 = b_3$) z zastosowaniem równań (2.5) i (2.6) obliczamy wielkości $\gamma = b_1 - b_2$; kombinacja z równaniem (2.4) daje

b_1 i b_2 . Podczas wykorzystania równania kwadratowego (2.5) możliwe są dwa rozwiązania:

$$1) \gamma > 0, b_1 > b_2, b_1 = (A + 2\sqrt{B})/3, b_2 = (A - 2\sqrt{B})/3$$

$$2) \gamma < 0, b_1 < b_2, b_1 = (A - 2\sqrt{B})/3, b_2 = (A + 2\sqrt{B})/3.$$

Aby wybrać właściwe równanie potrzebne są dodatkowe dane.

Wspólna analiza danych otrzymanych z pomiarów stopnia depolaryzacji rozpraszania światła Rayleigha oraz elektrooptycznego efektu Kerra stosowana jest przede wszystkim do wyizolowania z mK jej członu dipolowego:

$$C = \frac{405k^2T^2mK}{2\pi N_A} - \frac{2kTP_d\gamma^2}{P_e}.$$

W rozpatrywanym przypadku osiowo-symetrycznej cząsteczki $C = 2\mu^2(b_1 - b_2)$. Uwzględniając (2.4), otrzymujemy $b_1 = A/3 + C/3\mu^2$, $b_2 = A/3 - C/3\mu^2$. Najbardziej ogólny przypadek, dostępny do pełnej analizy to cząsteczka z momentem dipolowym skierowanym wzdłuż jednej z osi (b_1). Kombinacja wszystkich trzech równań (2.4)–(2.6) prowadzi do układu:

$$b_1 = (A + C/\mu^2)/3,$$

$$b_2 = A/3 - C/6\mu^2 + (6B - 3C^2/\mu^4)^{1/2}/6,$$

$$b_3 = A/3 - C/6\mu^2 - (6B - 3C^2/\mu^4)^{1/2}/6.$$

Wyboru pomiędzy b_2 i b_3 dokonuje się na podstawie teoretycznych rozważań lub analizy pochodnych badanego związku.

Pojęcie **addytywności** przenoszone na anizotropię polaryzowalności oznacza, że molekularna elipsoida jest sumą tensorową polaryzowalności wiązań. Każdemu wiązaniu przypisuje się stałą w pierwszym przybliżeniu elipsoidę polaryzowalności. Zakłada się, że jedna z jej osi głównych jest zgodna z kierunkiem wiązania (podłużna polaryzowalność b_L). Dla wiązań o symetrii osiowej dwie inne są identyczne (poprzeczna polaryzowalność b_T). W przypadku wiązań podwójnych i potrójnych, nie mających symetrii σ , kierunek osi jednoznacznie określany jest elementami symetrii (poprzeczna polaryzowalność b_T w płaszczyźnie wiązania i pionowa polaryzowalność b_V prostopadła do niej).

Tensor polaryzowalności z wykorzystaniem głównych osi (b_L, b_T, b_V) opisywany jest za pomocą macierzy diagonalnej:

$$b = \begin{vmatrix} b_L & 0 & 0 \\ 0 & b_T & 0 \\ 0 & 0 & b_V \end{vmatrix}$$

Różnica podłużnej i poprzecznej składowej dla osiowo-symetrycznego wiązania nazywana jest **anizotropią polaryzowalności**:

$$\gamma = b_L - b_T \quad (2.7)$$

Dla podwójnych wiązań jej wielkość jest równa:

$$\gamma = [(b_L - b_T)^2 + (b_T - b_V)^2 + (b_L - b_V)^2]^{1/2}. \quad (2.8)$$

Jako charakterystykę anizotropii wiązania najczęściej wykorzystuje się średnią wielkość:

$$\gamma = [(b_L - b_T) + (b_L - b_V)] / 2. \quad (2.9)$$

Anizotropia to jedna z podstawowych charakterystyk polaryzowalności wiązań i cząsteczek [2, 4]. Dlatego sumowanie tensorów polaryzowalności wiązań rozpatrywane jest jako addytywny schemat anizotropii wiązań. Jeżeli **tensor polaryzowalności cząsteczki** przedstawimy w postaci sumy tensorów polaryzowalności wiązań

$$b_{ij} = \sum_n (b_{ij})_n$$

to zgodnie z regułami sumowania tensorowego należy wykonać dodawanie każdej jego składowej wg metody Smitha-Mortensena [8]. Największe zastosowanie ma addytywny schemat Le Fevra [9, 10], podstawą którego są pomiary stałych Kerra oraz współczynników depolaryzacji rozproszonego światła Rayleigha w roztworach.

Zaproponowano model obliczania anizotropii polaryzowalności i hiperpolaryzowalności na podstawie pomiarów: zależności elektrooptycznej stałej Kerra od temperatury, depolaryzacji Rayleigh'a, współczynnika załamania światła oraz modelu addytywności polaryzowalności [11].

2.2. ANALIZA KONFORMACYJNA

Największe zastosowanie elektrooptyczny efekt Kerra ma w **analizie konformacyjnej**. Klasyczne metody badania budowy cząsteczek i kompleksów w roztworach polegają na porównaniu określonych doświadczalnie molowych stałych Kerra (mK) z obliczanymi teoretycznie wg schematu tensorowo-addytywnego dla możliwych izomerów przestrzennych. Występująca zgodność porównywanych wyników jest podstawą do zaproponowania określonej struktury przestrzennej cząsteczki.

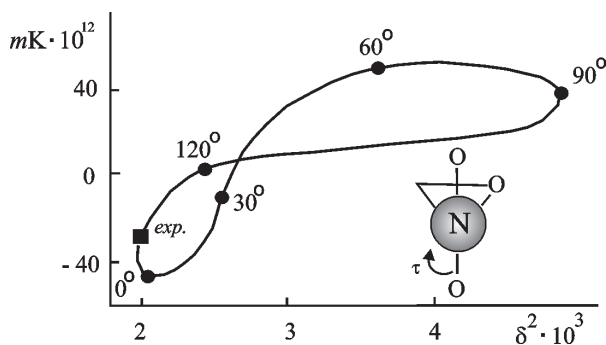
Podstawą metody jest zależność pomiędzy przestrzenną orientacją wiązań, a ich właściwościami tensorowymi. Zastosowanie **zasady addytywności anizotropii polaryzowalności** polega na uwzględnieniu założenia, że każdemu wiązaniu przypisuje się stałą, właściwą mu elipsoidę polaryzowalności. Operacja addytywnego sumowania tensorów polaryzowalności jest dokładnie opisana w literaturze [3]. W celu obliczenia mK dla określonych struktur przestrzennych należy znać parametry geometryczne cząsteczek i główne osie elipsoidy polaryzowalności wiązań. Pierwsze otrzymujemy z danych uzyskanych z badań struktur rozpatrywanych lub analo-

gicznych związków na podstawie ogólnych zasad o kątach walencyjnych, drugie powinny być określone w niezależnych eksperymentach.

Anizotropia optycznej polaryzowalności wynika z anizotropii kształtu cząsteczki i typu wiązań w cząsteczce. Przy czym, polaryzowalność zwiększa się w szeregu: wiązanie $\sigma <$ wiązanie $\pi <$ sprzężone wiązanie π . Anizotropia polaryzowalności wzrasta także wskutek wydłużenia się łańcucha i odpowiednio zwiększa się również mK związków.

W wielu przypadkach badanie anizotropii polaryzowalności cząsteczek ma istotną przewagę nad innymi metodami. Prowadzone tu rozważania w pierwszej kolejności dotyczą analizy orientacji przestrzennej niepolarnych grup, takich jak rodniki alkilowe oraz wewnątrzcząsteczkowego ruchu obrotowego, który nie wpływa na polarność cząsteczki i na jej charakterystyki spektroskopowe [12]. I tak np. metoda NMR, skuteczna do określenia konformacji cząsteczki o budowie cyklicznej lub konfiguracji geometrycznej związków nienasyconych, jest mało przydatna do analizy złożonych cząsteczek z kilkoma osiami ruchu obrotowego. W tym przypadku warto zastosować inne metody takie jak: metodę wyznaczania momentów dipolowych za pomocą elektrooptycznego efektu Kerra, metodę spektroskopii w podczerwieni i rozpraszania światła Rayleigha [12]. Zastosowanie takiego kompleksowego podejścia do rozwiązania zadań konformacyjnych jest bardzo skuteczne [13]. Zasady badania konformacji złożonych cząsteczek z zastosowaniem kilku metod fizycznych opracowano w [14].

Uniwersalną szeroko stosowaną metodą rozwiązywania zadań konformacyjnych jest metoda polegająca na porównaniu danych z pomiarów kilku innych właściwości fizycznych dla tej samej cząsteczki. **Analiza graficzna** danych oparta jest na ogólnych zasadach zestawiania obliczonych i eksperymentalnych wielkości w układach współrzędnych właściwość–właściwość. Metoda analizy graficznej dwóch liniowo niezależnych elektrycznych charakterystyk cząsteczek – kwadratów momentów dipolowych (μ^2) i molowej stałej Kerra (mK) po raz pierwszy zaproponowana została w pracy [10]. Dla przypadków, kiedy polarność związku nie zależy od charakteru izomerów rotacyjnych wykorzystywana może być kombinacja wyników badań efektu Kerra i rozpraszania światła Rayleigha [11]. W ten sposób np. określony został kąt obrotu grupy nitrowej w nitrooksiranach (Rys. 3).



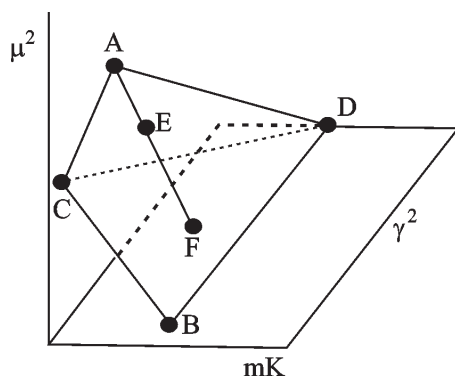
Rysunek 3. Zależność molowej stałej Kerr'a (mK) oraz optycznej anizotropii (δ^2) od konformacji cząsteczki 1-nitro-2-trichlorometylooksiranu

Figure 3. Dependence of molar Kerr constant (mK) and optical anisotropy (δ^2) on molecule conformation by 1-nitro-2-trichloromethylloxirane

Tymczasem, dane otrzymane przy pomocy dwóch metod fizycznych nie zawsze dostarczają pełnej informacji, dlatego następnym krokiem w rozwoju analizy graficznej było jednoczesne wykorzystanie danych otrzymanych przy pomocy trzech metod ze stworzeniem trójwymiarowego wykresu w układzie współrzędnych: stała Kerr'a (mK) – kwadrat momentu dipolowego (μ^2) – molekularna anizotropia polaryzowalności (γ^2). Przy analizie równowagi dyskretnych konformacji teoretyczne punkty (A, B, C, D) przedstawiają w przestrzeni pewien wielościan, krawędzie którego odpowiadają równowagom podwójnym, a ściany – potrójnym. Na Rysunku 4 przedstawiono najprostszy przypadek czterech konformerów. Jeżeli punkt eksperymentalny (E) znajduje się wewnątrz określonego konformerami czworościanu, ułamki molowe każdego konformera (n_i) oblicza się, stosując prawo dźwigni. Na przykład, jak przedstawiono na Rysunku 4, $n_A : n_{B+C+D} = EF : AE$. Względną zawartość konformerów B, C i D określa się w sposób analogiczny.

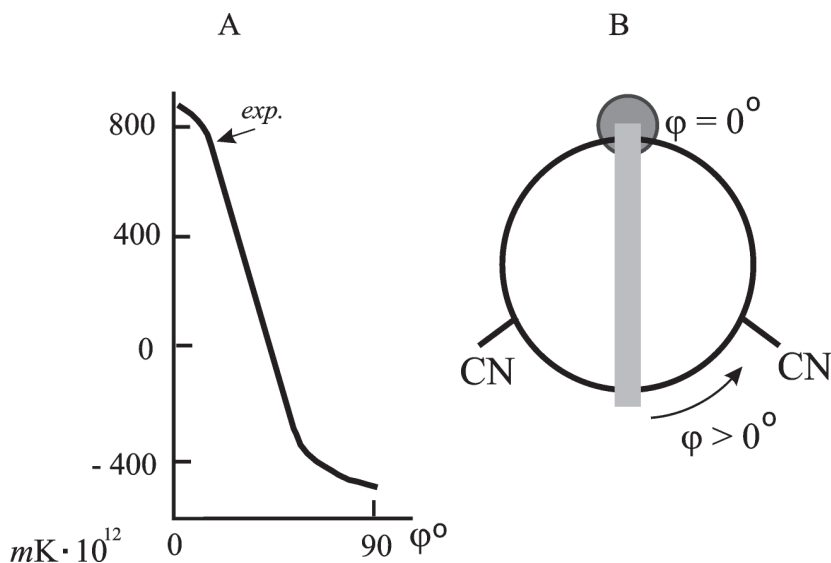
Natomiast, jeżeli budowa przestrzenna cząsteczki charakteryzuje się dwoma kątami obrotu wewnętrznego (φ_1, φ_2) dokładne rozwiązanie zadania konformacyjnego jest możliwe tylko za pomocą graficznego porównania na kartach (**metoda ułożenia kartogramu**) [3].

Elektrooptyczny efekt Kerr'a jest skuteczny w badaniach konformacji rodników arylowych w związkach fosforoorganicznych. Zbadano szereg związków zarówno z *trój*-, jak i *tetra*-koordynacyjnym fosforem. Z reguły molowa stała Kerr'a tych związków zależy mocno od kąta obrotu grupy fenylowej, co pozwala precyzyjnie określić kąt jej obrotu. Jako przykład takiej zależności na Rysunku 5 przedstawiono zależność molowych stałych Kerr'a mK fenylodicyjanofosfiny.



Rysunek 4. Graficzne określenie położenia równowagi konformacyjnej przy badaniu danych trzech fizycznych metod (objaśnienie w tekście)

Figure 4. Graphical determination of conformational equilibrium location at investigation of the data of the three physical methods (explanation in the text)



Rysunek 5. Zależność obliczonej molowej stałej Kerra mK fenylodicianofosfiny od kąta powrotu pierścienia aromatycznego φ (A) i konformacja cząsteczki fenylodicianofosfiny (B)

Figure 5. Dependence of the calculated molar Kerr constant mK of fenylodicianofosphine on the angle of aromatic ring bend φ (A) and conformation of fenylodicianofosphine molecule (B)

W $C_6H_5P(CN)_2$ realizuje się konformacja, w której płaszczyzna pierścienia benzenowego jest praktycznie równoległa do wolnej pary elektronowej atomu fosforu, co decyduje o braku możliwości oddziaływania $n-\pi$ w tej cząsteczce.

Mimo że metoda spektroskopii NMR ma szerokie zastosowanie w analizie konformacyjnej, to w niektórych przypadkach konieczne jest stosowanie kompleksowych metod badających właściwości elektryczne cząsteczek, gdyż ich stosowanie

jest bardziej skuteczne w rozwiązaniu tych zadań. W taki sposób z sukcesem była przeprowadzona analiza konformacyjna 1,4-heterofosfinatów [15], 2-podstawionych 1-nitro- i 1-bromo-1-nitroetenów [16], ośmioczłonowych cyklicznych związków krzemoorganicznych z grupami płaskimi [17], mono- i bis(di-metoksyfosforylo)-benzenów [18], podstawionych 1,3,6,2-dwuhydroksyaza-fosfocinów [19], 1,3,5-tris-(difenylfosfinitlenekmetylen)benzenu [20]. W wymienionych przypadkach zastosowanie wyłącznie metody NMR nie pozwoliłoby na rozwiązania zadań konformacyjnych.

2.3. EFEKTY ODDZIAŁYWAŃ WEWNĄTRZCZĄSTECzkOWYCH

W ramach modelu teoretycznego dla molowej stałej Kerra, odchylenia wartości wyznaczonych doświadczalnie od obliczonych zgodnie ze schematem tensorowo-addytywnym, potwierdzają obecność oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych.

Podstawą współczesnej teorii wzajemnego oddziaływania atomów w cząsteczce jest pojęcie polaryzacji elektronowej [21], która jest rezultatem przesunięcia się pod wpływem pola elektrycznego, ujemnie naładowanych chmur elektronowych względem dodatnich jąder. Wyróżniamy polaryzację statyczną i dynamiczną, przy czym ta ostatnia zwykle związana jest z polaryzowalnością, a także procesy zachodzące z zachowaniem lokalizacji par elektronowych (I – oddziaływania indukcyjne) i z delokalizacją (M – efekt sprzężenia lub koniugacji).

Efekt indukcyjny (I) scala szereg różnych zjawisk takich jak: realna zmiana charakteru rozkładu chmury elektronowej wiązania; zmiana energii układu spowodowana oddziaływaniami ładunków i dipoli; efektywna zmiana właściwości cząsteczki pod wpływem pola elektrycznego.

Jego mechanizm opisuje się przy pomocy dwóch metod: 1) przekazywanie efektu indukcyjnego poprzez łańcuch wiązań z ich kolejną polaryzacją I_σ (mechanizm indukcyjny σ); 2) oddziaływanie elektrostatyczne przez przestrzeń (efekt pola). W wyniku tego efekt indukcyjny został scharakteryzowany jako kompleks oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych o charakterze elektrostatycznym. Według pierwszej metody wpływ wielkości efektu na zdolność reakcyjną cząsteczki zależy od właściwości podstawnika σ_p , jak również od atomów które rozdzielają oddziałujące grupy tzn. ich liczby atomów n i ich natury.

$$I = \rho z^n \sigma_p$$

gdzie z – współczynnik przekazywania efektu przez atom rozdzielającego mostka, σ_p – indukcyjna stała reakcyjna grupy funkcyjnej, ρ – stała dla szeregu rozpatrywanych związków.

W teorii przekazywania efektu przez przestrzeń działa elektryczne pole podstawnika (\mathbf{E}), posiadającego moment dipolowy \mathbf{m} , oddziałujący na odległości r z badanym wiązaniem:

$$E = 3(\mathbf{m}r)\mathbf{r}r^{-5} - \mathbf{m}r^{-3}.$$

Oznacza to, że efekt zależy od wzajemnej orientacji dipola i wiązania. Dane eksperymentalne charakteryzujące zdolność reakcyjną [22] oraz właściwości fizyczne związków organicznych świadczą o decydującej roli efektu pola [23].

W pracy [24] przeprowadzono ilościową ocenę indukcyjnych oddziaływań grup funkcyjnych w cząsteczkach związków organicznych. Opracowany przez autorów model pozwala na obliczenie indukcyjnych stałych różnych podstawników przy centrach reakcyjnych związków metaloorganicznych, fosforoorganicznych, organicznych związków zawierających atomy azotu i siarki.

Aby wyznaczyć wpływ *sprzężenia* na anizotropię polaryzowalności zbadano stałe Kerra i stopień depolaryzacji rozproszonego światła Rayleigha w szeregu *para*-podstawionych pochodnych benzenu [3], zawierających elektronodonorowe i elektroakceptorowe podstawniki. Analiza trójwymiarowa polaryzowalności takich układów w *para*-podstawionych nitrobenzenach $p\text{-XC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ została dokonana w pracy [3]. Pokazano, że egzaltacja polaryzowalności pojawia się wzdłuż kierunku 1,4. Oprócz tego dokonuje się ponowny podział osi elipsoidy polaryzowalności prostopadłych do kierunku przeniesienia elektronów: polaryzowalność w płaszczyźnie b_2 zwiększa się, a prostopadła do niej b_3 zmniejsza się. Przy tym relacje wartości odpowiedniej osi elipsoidy polaryzowalności b_1 do sumy osi dobrze korelują z momentami oddziaływań, zmianami energii przejść długofalowych w widmach ultrafioletowych i stałymi σ^* podstawników, które charakteryzują oddziaływanie polarne. Ponieważ we wszystkich zbadanych przypadkach zmiany b_i są większe, niż dla polaryzowalności średniej, nie można powiedzieć, że egzaltacje skierowane są wzdłuż wiązań C – X. Ma tutaj miejsce przebudowa całej elipsoidy polaryzowalności cząsteczek.

Wpływ sprzężenia został zbadany w układach aromatycznych, mających grupy elektronodonorowe i akceptorowe (*para*-podstawione nitrobenzenu, N,N-dimetyloaniliny [25], N-metylo-N-fenylonitraminy [26–28], pirydiny oraz N-tlenku pirydiny [29, 30], pochodne 1,4-naftochinonu [31]). Wykazano, że w cząsteczkach z prostą polarną koniugacją przebudowa elipsoid polaryzowalności ma charakter ściśle określony.

Związki, w których przeniesienie ładunku (ang. *charge transfer*) (CT) odbywa się pomiędzy donorowym (D) i akceptorowym (A) fragmentami tej samej cząsteczki, rozdzielonych izolującymi mostkami typu $-(\text{CH}_2)_n-$ nazwane były *autokompleksami* [32]. Wyniki badań momentów dipolowych i molowych stałych Kerra autokompleksów pochodnych 1,4-naftochinonu przedstawione zostały w pracy [33]. Analiza teoretycznych i doświadczalnych danych wskazała na to, że cząsteczki związków tego typu istnieją w postaci układów z przeniesieniem CT typu $n-\pi^*$.

Wykryte zostały liczne przypadki wywoływania *wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań* typu CT w układach formalnie niesprzężonych. Istotne zmiany parametrów polaryzowalności wiązań i grup obserwuje się dla cząsteczek zawierających w geminalnym położeniu dwa różne heteroatomowe podstawniki, np. dla α -chloroeterów. Zjawisko to otrzymało nazwę *α -efektu* lub *geminalnego oddziaływania*.

α -Efekt (n - σ^* -oddziaływania wolnej pary elektronowej atomu azotu z orbitalem antywiążącym wiązania C–Cl) [33–36] został zbadany w szeregu α -podstawionych amin, amidów oraz ich analogów [13]. Ustalono, że aminy z polarnymi α -podstawnikami posiadają z reguły konformację *trans* w stosunku do wolnej pary elektronowej atomu azotu, która pozwala na realizację oddziaływania n - σ^* .

Systematyczne badanie polarności i polaryzowalności wiązań z udziałem atomu P(III) i P(V) w związkach fosforoorganicznych wykazało decydujący wpływ na budowę przestrzenną tych związków różnego rodzaju specyficznych oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych (tj. innych niż efekty indukcyjny i mezomeryczny), w tym dużą rolę **efektu hiperkoniugacji** (oddziaływanie n - σ^*). Efekt ten ma miejsce we wszystkich związkach fosforoorganicznych, zawierających obok atomu P heteroatom z wolną parą elektronową, który występuje jako elektronodonor [13].

Na podstawie badań momentów dipolowych i molowych stałych Kerra [20, 60] wykazano, że *N*-metylo-*N*-nitroanilina i jej pochodne są związkami wysokopolarnymi. Kąt obrotu płaszczyzny, w której leżą atomy grupy N(CH₃)NO₂ zależy od natury i miejsca podstawników (R) przy pierścieniu aromatycznym. Okazało się, że elektrony atomu azotu grupy amidowej zajmujące orbital typu n biorą udział w koniugacji z π -elektronami NNO₂ grupy, a nie z π -elektronami pierścienia aromatycznego. NNO₂ tworzy charakterystyczną grupę funkcyjną, która zachowuje swoje właściwości w różnych układach molekularnych [37].

Elektryczne właściwości cząsteczek odgrywają ważną rolę w stabilizacji **wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych** (WWW) [38]. Istnienie równowagi między konformerami z WWW i bez dla tlenku difenylu-(2-hydroksy-penten-3-ylo)-fosfinu, ustalono na podstawie porównania doświadczalnych i obliczonych wielkości momentów dipolowych i molowych stałych Kerra [39].

Analiza doświadczalnych wartości objętości molowych pokazała, że chelatowanie w trakcie oddziaływania wewnątrzcząsteczkowego zawsze prowadzi do ich zmniejszenia w porównaniu z wartościami obliczonymi za pomocą schematu addytywnego. Świadczy to o entropowej stabilizacji związków chelatowych w roztworach kosztem uwolnienia cząsteczek rozpuszczalnika z powłoki solwatacyjnej cząsteczek [40].

2.4. ODDZIAŁYWANIA MIĘDZYCZĄSTECZKOWE

Elektrooptyczny efekt Kerra szczególnie zaznacza się w **oddziaływaniach międzycząsteczkowych**. Podstawą do wnioskowania o charakterze i intensywności oddziaływań są w pierwszej kolejności odchylenia wartości efektywnych parametrów molekularnych (PM_{ef}) od wartości zmierzonych w fazie gazowej (PM_{gaz}): $\Delta PM = PM_{ef} - PM_{gaz}$, zaś dla roztworów – nieliniowe zależności PM_{ef} od stężenia roztworu. W niektórych przypadkach wielkości ΔPM mogą osiągać duże wartości. Dla stałych Kerra aniliny i alkoholu benzyloвого obserwowano nawet zmianę znaku ΔPM w zależności od stężenia [6, 41]. Opracowanie ogólnej teorii właściwości optycznych

układów oddziałujących cząsteczek dokonał w swoich pracach Kielich [42–44]. Dla jednoskładnikowych cieczy wprowadził on funkcję korelacji orientacji cząsteczek L . Na przykład, zgodnie z przedstawianymi w pracy [42]

$$\langle \gamma^2 \rangle = \gamma^2 (1 + 3L / 2).$$

Do ilościowej oceny wpływu rozpuszczalnika na stałą Kerra wykorzystuje się zarówno zależności na podstawie ciągłego jak i dyskretnego modelu budowy roztworu [45, 46]. Istotną rolę w określeniu stałej Kerra odgrywa wzajemna orientacja cząsteczek rozpuszczalnika i substancji rozpuszczonej pod wpływem dyspersyjnego oraz indukcyjnego oddziaływania dipol-dipol [47].

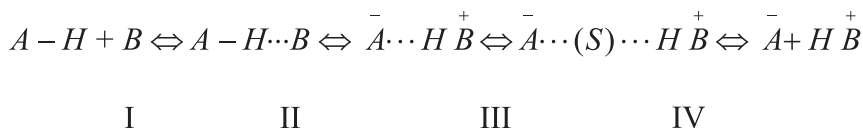
Specyficznym przypadkiem układu binarnego jest roztwór, w którym rozpuszczalnik jest niepolarny. Jeżeli wielkości γ_2^2 i mK_2 określone są zwykłymi metodami ekstrapolacji, ich zależność od rozpuszczalnika, której nie uwzględnia się teorią pola wewnętrznego, wskazuje na specyficzną solwatację. Efekty takie zostały zaobserwowane dla rozpuszczalników zdolnych do utworzenia **wiązania wodorowego** [48]. Najbardziej charakterystyczne zmiany obserwowane są podczas asocjacji polarnych cząsteczek substancji rozpuszczonej i anizotropowych cząsteczek benzenu [49–51] oraz heksafluorobenzenu [49] jako rozpuszczalników.

Wyniki obliczeń [52] wykazały, że średnia wielkość polaryzowalności praktycznie nie zależy od formy wiązania wodorowego, natomiast obserwowano wzrost pierwszej i drugiej hiperpolaryzowalności dzięki przeniesieniu protonu w badanych kompleksach. Wyniki te świadczą o tym, że do badań kompleksów z wiązaniem wodorowym musi być używana anizotropia polaryzowalności i hiperpolaryzowalność.

Znaczny wzrost obserwowany jest dla hiperpolaryzowalności kompleksów z wiązaniem wodorowym między nitropochodnymi fenolu a trimetyloaminą [53] oraz między nitropochodnymi fenolu a pirydyną lub 4-aminopirydyną [54].

W pracy [55] elektrooptyczny parametr $\partial\mu / \partial q$ (pochodna momentu dipolowego m odnośnie długości wiązania N-H) zastosowano do badań wiązania wodorowego. Wykazano, że parametr ten w kompleksach z międzycząsteczkowym wiązaniem wodorowym, rośnie ze wzrostem siły wiązania wodorowego.

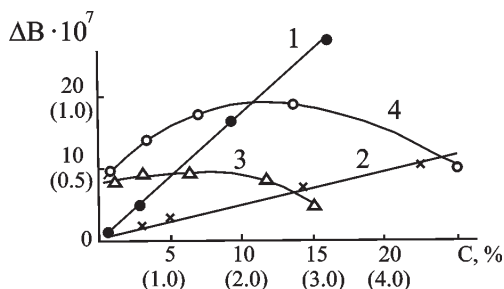
Utworzenie wiązań wodorowych i **kompleksów donorowo-akceptorowych** istotnie wpływa na stałą Kerra [24, 56]. Ogólny schemat oddziaływania pomiędzy kwasem ($A - H$) i zasadą (B) można przedstawić w sposób następujący:



gdzie: etap I – opisuje nieoddziałujące składniki; etap II – przedstawia powstawanie międzycząsteczkowego wiązania wodorowego (MWW); etap III – pokazuje kompleks z przeniesieniem protonu w postaci pary jonowej; etap IV – opisuje solwatoroz-

dzielona para jonowa; etap V – przedstawia zdysocjowaną parę jonową tworzącą rozdzielone jony.

Każdy z tych etapów oddziaływania może być zbadany za pomocą elektrooptycznego efektu Kerr. Liniowy przyrost stałej Kerr B (ΔB) ze zwiększeniem stężenia C charakteryzuje uniwersalne oddziaływanie cząsteczek w roztworze (Rys. 6, proste 1 i 2). Dla związków tworzących MWW (fenol, krezole, p -nitrofenol, p -chlorofenol, chloroform, anilina, toluidyny i in.) obserwuje się odchylenie od liniowej zależności $\Delta B - C$ (Rys. 6, krzywe 3 i 4).



Rysunek 6. Zależność różnicy pomiędzy eksperymentalnie zmierzoną w benzenie i teoretyczną wielkością stałą Kerr (ΔB) od stężenia ($C\%$) dla: 1 – p -nitrobenzenu; 2 – p -chlorotoluenu; 3 – p -krezolu; i 4 – p -chlorofenolu

Figure 6. Dependence of difference between the theoretical value of Kerr constant and that measured in benzene (ΔB) on concentration ($C\%$) for: 1 – p -nitrobenzene; 2 – p -chlorotoluene; 3 – p -cresol; i 4 – p -chlorophenol

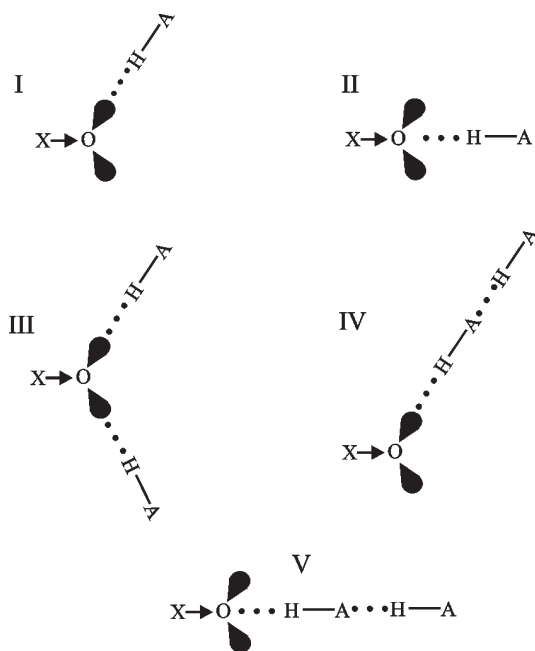
Problem analizy stałych Kerr w układach oddziałujących został rozwiązany najpierw za pomocą metody miareczkowania. Jednak metoda ta może doprowadzić do nieprawidłowych wyników z powodu asocjacji składników, utworzenia kompleksów o bardziej złożonym składzie.

Braków tych nie wykazuje *metoda równomolowych mieszanin* (MRM) [57]. Metoda ta pozwala jednocześnie określić molową stałą Kerr (mK), moment dipolowy (μ), stałą trwałości (K) oraz budowę molekularnego kompleksu uzyskaną z pomiaru stałej Kerr (B), przenikalności dielektrycznej (ϵ), gęstości (d) i współczynnika załamania światła (n) jego rozcieńczonych roztworów.

Ważną charakterystyką kompleksu jest przyrost molowej stałej Kerr mK_{exp} w porównaniu z mK_s – sumą stałych Kerr składników z uwzględnieniem budowy kompleksów (strukturalna molowa stała Kerr [46]): $\Delta mK_s = mK_{exp} - mK_s$. W licznych przypadkach ΔmK_s ilościowo opisuje oddziaływanie pomiędzy komponentami kompleksu, co potwierdza istnienie np. korelacji między ΔmK_s i stałymi zasadowości amin w ich kompleksach z fenolami [46].

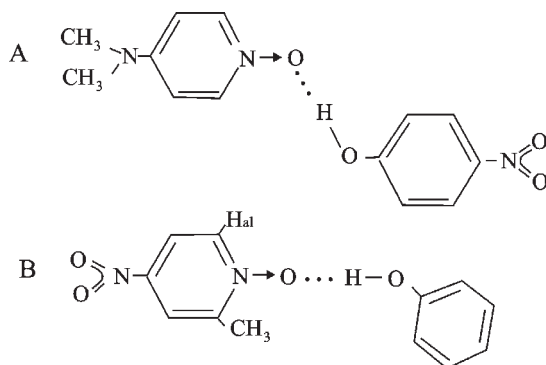
Stosując MRM zbadano szereg kompleksów o ogólnym wzorze $R_1R_2R_3P=O \cdots HOPh$ [58]. Zasady zawierające atom tlenu wykazują zdolność do tworzenia kompleksów z MWW o różnym składzie [59, 60].

Skład kompleksu zależy nie tylko od stężenia składników (AH i B), ale również od elektronowej i przestrzennej budowy cząsteczek donora (AH) i akceptora ($B = X \rightarrow O$) protonów. W większości przypadków, w szczególności, kiedy nadmiar donora protonów AH nie jest wielki, a kwasy karboksylowe nie są używane jako donory protonów, można założyć, że $n = 1$ lub 2 w kompleksach $(AH)_nB$. Dla kompleksów z $n = 1$ większość możliwości opisuje się za pomocą konfiguracji, gdzie protonodonorowa grupa ułożona jest współosiowo z wolną parą elektronową (struktura I), chociaż nie wykluczono istnienia mostków wodorowych ze strukturą II. Podczas rozpatrywania kompleksów typu $(AH)_2B$ nie wykluczono, wg danych literaturowych [61], tworzenie kompleksów typu III–V (Rys. 7).



Rysunek 7. Schemat powstawania kompleksów z wiązaniem wodorowym typu $X \rightarrow O \cdots H-A$ o różnym składzie
Figure 7. Scheme of formation of complexes with hydrogen bond of $X \rightarrow O \cdots H-A$ type having different composition

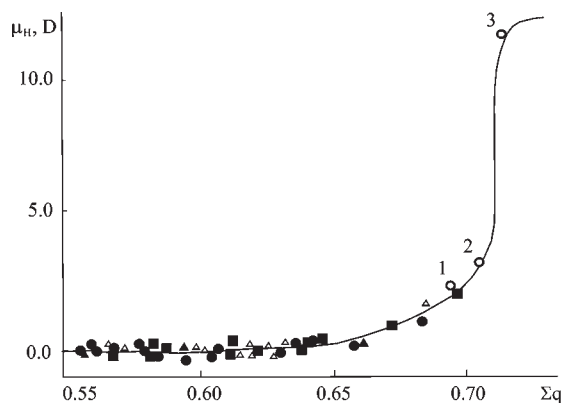
Przeniesienie protonu (PT) oraz gęstości elektronowej od donora elektronów do akceptora stabilizuje MWW. Moment dipolowy wiązania wodorowego (μ_H) oraz zmiana molowej stałej Kerra podczas tworzenia MWW ($\Delta m K_s$) są bezpośrednio związane ze zmianą w ponownym podziale gęstości elektronowej układu. Pokazano, że dla tego samego donora protonów decydującą rolę w tych zmianach odgrywa wielkość q_O ładunku na atomie tlenu grupy $N \rightarrow O$ akceptora protonów – N-tlenku pirydyny [62]. W szeregu różnych donorów i akceptorów tworzących MWW typu $O \cdots H-O$ (Rys. 8) również ładunek na atomie H odgrywa ważną rolę w procesie powstawania MWW.



Rysunek 8. Budowa kompleksów pochodnych N-tlenku pirydyny z fenolami: (A) kąt $N \rightarrow O \cdots H$ stanowi ok. 120° ; (B) kąt $N \rightarrow O \cdots H$ stanowi ok. 180°

Figure 8. Structure of complexes of pyridine *N*-oxide derivatives with phenols: (A) angle $N \rightarrow O \cdots H$ amounts to about 120° ; (B) angle $N \rightarrow O \cdots H$ amounts to about 180°

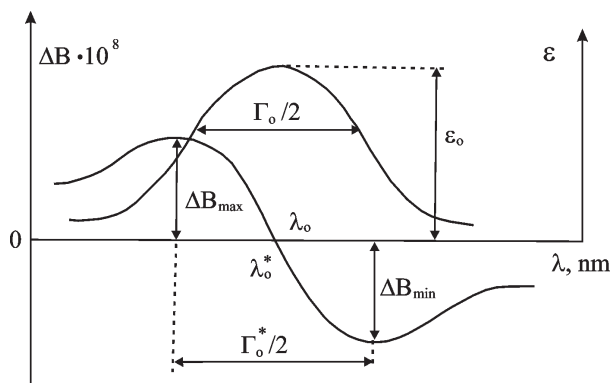
Zaproponowano parametr $\sum q = |q_O| + |q_H|$, który charakteryzuje właściwości układu donorowo-akceptorowego podczas tworzenia MWW [76]. Im większa jest $\sum q$, tym mocniejsze jest oddziaływanie. Dla badanych układów wartości wielkości $\sum q$ z przedziału 0,55–0,60 wskazują na bardzo słabe oddziaływanie, zaś dla wartości z przedziału 0,60–0,65 tworzą się MWW. Struktura z PT była realizowana przy $\sum q > 0,65$ i dominuje dla $\sum q > 0,70$ kiedy to występuje anomalnie wysoka wartość wielkość μ_H (Rys. 9).



Rysunek 9. Zależność momentu dipolowego wiązania wodorowego (μ_H , D) w kompleksach *N*-tlenku pirydyny z *p*-krezolem (•), fenolem (+) i *p*-nitrofenolem (■) od $\sum q$, gdzie $\sum q = |q_O| + |q_H|$. Punkty 1, 2 i 3 dotyczą kompleksów *N*-tlenku 2,6-dimetylopyridyny z kwasami mono-, di- i trichloroocetowym, odpowiednio

Figure 9. Dependence of the dipole moment of hydrogen bond (μ_H , D) in complexes of pyridine *N*-oxide with *p*-cresol (•), phenol (+) and *p*-nitrophenol (■) on $\sum q$, where $\sum q = |q_O| + |q_H|$. Points 1, 2, and 3 relate to the complexes of 2,6-dimethylpyridine *N*-oxide with mono-, di- and trichloroacetic acids respectively

Ponieważ **kompleksy z przeniesieniem ładunku** (CT) odróżniają się od innych układów z donorowo-akceptorowym oddziaływaniem obecnością dostatecznie intensywnego pasma CT w widmie elektronowym, łatwo są one wykrywane na podstawie zależności $\Delta B = f(l)$. W obszarze pasma CT zależność ta ma charakter anomalny (zjawisko **dypersji efektu Kerra**). Charakter anomalii (dodatni lub ujemny) pozwala sądzić o kierunku CT, a więc o strukturze kompleksu. Tak dla wszystkich kompleksów z chloranilem w obszarze pasma CT obserwuje się ujemne widmo Kerra (Rys. 10), co wskazuje na kierunek momentu przejścia prostopadłego do osi największej polaryzowalności kompleksu [46].



Rysunek 10. Zależność zmiany stałej Kerra B (ΔB) od długości fali stosowanego promieniowania (λ) w obszarze pasma CT kompleksu naftalenu z chloranilem

Figure 10. Dependence of change of Kerr constant B (ΔB) on the wave length of the radiation applied (λ) in the area of CT band of the complex of naphthalene with chloranil

Duża czułość mK w określeniu oddziaływań międzycząsteczkowych pozwala z sukcesem wykorzystać je w **analizie fizykochemicznej** układów wieloskładnikowych. W zgodzie ze statystyczną teorią elektrooptycznego efektu Kerra, opracowanej przez Kielicha metody [63] dla wieloskładnikowych układów, molową stałą Kerra mK można przedstawić za pomocą równania:

$$mK = \sum_i x_i mK_i + \sum_{ij} x_i x_j mK_{ij} + \sum_{ijk} x_i x_j x_k mK_{ijk} + \dots \quad (2.10)$$

gdzie: $x_i, x_j, x_k \dots$ – ułamki molowe poszczególnych składników w układzie.

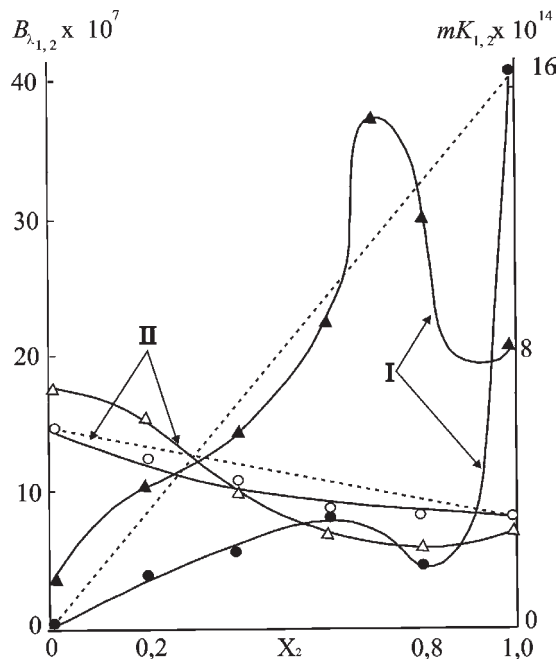
W układzie idealnym, w którym cząsteczki statystycznie są niezależne i mogą być orientowane na wszystkie możliwe sposoby, stałe Kerra mK_{ij}, mK_{ijk} znikają a równanie (2.10) przyjmuje postać

$$mK = \sum_i x_i mK_i \quad (2.11)$$

Równanie (2.11) opisuje zasadę addytywności molowej stałej Kerra w idealnych układach. W gazach rzeczywistych, roztworach, gdzie istnieją określone molekularne

korelacje stałe mK_{ij} , mK_{ijk} nie są równe zero lecz stanowią miarę odchylenia od zasady addytywności. Ponieważ stałe Kerr'a mK_i zależą wyłącznie od właściwości izolowanych atomów lub cząsteczek, zaś stałe mK_{ij} , mK_{ijk} dodatkowo od dwu- i wielocząsteczkowych funkcji korelacyjnych $g_{ij}^{(2)}$, $g_{ijk}^{(3)}$, itd., badając przyczyny odchylenia od równania (2.11) można otrzymać informację o molekularnej strukturze układu oraz o oddziaływaniach między molekułami różnych jego składników.

Na podstawie analizy pełnych izoterm stałych Kerr'a układów dwuskładnikowych opisano możliwe typy eksperymentalnych zależności $mK_{12} = f(x_2)$ [64]. Kształt krzywych $B_\lambda(x_2)$ i $mK(x_2)$ na diagramach charakteryzuje oddziaływanie międzycząsteczkowe w badanym układzie. Obecność maksimum lub minimum na krzywej (Rys. 11) świadczy o tworzeniu kompleksów. W przypadku układów dwuskładnikowych, utworzonych np. z dipolowymi cieczami (α -pikolina i β -pikolina) w niepolarnych rozpuszczalnikach (benzen, *p*-ksylen, dioksan) nie obserwowano na krzywych $mK = f(x_2)$ maksimum czy minimum [65], to znaczy, że oddziaływanie między cząsteczkami w tych układach ma charakter uniwersalny.



Rysunek 11. Zależność B_{12} i mK_{12} od ułamku molowego drugiego składnika w układach dwuskładnikowych: I – woda–pirydyna; II – aceton–kwas octowy. Δ i \circ zaznaczono eksperymentalne wielkości B_{12} i mK_{12} , odpowiednio

Figure 11. Dependence of B_{12} and mK_{12} on molar fraction of the second component in two-component systems: I – water–pyridine; II – acetone–acetic acid. The values B_{12} and mK_{12} , are marked with Δ and \circ respectively for the needs of the experiment

Bardzo ciekawe jest pytanie o wpływ zmiany rozkładu gęstości elektronowej na polaryzowalność cząsteczek w układzie donor–akceptor elektronów, podczas tworzenia kompleksów. Danych zarówno doświadczalnych, jak i teoretycznych na ten temat otrzymano bardzo mało. Dotyczą one głównie wpływu solwatacji [66] lub wiązania wodorowego [67] na refrakcję molową (MR). Wykazano, że MWW powiększa MR. Porównanie eksperymentalnych i obliczonych na podstawie schematu addytywnego wielkości MR pozwoliło wydzielić przyrosty MR dla wiązań różnego typu, które nie przekraczały $0,5 \text{ cm}^3$, oprócz wiązania typu $\text{N-H}\cdots\text{N}$ ($0,96 \text{ cm}^3$) [68]. We wszystkich innych przypadkach polaryzowalności składników kompleksów uważane są za stałe [3]. Dla kompleksów z przeniesieniem ładunku (CT) obserwowany wzrost polaryzowalności można wyjaśnić uwzględniając polaryzowalności cząsteczek donora i akceptora w stanach podstawowym i zjonizowanym [69].

Podczas tworzenia kompleksów CT następuje znaczny wzrost hiperpolaryzowalności, czego nie można wyjaśnić na podstawie teorii zaburzeń [70]. Badając to zjawisko można otrzymać ważną informację o wzajemnym związku oddziaływań międzycząsteczkowych i elektrycznych właściwościach cząsteczek [71].

2.5. NOWE MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA EFEKTÓW ELEKTROOPTYCZNYCH W CHEMII

2.5.1. Nowe efekty elektrooptyczne

– *Elektrooptyczne efekty w kryształach bez inwersji symetrii* [72]

Podczas badania materiałów bez inwersji symetrii jednocześnie mogą być obserwowane efekty Pockelsa i Kerra, z dominacją dokładnie znanego efektu Kerra. Teoretyczne podstawy odkrycia dostarcza fizyka kryształów, pokazując, że możliwe jest w zasadzie obejście udziału liniowych efektów i otrzymanie bezpośredniej informacji o prawidłowym (podobnym do efektu Kerra) efekcie kwadratowym w 90% nie mających centrum symetrii grupach punktowych.

– *Elektrostatyczny efekt Kerra na potencjostatycznie kontrolowanej granicy podziału faz* [73]

Dokonano próby eksperymentalnych pomiarów elektrostatycznego efektu Kerra niemieszanych roztworów czterofenyloboranu tetrabutylamonowego w wodzie i nitrobenzenie na granicy podziału faz nitrobenzen/woda. Zanotowano zmianę pojemności elektrycznej układu dwufazowego podczas zmiany różnicy potencjałów na granicy podziału faz. Wyników badań prezentowanych w pracy [73] nie da się traktować jednoznacznie.

2.5.2. Dynamiczny efekt Kerra w badaniach ciekłych kryształów, biomolekul oraz dendrymerów

W cienkich warstwach w kilku temperaturach zbadano dynamiczny efekt Kerra wywołany orientacją cząsteczek niektórych cyjanobifenylowych ciekłych kryształów i innych nematogenów w fazie nematycznej oraz w fazie wygaszania [74, 75]. Z badań wynika, że zmiana czasu wygaszania relaksacji ze zmianą temperatury jest niewielka i obliczone wielkości energii aktywacji zespolowej orientacji wszystkich zbadanych próbek są również małe. Na podstawie badań otrzymano wielkości statystycznych stałych Kerra.

Właściwości elektrooptyczne ciekłokrystalicznych fulerenów zawierających dendrymery zbadano w roztworach i przedstawiono w pracy [76]. Obserwowano tam wpływ wiązań kowalencyjnych fulerenu C_{60} na: polarność, elektrooptyczne i hydrodynamiczne właściwości oraz na zmianę molekularnej formy asymetrii związków dendrycznych zawierających fuleren.

Na podstawie wyników badań liniowych i nieliniowych optycznych właściwości wodnych roztworów L-glutationu oraz albuminy obliczone zostały: stałe Kerra, nieliniowe polaryzowalności, anizotropie polaryzowalności, współczynnik rozpraszania oraz funkcje orientacji [77].

Podatność nieliniowa trzeciego rzędu $\chi^{(3)}(-\omega, \omega, 0, 0)$ w fazie izotropowej dwóch nematycznych ciekłych kryształów *p*-(etoksy-benzyliden)-*p*-butyloaniliny oraz *p*-(metoksybenzyliden)-*p*-butyloaniliny była obliczona z pomiarów elektrooptycznego efektu Kerra. Największe wielkości otrzymano w temperaturze przejścia nematyczno-izotropowego [78].

2.5.3. Elektrooptyczny efekt w układach polidispersyjnych

Chociaż badania elektrooptyczne układów dyspersyjnych rozpoczęto w latach 50. XX stulecia, to dopiero w latach 80. pojawienie się teorii układów polidispersyjnych pozwoliło na osiągnięcie dobrej zgodności teorii z eksperymentem [79].

Wyjaśniono, że efekt optyczny, obserwowany w komórce Kerra po wypełnieniu jej roztworem koloidalnym, spowodowany jest głównie dichroizmem, a dwójłomność elektryczna jest tylko słabym efektem ubocznym. Wniosek ten określił dalsze badania, które pozwoliły ustalić posiadanie przez cząstki koloidalne stałego momentu dipolowego.

Obecnie najważniejszymi są badania elektrooptyczne związane z orientacją cząstek w zmiennych jednorodnych polach oraz z relaksacją orientacji. Badania te pozwalają określić anizotropię polaryzowalności cząstek fazy dyspersyjnej w polidispersyjnych koloidach oraz mechanizm orientacji cząstek pod wpływem pola elektrycznego.

Badania efektu Kerra roztworów frakcji dwupodstawionych poliacyetylenów, poli(1-trójmetylosilil-1-propynu) i poli(1-trójmetylo-germyl-1-propynu) wykazały,

że istnieje korelacja pomiędzy stałą Kerra i regularną strukturą makromolekuł tej klasy polimerów otrzymanych z udziałem różnych katalizatorów [80].

Elektrooptyczny efekt i polaryzację dielektryczną roztworów poli-*N*-winylopirolidonu w chloroformie oraz mieszanym rozpuszczalniku chloroform-CCl₄, zbadano w porównaniu z analogicznymi właściwościami dla monomerycznych jednostek poli-*N*-winylopirolidonu, czyli *N*-metylopirolidonu [81].

Badania wpływu stałego zewnętrznego pola o wysokim napięciu (do 30 kV/cm) na polaryzowalność i polaryzację cząsteczek w roztworach niewodnych doprowadziły do obserwacji nowego zjawiska – wpływu pola na natężenie absorpcyjnych widm elektronowych [82].

UWAGI KOŃCOWE

Możliwości wykorzystania elektrooptycznych metod w chemii są bardzo różnorodne. W pełni opracowane są teoretyczne i praktyczne metody badania przestrzennej budowy cząsteczek, opracowana jest także teoria oddziaływań międzycząsteczkowych. Natomiast w dziedzinie badania efektów wewnątrzcząsteczkowych opracowana jest tylko teoria pola wewnętrznego oraz niektóre obserwacje empiryczne dotyczące anizotropii polaryzowalności, indukcji i koniugacji.

Bez wątpliwości ważną dla chemii byłaby teoria wiążąca elektryczne właściwości cząsteczek z ich zdolnością reakcyjną. Taka teoria powinna uwzględniać zmiany polaryzowalności oraz momentów dipolowych wiązań, molekuł i układu oddziałujących cząsteczek, zachodzące podczas reakcji. Obecnie tylko jakościowe wyobrażenie o tym, że polaryzowalność jest ważniejszym czynnikiem, decydującym o zdolności reakcyjnej, jest *podstawą współczesnej teorii elektronowej*.

Niewątpliwie niezbędne jest kontynuowanie obliczeń elipsoidy polaryzowalności cząsteczek i wiązań oraz badanie prawidłowości ich zmiany na podstawie danych eksperymentalnych. Dla pełnego zrozumienia mechanizmów reakcji chemicznych bardzo ważne są teoretyczne i eksperymentalne badania elektrycznych właściwości cząsteczek, jonów, wolnych rodników w stanach wzbudzonych.

Szerokie perspektywy zastosowania ma dynamiczny efekt Kerra, który pozwala na badania makromolekuł, układów polidispersyjnych, cząsteczek biologicznych w roztworach wodnych. Wykorzystanie komórek pomiarowych o różnych konstrukcjach pozwala na obserwację nowych zjawisk elektrooptycznych, które dostarczają nowych informacji o budowie badanych układów i oddziaływaniach międzycząsteczkowych w układach biologicznie ważnych.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W. Preżdo, *Zastosowanie Efektów Elektrooptycznych w Chemii i Technice*, WSP, Kielce, 1999, 78.
- [2] V.V. Prezhdo, M.V. Khashchina, S.A. Tyurin, *Efekty Elektrooptyczne w Technice*, Osnowa, Charków, 1989, 160 (Ros.).
- [3] A.N. Vereshchagin, *Polaryzowalność Cząsteczek*, Nauka, Moskwa, 1980, 177 (Ros.).
- [4] Z. Błaszczak, *Elektrooptyczny efekt Kerra* [w]: *Metody Elektrooptyczne i Magnetoptyczne*, Sobczyk L., Ed., PWN, Warszawa, 1983, 72.
- [5] J.C. Kolecki, *An Introduction to Tensors for Students of Physics and Engineering*, NASA, Glenn Research Center, 2002.
- [6] G. Briegleb, [w:] *Light scattering from dilute polymer solutions*, Eds. D. McIntyre, F. Gornick, New York; London, Gordon and Breach, 1964, 318.
- [7] S. Hahn, *Teoria modulacji i detekcji*, Wyd. Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 1990.
- [8] R.P. Smith, E.M. Mortensen, *J. Chem. Phys.*, 1961, **32**, 502.
- [9] R.J.W. Le Fevre, *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1965, **3**, 1.
- [10] C.G. Le Fevre, R.J.W. Le Fevre, *Rev. Pure and Appl. Chem.*, 1955, **5**, 261.
- [11] G.L.D. Ritchie, E.W. Blanch, *J. Phys. Chem. A*, 2003, **107**, 2093.
- [12] A.N. Wereszczagin, W.E. Kataew, A.A. Bredichin, A.P. Timoszewa, E.N. Kozakova, *Analiza konformacyjna węglowodorów i ich pochodnych*, Nauka, Moskwa, 1990, 296 (Ros.).
- [13] E.A. Ishmaeva, A.P. Timosheva, *Russian J. General Chem.*, 1998, **68**, 1763.
- [14] A.N. Wereszczagin, S.G. Wylfson, *Analiza konformacyjna związków element organicznych*, Nauka, Moskwa, 1983, 252 (Ros.).
- [15] Ya.A. Vereshchagina, E.A. Ishmaeva, A.A. Gazizowa, *Rus. J. Gen. Chem.*, 2008, **77**(1), 41.
- [16] E.A. Ishmaeva, E.A. Gazizowa, Ya.A. Vereshchagina, *Rus. J. Gen. Chem.*, 2008, **77**(5), 798.
- [17] Ya.A. Vereshchagina, A.A. Gazizowa, E.A. Ishmaeva, *Rus. J. Gen. Chem.*, 2009, **79**(6), 918.
- [18] Ya.A. Vereshchagina, E.A. Ishmaeva, A.A. Gazizowa, *Rus. J. Gen. Chem.*, 2007, **76**(3), 477.
- [19] N.V. Timosheva, A.P. Timosheva, R.P. Arshinova, J.P. Dumasta, *Rus. J. Gen. Chem.*, 1998, **68**(11), 1793.
- [20] K.M. Pietrusievich, V.E. Kataev, I.I. Patsanovskyi, L.V. Ermolaeva, E.A. Ishmaeva, A.V. Kataev, W. Wieczorek, K. Zygo, *Rus. J. Gen. Chem.*, 1998, **68**(9), 1510.
- [21] C.K. Ingold, *Structure and Mechanism in Organic Chemistry*, Cornell University Press, Ithace, 1969, 1266.
- [22] L.M. Stock, *J. Chem. Educ.*, 1972, **49**, 400.
- [23] C.J.P. Botcher, *Theory of Electric Polarization*, Vol. 2. Elsevier Sci. Publ. Company, Amsterdam, Oxford, New York, 1978, 560.
- [24] A.R. Czerkasow, W.I. Galkin, R.A. Czerkasow, *Usp. Khimii*, 1996, **65**, 695.
- [25] A. Caristan, P. Bothorel, H. Bodot, *J. Chim. Phys.*, 1969, **66**, 1009.
- [26] Z. Daszkiewicz, J.B. Kyzioł, W.W. Preżdo, J. Zaleski, *J. Mol. Str.*, 2000, **553**, 9.
- [27] V.V. Prezhdo, A.S. Bykova, T. Głowiak, O.V. Prezhdo, Z. Daszkiewicz, J.B. Kyzioł, *Polish J. Chem.*, 2001, **75**, 707.
- [28] V.V. Prezhdo, A.S. Bykova, O.V. Prezhdo, J.B. Kyzioł, Z. Daszkiewicz, *Russian J. General Chem.*, 2006, **76**, 64.
- [29] V.V. Prezhdo, E.V. Vaschenko, O.V. Prezhdo, A. Puszko, *J. Mol. Str.*, 1998, **471**, 127.
- [30] V.V. Prezhdo, E.V. Vaschenko, O.V. Prezhdo, A. Puszko, *J. Mol. Str.*, 1999, **510**, 69.
- [31] V.V. Prezhdo, E.V. Ovsiankina, O.V. Prezhdo, *J. Mol. Str.*, 2000, **522**, 71.
- [32] J.F. Freimanis, *Organic Compounds with Intramolecular Charge Transfer*, Zinatne, Riga, 1985, 374 (Ros.).

- [33] V.V. Prezhdo, E.V. Ovsyankina, O.V. Prezhdo, Polish I. Chem., 2001, **75**, 1521.
- [34] V.A. Palm, *Podstawy Ilościowej Teorii Reakcji Organicznych*, Chemia, Leningrad, 1977, 359 (Ros.).
- [35] M.J.S. Dewar, R.C. Dougherty, *The PMO Theory of Organic Chemistry*, Plenum Pub. Corp., New York, 1975, 576.
- [36] E.A.C. Lucken, J. Chem. Soc., 1959, 2954.
- [37] O.V. Prezhdo, A.S. Bykova, V.V. Prezhdo, A. Koll, Z. Daszkiewicz, J. Mol. Str., 2001, **559**, 321.
- [38] Z. Latajka, G. Galewski, A.J. Barnes, H. Ratajczak, J. Mol. Struct. 2007, **844–845**, 340.
- [39] O.V. Prezhdo, B. Gawdzik, V.V. Zubkova, V.V. Prezhdo, J. Mol. Struct., 2009, **919**, 146.
- [40] S.B. Bulgarevich, T.V. Burdastykh, E.S. Selezniowa, E.E. Akimova, Rus. J. Gen. Chem., 2007, **77** (7), 1155.
- [41] M.J. Aroney, R.J.W. Le Fevre, J. Chem. Soc., 1956, 2775.
- [42] S. Kielich, Chem. Phys. Lett., 1971, **10**, 516.
- [43] S. Kielich, J. Phys. (France), 1968, **29**, 619.
- [44] S. Kielich, J. Chem. Phys., 1967, **46**, 4090.
- [45] V.V. Prezhdo, I.P. Krainov, *Oddziaływania międzycząsteczkowe i elektryczne właściwości cząsteczek*, Osnova, Charków, 1994, 240 (Ros.).
- [46] V.V. Prezhdo, M.V. Khashchina, V.A. Zamkov, *Badania elektrooptyczne w fizyce i chemii*, Wyższa Szkoła, Charków, 1982, 182 (Ros.).
- [47] O.V. Prezhdo, L. Świtek, V.V. Zubkova, V.V. Prezhdo, Acta Phys. Polonica, 2005, **108**, 429.
- [48] R.J.W. Le Fevre, G.L.D. Ritche, P.J. Stiles, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1966, 326.
- [49] R.S. Armstrong, M.J. Aroney, R.K. Duffin, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1973, 1362.
- [50] R.J.W. Le Fevre, D.V. Radford, G.L.D. Ritche, P.J. Stiles, J. Chem. Soc. B, 1968, 148.
- [51] P.A. Hopkins, R.J.W. Le Fevre, G.L.D. Ritche, J. Chem. Soc. B, 1971, 574.
- [52] P. Dopieralski, J. Panek, K. Mierzwicki, Z. Latajka, H. Ratajczak, A. Barnes, J. Mol. Struct. Theochem, 2009, **916**, 72.
- [53] Z. Latajka, G. Gajewski, A.J. Barnes, D. Xue, H. Ratajczak, J. Mol. Struct., 2009, **928**, 121.
- [54] Z. Latajka, G. Gajewski, A.J. Barnes, H. Ratajczak, J. Mol. Struct., 2007, **844–845**, 340.
- [55] E. Borisenko, A.V. Morev, A. Koll, J. Mol. Struct. Theochem., 1998, **444** (1–3), 183.
- [56] E.N. Gurjanova, I.P. Goldshtein, I.P. Romm, *Wiązanie Donorowo-Akceptorowe*, Khimiya, Moskwa, 1993, 398.
- [57] V.V. Prezhdo, E.V. Vaschenko, O.V. Prezhdo, Russian J. General Chem., 2000, **70**, 128.
- [58] V.V. Prezhdo, O.V. Prezhdo, E.V. Vaschenko, J. Mol. Str., 1996, **385**, 137.
- [59] R. Wolny, A. Koll, L. Sobczyk, J. Phys. Chem., 1985, **89**, 2053.
- [60] R. Wolny, A. Koll, L. Sobczyk, Bull. Soc. Chim. Belg., 1984, **93**, 88.
- [61] S. Detoni, D. Hadzi, R.S. Merkolij, J. Hawranek, L. Sobczyk, J. Chem. Soc., 1970, 2851.
- [62] V.V. Prezhdo, E.V. Vaschenko, O.V. Prezhdo, A. Puszko, J. Mol. Str., 1999, **510**, 69.
- [63] S. Kielich, Mol. Phys., 1963, **6**, 49.
- [64] O.V. Prezhdo, S.A. Tyurin, M. Pisarczyk, A. Odziemek, V.V. Prezhdo, Acta Phys. Polonica, 2002, **101**, 477.
- [65] Z. Woźniak, M.S. Kaczmarek, J. Mol. Liq., 2007, **130**, 108.
- [66] S.S. Batsanov, *Refraktometria Strukturalna*, Wyższa Szkoła, Moskwa, 1976, 304 (Ros.).
- [67] G. Zundel, *Hydrogen Bonds with Large Proton Polarizability and Proton Transfer Processes in Electrochemistry and Biology*, [w:] *Advances in Chemical Physics*, V. 111, Eds. I. Prigogine and S.A. Rice, J. Wiley & Sons, New York, 2000, 217.
- [68] G.C. Pimental, A.L. McClellan, *The Hydrogen Bond*, Reinhold Pab. Comp., New York, San Francisco, 1960, 475.
- [69] *Molecular electronics: properties, dynamic, and applications*, Eds. G. Mahler, V. May, M. Schreiber, Marcel Dekker, New York, 1996, 396.

- [70] B.F. Levine, C.G. Bethea, J. Chem. Phys., 1976, **65**, 2429; 1977, **66**, 1070.
- [71] V.V. Prezhdo, G.V. Tarasowa, O.V. Prezhdo, S.A. Tyurin, O.N. Akulova, T.N. Kurskaya, Acta Phys. Polonica, 1994, **85**, 327, 797; 1996, **89**, 47.
- [72] M. Melnichuk, L.T. Wood, Phys. Rev. A, 2010, **82**, 01382.
- [73] S. Nakabayashi, K. Matumoto, K. Uosaki, J. Electroanalytical Chem., 1995, **396**, 397.
- [74] S.-W. Choi, S.-I. Yamamoto, Y. Haseba, H. Kikuchi, Optical Materials, 2009, **32**, 190.
- [75] A. Ghanadzadeh, M.S. Beevers. J. Mol. Liq., 2001, **92**, 217; 2003, **107**, 77.
- [76] N. Yevlampieva, B. Dardel, P. Lavrenko, R. Deschenaux, Chem. Phys. Lett., 2003, **382** (1–2) 32.
- [77] D. Scanu, N.P. Yevlampieva, R. Deschenaux, Macromolecules, 2007, **40**(4), 1133.
- [78] J. Philip, T.A.P. Rao, Optical and Quantum Electronic, 1992, **24**, 825.
- [79] V.V. Voitylov, A.A. Trusov, *Elektrooptyka i konduktometria układów polidispersyjnych*, Wyd. Leningrad, Uniwersytetu, Leningrad, 1989.
- [80] N.P. Evlampieva, G.M. Pavlov, I.I. Zaitseva, M.V. Chirkova, E.G. Litvinova, V.S. Khotimskii, E.I. Ryumtsev, Russian J. General Chem., 2003, **73**(3) 344.
- [81] N.P. Evlampieva, T.A. Dmitrieva, E.I. Ryumtsev, Russian J. Appl. Chem., 2003, **76**(10), 1637.
- [82] O.V. Prezhdo, W. Boszczyk, V.V. Zubkova, V.V. Prezhdo, J. Phys. Chem. C, 2008, **112**, 13263.

Praca wpłynęła do Redakcji 18 października 2010

**EKSPERYMENTALNE I TEORETYCZNE
OZNACZANIE KONFIGURACJI ABSOLUTNEJ
ZWIĄZKÓW CHIRALNYCH METODAMI
CHIRALOOPTYCZNYMI**

**EXPERIMENTAL AND THEORETICAL
DETERMINATION OF THE ABSOLUTE
CONFIGURATION OF CHIRAL MOLECULES
BY CHIROPTICAL METHODS**

Marcin Kwit

*Zakład Stereochemii Organicznej,
Wydział Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza,
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
e-mail: Marcin.Kwit@amu.edu.pl*

Abstract

Wstęp

1. Struktura = konstytucja + konfiguracja + konformacja
2. Chiralność a czynność optyczna substancji
3. Metody chiralooptyczne – podstawowe narzędzie stereochemii
4. Zależność między strukturą a właściwościami chiralooptycznymi – podejście tradycyjne i współczesne
5. Typowa metodologia badań; 5.1. Efekt rozpuszczalnika; 5.2. Metody obliczeniowe stosowane w badaniach stereochemicznych
6. Przykłady zastosowań; 6.1. Bistramid C; 6.2. Kwas chryzantemowy; 6.3. *trans*-Izocytoksazon; 6.4. Chlorek *N*-[(*S*)-1-Metylopropyloksy]-2-naftoksypropylo]-4-cyjanopirydoniowy
7. Jednoczesne stosowanie wielu metod chiralooptycznych
8. Ograniczenia metody

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



dr Marcin Kwit ukończył studia chemiczne na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w 1998 roku. Pracę doktorską pt. „*Chiralne struktury z DACH-em. Synteza i analiza spektroskopowa*” obronił w 2003 roku (promotor: prof. dr hab. Jacek Gawroński). Staż podoktorski odbył w Holandii, w grupie prof. Bena L. Feringi. Od 2004 roku pracuje jako adiunkt w Zakładzie Stereochemii Organicznej Wydziału Chemii UAM. Za pracę naukową dr M. Kwit został wyróżniony m.in. Stypendium Miasta Poznania (2003), Stypendium Fundacji Nauki Polskiej (2004 i 2005), Nagrodą Prezesa Rady

Ministrów (2004) oraz wyróżnieniem do Nagrody im. W. Kemuli (2010). Jego zainteresowania badawcze koncentrują się wokół katalizy asymetrycznej kompleksami metali, stereochemii cząsteczek o dużej swobodzie konformacyjnej oraz spektroskopii dichroizmu kołowego.

ABSTRACT

Chirality is of paramount importance in chemistry and life sciences. Electronic circular dichroism (ECD) as well as optical rotation (OR) are fundamental properties of chiral molecules. These chiroptical properties provide rich information about conformation and configuration of the molecules. Although empirical correlations between chiroptical phenomena, mostly ECD, and molecular stereochemistry have existed for some time, the development of new accurate theoretical methods opened new opportunities for correlation of chiroptical properties with structure. Computational chemistry has made an amazing progress during the past two decades, moving this highly specialized discipline into the mainstream, and making a renaissance in chiroptical methods.

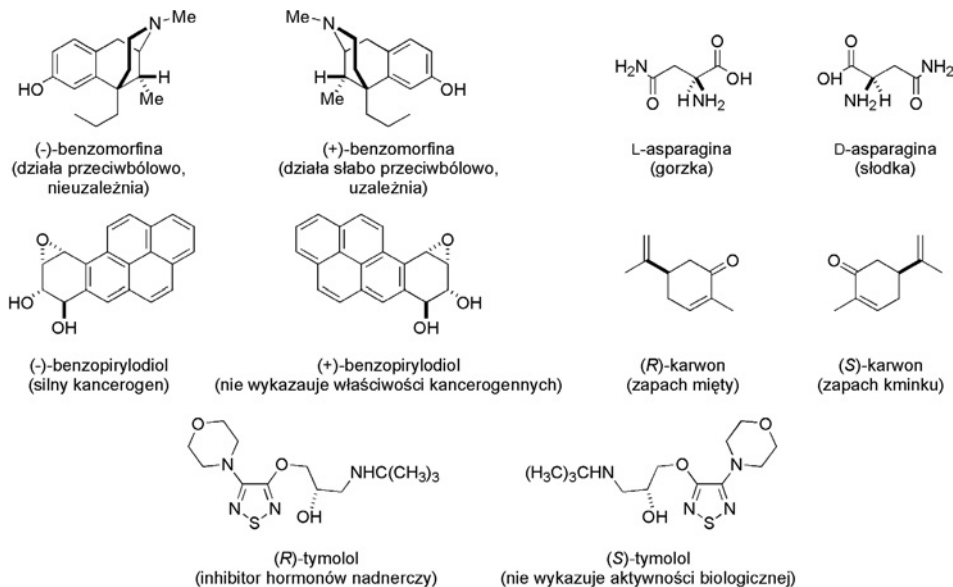
This short review is meant as an introduction to the modern approach to optical activity of chiral molecules. Some illustrative applications will put the emphasis on practical applications of the theoretical/experimental analysis of complex molecules including highly flexible bistramide C and noncovalently bonded donor-acceptor dyad. The importance of the solvent effect is briefly discussed and a typical methodology is described and its strengths and weak points are commented.

Keywords: structure, chirality, optical activity, circular dichroism, optical rotation

Słowa kluczowe: struktura, chiralność, aktywność optyczna, dichroizm kołowy, skręcalność optyczna

WSTĘP

Chiralność jest jednym z najbardziej fascynujących zjawisk w otaczającym nas świecie. Uścisk dłoni, wkręcanie śruby, odkręcanie i zakręcanie kurka – z reguły kompletnie niezauważane – są codziennymi przykładami oddziaływań układów chiralnych ze sobą. Chiralność mikroświata jest uznawana za jeden z czynników warunkujących istnienie życia na Ziemi a jednym z najważniejszych efektów chiralności jest zróżnicowana aktywność biologiczna enancjomerów (Rys. 1).



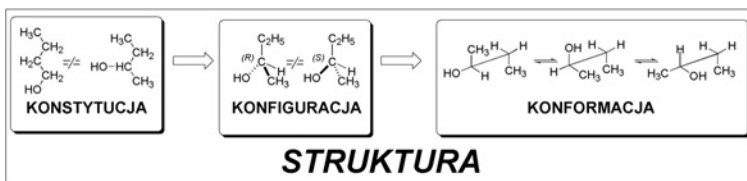
Rysunek 1. Przykłady enancjomerów o zróżnicowanych aktywnościach biologicznych
Figure 1. Examples of enantiomers of different biological activities

Makroskopowym, obserwowanym efektem chiralności mikroświata jest czynność (aktywność) optyczna, [1] objawiająca się, w zależności od metody badania, elektronowym (ECD) bądź wibracyjnym (VCD) dichroizmem kołowym, skręcalnością optyczną (OR) lub dyspersją skręcalności optycznej (ORD) danej substancji.

Od czasu odkryć zjawisk enancjomerii i czynności optycznej trwają próby korelacji obserwowanych zjawisk ze strukturą związku. Jednym z efektów tych prób było powstanie stereochemii, jako odrębnej dziedziny chemii. Stereochemiczne podejście do rozwiązywania problemów stało się użytecznym narzędziem badawczym zwłaszcza w przypadku syntezy asymetrycznej [2, 3]. Można postawić tezę, że stereochemia obecnie stanowi ogniwo łączące chemię organiczną i bioorganiczną, chemię fizyczną, teoretyczną i biologię molekularną [4–7].

1. STRUKTURA = KONSTYTUCJA + KONFIGURACJA + KONFORMACJA

Struktura związków chemicznych, zwłaszcza chiralnych, może być rozpatrywana na trzech poziomach – konstytucyjnym, konfiguracyjnym i konformacyjnym. Zależność pomiędzy nimi ilustruje Schemat 1.



Schemat 1. Relacja pomiędzy strukturą, konstytucją, konfiguracją a konformacją związku chemicznego
Scheme 1. A relationship between structure, constitution, configuration and conformation of chemical compound

Odkrycie izomerii konstytucyjnej było jednym z fundamentalnych osiągnięć dawnych chemików. Różnice w konstytucji izomerów dają się przedstawić za pomocą dwuwymiarowych wzorów, co jest z reguły wystarczające do wytłumaczenia większości właściwości chemicznych cząsteczki. Jeżeli jednak struktura rozumiana jest przede wszystkim, jako sposób rozmieszczenia atomów w przestrzeni trójwymiarowej (stereochemia), wówczas decydujące znaczenie w opisie mają parametry i symbole zależne od kierunku, czyli przód – tył, prawo – lewo, góra – dół. Spośród dwóch butanoli przedstawionych na Schemacie 1, tylko jeden może występować w postaci pary enancjomerów *R* i *S*. Jakościowym i zarazem najważniejszym parametrem opisującym strukturę związków chiralnych jest ich konfiguracja absolutna, definiująca względne przestrzenne rozmieszczenie atomów w cząsteczce. Wnikliwy czytelnik może być zaskoczony użyciem w jednej definicji dwóch wykluczających się pojęć – *konfiguracja absolutna* i *względne rozmieszczenie atomów*. Ta pozorna sprzeczność wynika z przyjętej umownej konwencji i zastosowania w stereochemii wzorca zewnętrznego, jakim jest prawa i lewa ręka [7].

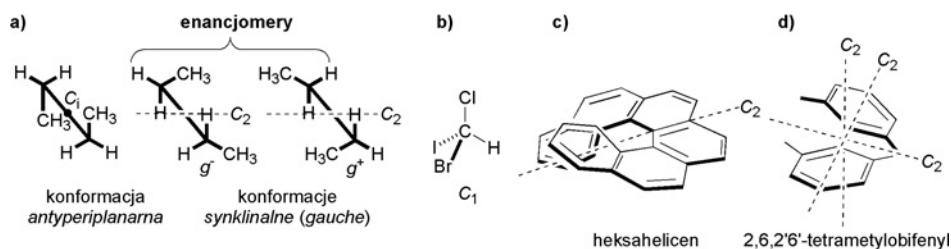
Odmienne konformacje cząsteczek o tej samej konstytucji i konfiguracji różnią się wielkością kątów torsyjnych przy wiązaniach pojedynczych. Oba terminy: konfiguracja i konformacja są komplementarne a ich ściśle rozróżnienie nie zawsze jest możliwe. Konfiguracja jest pojęciem szerszym i dotyczy nie tylko cząsteczek chiralnych, ale np. izomerów geometrycznych.

Pełen opis struktury chiralnej cząsteczki, determinującej jej właściwości, wymaga zatem nie tylko zdefiniowania konstytucji i konfiguracji absolutnej, ale przede wszystkim preferowanej, lub preferowanych, konformacji.

2. CHIRALNOŚĆ A CZYNNOŚĆ OPTYCZNA SUBSTANCJI

Czynność optyczna substancji może być związana z rozmieszczeniem atomów w kryształach i zanikać po stopieniu, lub też może być cechą permanentną związku, wynikającą z jego struktury, niezależną od stanu skupienia.

W tym miejscu należy sprecyzować różnicę pomiędzy chiralnością a czynnością optyczną. Ta ostatnia właściwość jest charakterystyczna dla zbioru cząsteczek chiralnych, gdzie populacja cząsteczek o przeciwnej chiralności nie może być taka sama. Chiralność natomiast charakteryzuje pojedynczą cząsteczkę i może, ale nie musi, być jej cechą permanentną. Może też być związana z określoną (chiralną) konformacją jąder atomowych wchodzących w skład molekuly. Najprostszym przykładem jest butan (Rys. 2a), którego konformacja może być albo achiralna (*antiperiplanarna* położenie grup metylowych) albo chiralna (*synklynalne* – g^+ i g^- położenie grup metylowych względem siebie). W przypadku butanu prawdopodobieństwo wystąpienia obydwu chiralnych konformacji jest takie samo (i jest ono dużo mniejsze niż prawdopodobieństwo wystąpienia konformacji achiralnej), więc dowolna populacja cząsteczek butanu nie jest optycznie aktywna.



Rysunek 2. Achiralna oraz chiralne konformacje *n*-butanu (a). Przykłady chiralnych cząsteczek o symetrii C_1 (b), C_2 (c) i D_2 (d)

Figure 2. Achiral and chiral conformations of *n*-butane (a). Examples of chiral molecules of C_1 (b), C_2 (c) and D_2 (d) symmetry

Warunek makroskopowej czynności optycznej, czyli nierówne populacje enantiomerów w badanej próbce, nie stanowi kryterium wystarczającego. To ostatnie związane jest z symetrią cząsteczki, a dokładniej nieobecnością wśród elementów symetrii charakteryzujących obiekt osi śrubowych (przemiennych) S_n , płaszczyzn symetrii ($C_s \equiv \sigma$) i centrum inwersji ($C_i \equiv S_2$). Z kolei obecność osi symetrii C_n ($n > 1$) nie wyklucza chiralności [6].

Jednym z najprostszych przykładów cząsteczek chiralnych o symetrii C_1 jest bromochlorodimetylan. Heksahelicen i tetrapodstawiony bifenylny są, kolei, przykładami związków chiralnych niezawierających centrum stereogenicznego (Rys. 2b–d), charakteryzujących się obecnością co najmniej jednej osi dwukrotnej C_2 .

Tabela 1. Symetria niektórych grup punktowych [6]
Table 1. Symmetries of some point groups [6]

| Grupy chiralne | Grupy achiralne |
|--|---|
| C_n (tylko jedna oś symetrii C_n) | C_s (jedna płaszczyzna symetrii) |
| D_n ($C_n + nC_2$) | S_n (parzysta oś przemienna) |
| $T(4C_3 + 3C_2)$ | C_{nv} ($C_n + n\sigma_v$) |
| | C_{nh} ($C_n + n\sigma_h$) |
| | D_{nd} ($C_n + n \perp C_2 + n\sigma_v$) |
| | D_{nh} ($C_n + n \perp C_2 + n\sigma_v + \sigma_h$) |
| | T_d ($4C_3, 3C_2, 6\sigma$) |

σ_v – płaszczyzna pionowa; σ_h – płaszczyzna pozioma; \perp – prostopadła; d – diamentowa płaszczyzna ślizgowa.

Symetria cząsteczek (tradycyjnie określana *grupą punktową Schoenfliesa*) jest dogodną metodą ich klasyfikacji, powszechnie stosowaną również w spektroskopii, często również umożliwiającą na drodze eksperymentu myślowego dedukcję struktury związków zawierających więcej niż jedno centrum stereogeniczne. W Tabeli 1 pokazane zostały charakterystyki grup punktowych, istotnych z punktu widzenia chemii organicznej [6].

Można zadać pytanie: dlaczego właściwie cząsteczka chiralna skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego? W znacznie uproszczonej formie można przyczynę aktywności optycznej przedstawić, jako nierówną absorpcję promieniowania spolaryzowanego kołowo w prawo i w lewo przez cząsteczkę chiralną. Fenomenologiczne podejście do problemu przyczyn aktywności optycznej podał Feynmann [8], natomiast Caldwell i Eyring dokonali krytycznego przeglądu historycznych i współczesnych teorii aktywności optycznej cząsteczek [9].

3. METODY CHIRALOOPTYCZNE – PODSTAWOWE NARZĘDZIE STEREOCHEMII

W XIX i do połowy XX wieku główną metodą badań strukturalnych była korelacja chemiczna – gdzie z nieznanym związkiem prowadzono takie reakcje, które pozwalały otrzymać znane produkty. Obecnie metody chemiczne zostały niemal całkowicie wyparte przez metody instrumentalne.

Metody chiralooptyczne bazują na niedestrukcyjnych oddziaływaniach przypadkowo zorientowanych cząsteczek chiralnych z anizotropowym promieniowaniem (Rys. 3) [10–17]. Obok metod rentgenograficznych [18–21] są jedną z dwóch grup metod pozwalających na bezpośrednie określenie konfiguracji absolutnej chiralnego związku chemicznego i dogodnym, o ile nie jedynym, narzędziem badawczym dostarczającym informacji o strukturze związku chiralnego w różnych stanach skupienia.

Elektronowy dichroizm kołowy (ECD) jest obok pomiaru skręcalności właściwej ($[\alpha]_D$) najczęstszą metodą eksperymentalnej charakterystyki związku optycznie czynnego.



Rysunek 3. Widmo CD, jako wynik zróżnicowanej absorpcji promieniowania spolaryzowanego kołowo w lewo i w prawo

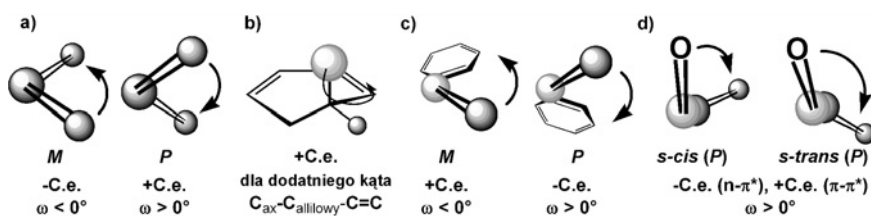
Figure 3. A CD spectrum as a result of different absorption of right- and left-handed polarized light

Wpływ na widmo ECD i skręcalność optyczną ma zarówno konfiguracja jak i konformacja cząsteczki, ale wkład obydwu tych czynników w sumaryczne widmo często jest trudny do oszacowania. Jakkolwiek widmo ECD bądź ORD mogą wydawać się ubogie w dane, to jednak informacje uzyskane metodami chiralooptycznymi nie są zwykle możliwe do uzyskania na innej drodze, zwłaszcza, gdy przedmiotem zainteresowania nie jest tylko konfiguracja absolutna, ale także preferowana w danych warunkach konformacja. Obecnie można mówić o renesansie metod chiralooptycznych w stereochemii, co jest spowodowane wyrafinowaniem aparatury analitycznej, ale przede wszystkim udanym mariażem pomiędzy chemią teoretyczną a eksperymentalną [22–25].

4. ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY STRUKTURĄ A WŁAŚCIWOŚCIAMI CHIRALOOPTYCZNYMI – PODEJŚCIE TRADYCYJNE I WSPÓLCZESNE

Analiza konstytucji chiralnego związku chemicznego pozwala na *a priori* przewidywanie jego przydatności w badaniach elektronowym dichroizmem kołowym. Obecność określonych chromoforów w szkielecie cząsteczki umożliwia często dokładną korelację obserwowanych dla przejść elektronowych efektów Cottona (ang. *Cotton effect*, C.e.) ze strukturą. Skręcalność optyczna – tradycyjna metoda charakteryzowania nowych, optycznie czynnych związków chemicznych, nie ma prostej korelacji ze strukturą. Co więcej na skręcalność optyczną często największy wpływ mają te fragmenty cząsteczki, które nie leżą blisko centrum stereogenicznego, jak np. długie łańcuchy alkilowe. Wsparcie eksperymentalnych pomiarów skręcalności optycznej obliczeniami tej właściwości jest często jedyną możliwością określenia konfiguracji absolutnej i konformacji badanego związku chemicznego.

Należy podkreślić, że eksperymentalno-teoretyczny sposób analizy danych chiralooptycznych, zwłaszcza ECD i OR, staje się coraz popularniejszym, ale nie jest jedynym podejściem do problemu. Inną, tradycyjną metodą jest korelacja, na podstawie reguł empirycznych, wybranego elementu struktury ze znakiem i wielkością efektu Cottona, obserwowanego dla danej długości fali. To podejście bazuje na klasyfikacji chromoforów ze względu na ich symetrię, zaproponowaną po raz pierwszy przez Moscovitza [26], na chromofory achiralne (np. grupa karbonylowa, wiązanie podwójne C=C) i chromofory z natury (inherentnie) chiralne np. heliceny, cykliczne 1,3-dieny, związki biarylowe. Przykładowe reguły korelacyjne wiążące znak długofalowych efektów Cottona ze strukturą cząsteczki dla niektórych inherentnie chiralnych chromoforów pokazane są na Rysunku 4 [10–17].

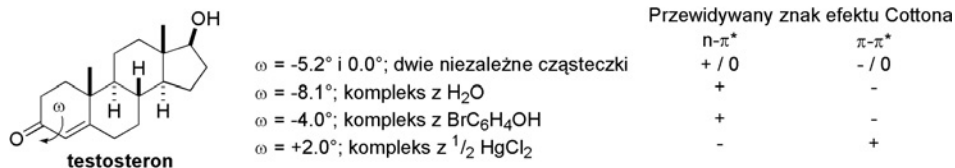


Rysunek 4. Empiryczne reguły korelujące znak efektu Cottona przejścia $\pi\epsilon-\pi^*$ z odpowiednim parametrem struktury 1,3-dienów: reguła helikalności dienów (a); reguła aksjalnej chiralności alilowej (b); reguła helikalności dla skręconego styrenu (c); reguła helikalności enonów (d)

Figure 4. Empirical correlating rules for 1,3-dienes: diene helicity rule (a), allylic axial chirality rule (b), styrene helicity rule (c), enone helicity rule (d)

Praktyczne zastosowanie tego podejścia wymaga jednak znajomości – chociażby hipotetycznej – struktury (konformacji) badanego związku. Tradycyjnym źródłem informacji strukturalnych są pomiary rentgenograficzne. Trzeba jednak zdawać sobie sprawę, że cząsteczki w roztworach i w stanie krystalicznym znajdują się w polu działania różnych sił mogących znacząco wpływać na konformację.

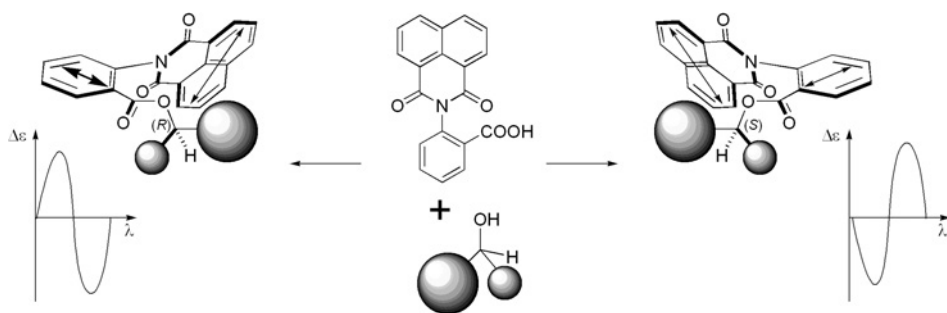
Ciekawym przykładem wpływu sieci krystalicznej na konformację jest hormon steroidowy testosteron, charakteryzujący się obecnością chromoforu inherentnie chiralnego: skręconego układu α,β -nienasyconego ketonu (enonu). Dla testosteronu, kąt dwuścienny ω , charakteryzujący helikalność chromoforu, w fazie stałej może przyjmować różne wartości, zarówno dodatnie jak i ujemne, w zależności od grupy przestrzennej i obecności innych cząsteczek związanych z testosteronem wodorowo lub tworzących kompleksy [27]. W przypadku chromoforów inherentnie chiralnych znak (w mniejszym stopniu wartość) kąta ω definiuje również znak efektu Cottona określonego przejścia elektronowego (Rys. 4), dlatego bezkrytyczne przeniesienie znalezionych dla fazy stałej wartości na cząsteczki w roztworze może prowadzić do wzajemnie wykluczających się wniosków odnośnie konformacji lub konfiguracji związku.



Tego typu podejście było z powodzeniem stosowane w badaniach stereochemicznych przez lata. Jednak trudnością w jednoznacznym stosowaniu reguł empirycznych jest fakt, że jedne z nich przypisują dominujący wpływ na widmo CD skróconemu chromoforowi a drugie jego chiralnemu sąsiedztwu. Obydwa czynniki strukturalne mogą działać zgodnie, lub przeciwnie do siebie, co powoduje, że znalezienie empirycznej, a jednocześnie jednoznacznej relacji pomiędzy stereochemią a czynnością optyczną związków chiralnych zawierających chromofory inherentnie chiralne następuje duże trudności [11, 28, 29].

Inny sposób określenia konfiguracji związku chemicznego przy pomocy elektronowego dichroizmu kołowego to praktyczne zastosowanie znanej metody chiralności ekscytonowej [13]. Obecnie polega ono na wprowadzeniu do molekuly układu bichromoforowego, najlepiej w pobliżu centrum stereogenicznego. Taki bichromofor na skutek wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań sterycznych przybiera określoną chiralną konformację, generującą niezerowy efekt Cottona wskutek ekscytonowych oddziaływań międzychromoforowych (Rys. 5).

Układami spełniającymi te kryteria są np. pochodne kwasu 2-(1,8-naftyloimido)benzoesowego [30]. Warunkiem koniecznym do zastosowania tej metody jest znajomość polaryzacji przejść elektronowych w obrębie chromoforów, odpowiedzialnych za powstawanie ekscytonowego efektu Cottona w badanej cząsteczce.



Rysunek 5. Indukcja chiralności w achiralnym chromoforze na skutek wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań sterycznych

Figure 5. Chirality induction in an achiral chromophore as a result of intramolecular sterical interactions

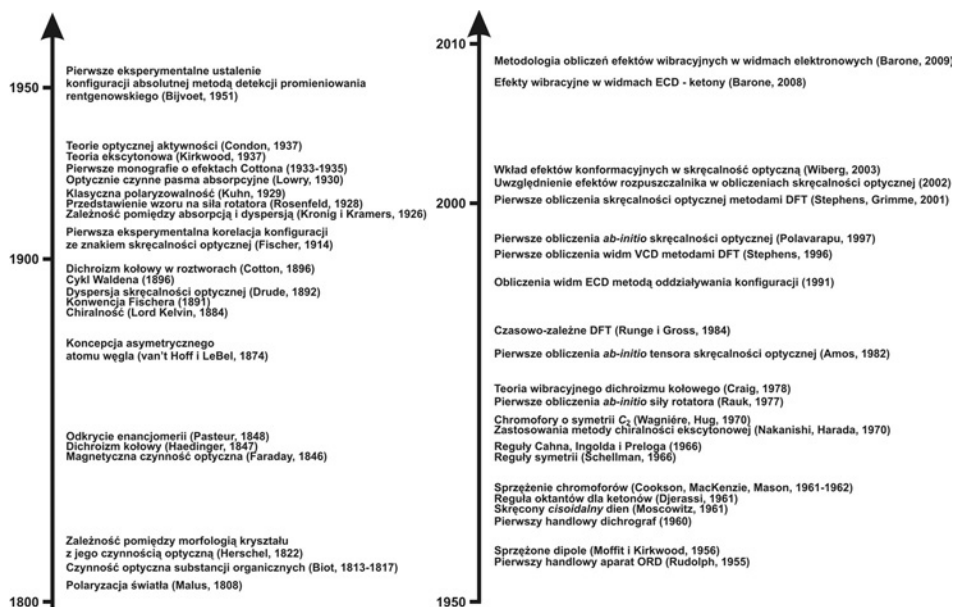
Teoretyczne podejście do zjawisk chiralnooptycznych nie jest sprawą prostą, co wiąże się chociażby z wielkością badanych cząsteczek i prawidłowym opisem oddziaływań cząsteczek, nie tylko z promieniowaniem, ale również z otaczającym środowiskiem (rozpuszczalnikiem). Najważniejszą wartością w spektroskopii ECD

jest siła rotatora (R), dla przejścia elektronu pomiędzy stanem S_0 i S_1 definiowana, jako:

$$R_{0i} = \text{Im}(\langle \Psi_0 | \hat{\mu} | \Psi_i \rangle \langle \Psi_0 | \hat{m} | \Psi_i \rangle) = |\vec{\mu}_{0i}| \bullet |\vec{m}_{0i}| \bullet \cos(\mu_{0i}, m_{0i})$$

gdzie, μ i m stanowią odpowiednio operatory dipola elektrycznego i magnetycznego [9]. Ponieważ R jest wartością obdarzoną znakiem, zarówno wektory elektryczny jak i magnetyczny, kąt pomiędzy nimi, ale także energia przejścia elektronowego muszą być wyznaczone z większą dokładnością niż w przypadku widm absorpcyjnych UV/Vis. Siła rotatora i obserwowany efekt Cottona są ze sobą wzajemnie powiązane, aczkolwiek siła rotatora jest pojęciem bardziej szczegółowym, odnoszącym się do konkretnego przejścia elektronowego. Efekt Cottona może być generowany przez jedno przejście optycznie czynne, lub też być superpozycją kilku przejść elektronowych.

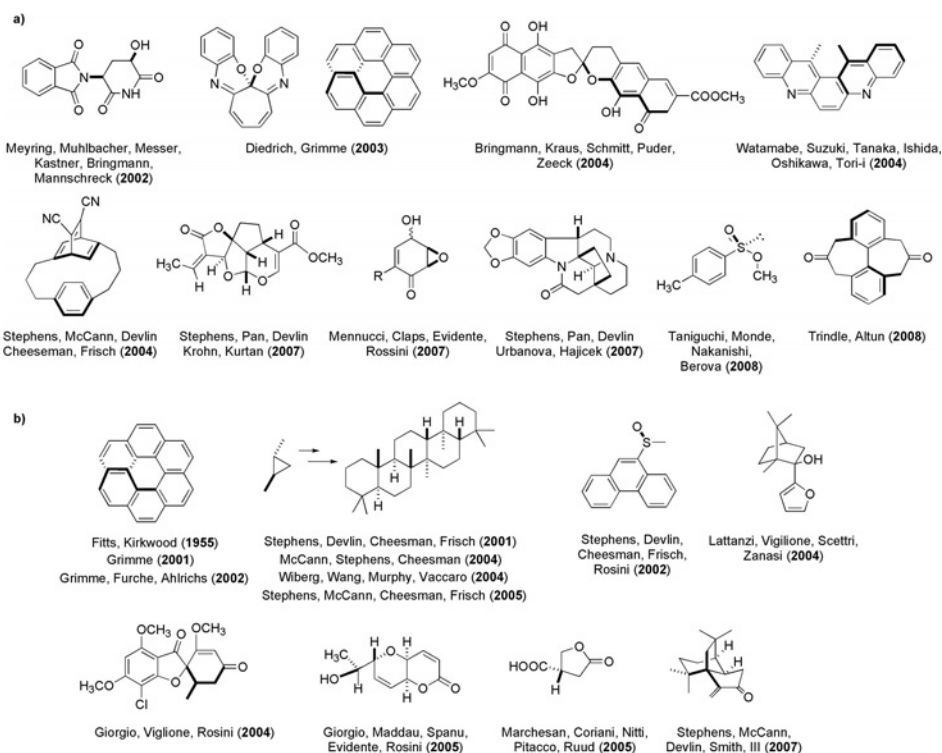
Wprawdzie już w latach 30. XX w. Kuhn powiązał polaryzowalność wiązań z czynnością optyczną [31–35], ale dopiero w 1952 opublikowano pierwsze obliczenia skręcalności optycznej dla prostego modelu 2,3-epoksybutanu [36]. W następnych latach Kirkwood z sukcesem określił konfigurację absolutną heksahelicenu bazując na modelu oscylatorów [37], ale na następne próby obliczeń skręcalności optycznej należało zaczekać przeszło 30 lat, gdy powszechnie zaczęto stosować w obliczeniach właściwości chiralooptycznych tzw. orbitale Londona [38–40].



Rysunek 6. Podstawowe fakty historyczne
Figure 6. Basic historical facts

Od końca lat 90. można mówić o renesansie w dziedzinie badań stereochemicznych metodami chiralooptycznymi – zastosowanie nowych metod chemii teoretycznej, stałe podnoszenie mocy obliczeniowej komputerów i dostępność oprogramowania umożliwiają prowadzenie badań tego typu nie tylko specjalistom-teoretykom. Na Rysunku 6 przedstawione są wybrane fakty historyczne, istotne dla rozwoju badań stereochemicznych metodami chiralooptycznymi.

W literaturze przedmiotu można spotkać wiele przykładów obliczeń widm elektronowego i wibracyjnego dichroizmu kołowego a także skręcalności optycznej (Rys. 7).



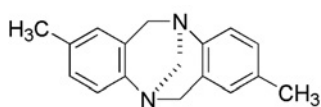
Rysunek 7. Przykłady związków, których konfiguracja absolutna została określona przy pomocy analizy eksperymentalnych i obliczonych widm ECD (a) oraz obliczonych i zmierzonych skręcalności optycznych (b)

Figure 7. Examples of compounds of which absolute configurations were determined by experimental measurements and theoretical calculations of ECD spectra (a) and optical rotations (b)

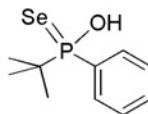
Spośród cząsteczek pokazanych na Rysunku 7 większość stanowią związki strukturalnie usztywnione. Ze względu na dużą liczbę możliwych konformerów i trudności w teoretycznym wyznaczeniu ich struktury i populacji, związki konformacyjnie labilne stanowią poważne wyzwanie badawcze. Innym problemem, w przypadku analizy związków konformacyjnie labilnych, są często małe wartości skręcalności

optycznych i sił rotatora dla odpowiednich przejść elektronowych. To z kolei pociąga za sobą konieczność stosowania dokładniejszych i bardziej czasochłonnych metod obliczeniowych. Tym niemniej takie eksperymentalno-teoretyczne podejście do badań strukturalnych jest szczególnie atrakcyjne dla chemików-eksperymentatorów, zwłaszcza w przypadkach, gdy pełna znajomość struktury cząsteczki decyduje o jej dalszym wykorzystaniu.

Podsumowując tę część można pozwolić sobie na dwie generalne konkluzje. Po pierwsze, zarówno metody rentgenograficzne jak i chiralooptyczne z powodzeniem wykorzystywane były i są w badaniach stereochemicznych. Po drugie, żadna z metod nie daje absolutnej gwarancji poprawności. Konfiguracja absolutna zasady Trögera została błędnie określona przez Masona na podstawie wyznaczonych eksperymentalnie i obliczonych sił rotatora [41–43]. Z kolei kwas *tert*-butylofenylofosfinoselenowy jest przykładem niepoprawnego zastosowania danych rentgenostrukturalnych do określenia konformacji w roztworze, co zostało wykazane pomiarami i obliczeniami widm VCD [44].



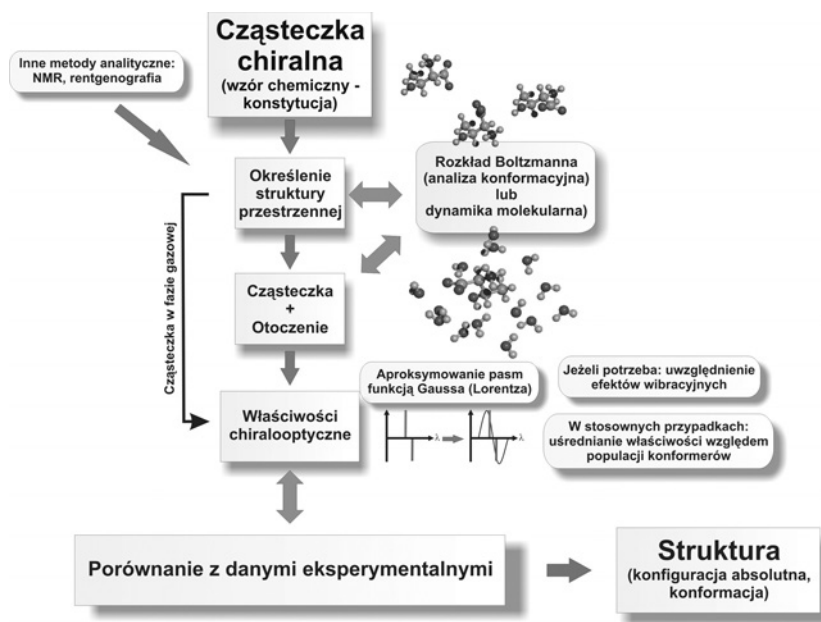
zasada Trögera

kwas
tert-butylofenylofosfinoselenowy

5. TYPOWA METODOLOGIA BADAŃ

Porównanie pomiędzy obliczonymi i znalezionymi eksperymentalnie widmami CD lub ORD jest zazwyczaj ostatnim krokiem analizy prowadzonej w celu określenia konfiguracji absolutnej i konformacji związku chemicznego. Ogólny schemat takiej analizy przedstawiony jest na Schemacie 2, szczegółowy opis poszczególnych etapów można znaleźć w artykułach przeglądowych [22–24, 45].

Pierwszym krokiem analizy jest wybór odpowiedniego modelu, zdefiniowanie jego konstytucji, a także arbitralne założenie konfiguracji absolutnej. Należy nadmienić, przedmiotem badań teoretycznych nie są realne cząsteczki, ale ich modele, a dany model może, ale nie musi idealnie opisywać wszystkie cechy cząsteczki. Generalnie – relacja pomiędzy modelem a rzeczywistą cząsteczką jest taka jak relacja między teorią stosowaną do konstrukcji tego modelu a światem prawdziwych cząsteczek. Doskonałym kryterium poprawności jest możliwość dokładnego odwzorowania i przewidywania *a priori* danych spektroskopowych. Model nie musi być idealnym odzwierciedleniem realnej molekuly, a stopień uproszczenia jest zależny od rodzaju wyznaczanej właściwości cząsteczki.



Schemat 2. Ogólny schemat analizy eksperymentalno-teoretycznej prowadzonej w celu ustalenia struktury związku chiralnego

Scheme 2. A simple flow chart for computations of chiroptical properties of a molecule

W przypadku cząsteczek konformacyjnie labilnych następnym etapem – wyznaczenie struktury (struktur) przestaje być sprawą prostą i wymaga intensywnych poszukiwań konformacyjnych. Alternatywnym podejściem jest wykorzystanie dynamiki molekularnej, jednak i wtedy ostateczne wyniki nie zawsze dobrze korelują się z eksperymentem. Niezależnie jednak od złożoności metod zastosowanych w ostatnim kroku analizy, poprawne wyznaczenie struktur badanych molekuł jest etapem najważniejszym. Na tym etapie badań pomocne mogą być dane otrzymane przy użyciu innych metod instrumentalnych.

Drugim, nie mniej ważnym celem analizy konformacyjnej jest znalezienie zależności energetycznych pomiędzy konformerami i wyznaczenie ich populacji. Podstawowym błędem jest jednak traktowanie wyliczonych energii względnych, jako wartości absolutnych. Jakkolwiek w wielu pracach względne energie konformerów wyznaczane są z dokładnością do $0,01 \text{ kcal mol}^{-1}$, to należy mieć na uwadze, że dokładność metod teoretycznych zawiera się w przedziale $0,5\text{--}1,5 \text{ kcal mol}^{-1}$, zaś podawanie niewielkich różnic w energii obrazuje raczej pewien trend, niż oddaje wartości bezwzględne.

Obliczenie właściwości chiralnooptycznych molekuly wymaga przetestowania szeregu metod na wybranym modelu, którego konfiguracja absolutna jest znana. W przypadku najczęściej stosowanych metod DFT sprowadza się to do przebadania różnych kombinacji funkcjonału i atomowej bazy funkcyjnej (w wielu pracach ten

etap jest niestety pomijany). Po drugie, obliczenia te są o wiele bardziej wymagające niż obliczenia geometrii, a przez to trudne do przeprowadzenia. Obliczone widmo CD ma postać zależności R od λ i każda z obliczonych sił rotatora musi zostać aproksymowana odpowiednią funkcją typu Gaussa lub Lorentza [46, 47].

Sumowanie wkładów poszczególnych konformerów w ostateczne widmo CD i/lub skręcalność optyczną pozwala na otrzymanie widma CD (lub skręcalności optycznej) uśrednionego względem populacji, a także umożliwia bezpośrednie porównanie danych eksperymentalnych i teoretycznych. Porównanie nie musi dotyczyć całego zakresu spektralnego, może ograniczać się do pasm diagnostycznych, a w pierwszym przybliżeniu czynnikiem branym pod uwagę jest znak efektu Cottona lub skręcalności optycznej.

W tego typu obliczeniach z reguły nie są uwzględniane efekty wibracyjne – odpowiedzialne za dyskretną strukturę pasma na widmach elektronowych. Jest to spowodowane trudnościami czysto technicznymi: dla cząsteczki zawierającej N atomów należy wykonać $3N-6$ indywidualnych obliczeń. Jak do tej pory obiektami, dla których przeprowadzono teoretyczne obliczenia wkładów efektów wibracyjnych do widma elektronowego dichroizmu kołowego były związki cykliczne typu cyklopentanonu [48, 49].

Porównanie eksperymentalnych i obliczonych widm CD i ORD umożliwia określenie konfiguracji absolutnej badanego związku a także oszacowanie składu mieszaniny konformerów. Ten cel można nazwać pierwszorzędowym i stanowi on główny przedmiot zainteresowań wielu grup badawczych. Tym niemniej zastosowanie metod obliczeniowych umożliwia oszacowanie ilościowego wpływu określonych parametrów struktury na badaną właściwość chiralooptyczną. Efektem takiego podejścia jest weryfikacja tradycyjnych reguł korelacyjnych i propozycja nowych modeli aktywności optycznej badanych związków.

5.1. EFEKT ROZPUSZCZALNIKA

Pomiary widm CD lub ORD rzadko odbywają się w fazie gazowej, stąd podstawową trudnością przy prowadzeniu analiz tego typu jest symulacja oddziaływań pomiędzy cząsteczką a otoczeniem (rozpuszczalnikiem). Jest to szczególnie istotne dla związków polarnych, z reguły nierozpuszczalnych w rozpuszczalnikach niepolarnych.

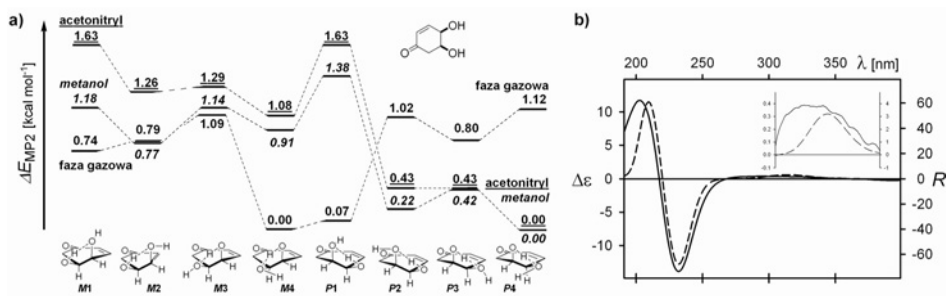
Wpływ rozpuszczalnika na obserwowane właściwości cząsteczki może być wieloraki i objawiać się, jako np. zmiana względnych energii cząsteczek a tym samym populacji konformerów będących w równowadze. Ten wpływ można określić jako pośredni – właściwości chiralooptyczne poszczególnych konformerów pozostają bez zmian. Z drugiej strony z reguły zmiana polarności otoczenia wokół cząsteczki może skutkować przesunięciem już istniejących, zanikiem lub pojawianiem się nowych pasm absorpcji, czyli zmianą widma. Wpływ rozpuszczalnika jest

generalnie bardziej widoczny w przypadku obliczeń skręcalności optycznych niż elektronowego dichroizmu kołowego.

Obecnie stosuje się dwa główne podejścia do szacowania wpływu rozpuszczalnika na właściwości chiralooptyczne związku. W pierwszym z nich, najpopularniejszym, rozpuszczalnik jest traktowany, jako źródło pewnego potencjału (np. model polaryzowalnego kontinuum, PCM) [25]. W drugim podejściu zarówno substancja rozpuszczona jak i rozpuszczalnik traktowane są równoważnie, a odpowiednie klastry (substancja rozpuszczona-rozpuszczalnik) otrzymywane są np. na drodze symulacji dynamiką molekularną.

W większości przypadków zadowalające efekty otrzymuje się stosując modele przybliżone, co dobrze ilustrują poniższe przykłady.

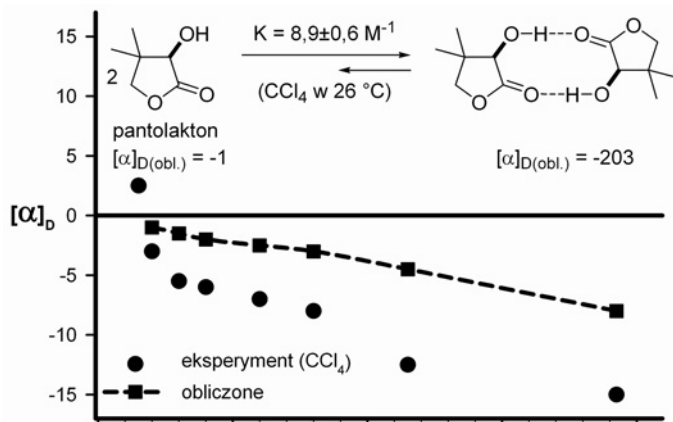
(4*R*,5*S*)-4,5-Dihydroksycykloheks-2-enon jest przykładem związku o dużej swobodzie konformacyjnej, dla którego populacja konformerów różniących się helikalnością *P* lub *M* układu chromoforowego i odpowiednią aranżacją grup hydroksylowych (każdy z typów oznaczony jest cyfrą arabską), jest ściśle uzależniona od otoczenia cząsteczki (Rys. 8). O ile dla fazy gazowej dominującym konformerem jest *M*4, to zwiększenie stałej dielektrycznej otoczenia, odwzorowane modelem polaryzowalnego kontinuum, odzwierciedla się w zmianie preferencji konformacyjnych molekuly. W przypadku acetonitrylu i metanolu preferowanym konformerem będzie *P*4 [50]. Porównanie eksperymentalnego i obliczonego widma CD, pokazuje ich doskonałą zgodność i umożliwia jednoznaczne określenie struktury badanego związku.



Rysunek 8. Wpływ otoczenia cząsteczki na obliczone (MP2/Aug-cc-pVTZ) względne energie konformerów (4*R*,5*S*)-4,5-dihydroksycykloheks-2-enonu (a), oraz porównanie widm ECD: zmierzonych w acetonitrylu (linia ciągła) oraz obliczonego metodą TD-DFT/PCM/B2LYP/Aug-cc-pVTZ (linia przerywana) (b)

Figure 8. An effect of surrounding on calculated (MP2/Aug-cc-pVTZ level) relative energies of conformers of (4*R*,5*S*)-4,5-dihydroxycyclohexenone (a) and comparison between ECD spectra measured in acetonitrile solution (solid line) and calculated at the TD-DFT/PCM/B2LYP/Aug-cc-pVTZ level (broken line)

Tworzenie się stabilizowanych wiązaniami wodorowymi asocjatów jest często odpowiedzialne za nieliniową zależność skręcalności właściwej ($[\alpha]_D$) od stężenia (*efekt Horeau*). Pantolakton (Rys. 9) może w niepolarnym środowisku tworzyć dimery stabilizowane wiązaniami wodorowymi.

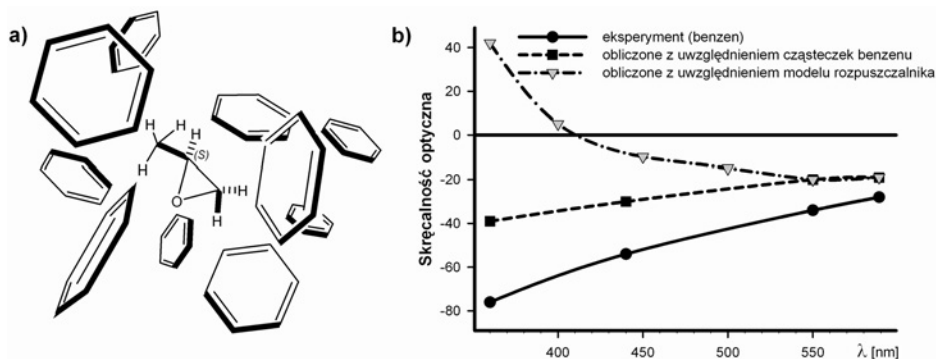


Rysunek 9. Wpływ dimeryzacji pantolaktonu na eksperymentalne i obliczone wartości skręcalności optycznych

Figure 9. An effect of pantolactone dimerization on the experimental and calculated values of optical rotations

Eksperymentalnie wyznaczona dla pantolaktonu stała równowagi monomer \leftrightarrow dimer wynosi $8,9 \pm 0,6 \text{ M}^{-1}$ (roztwór w czterochlorku węgla, temperatura 26°C). Obliczone skręcalności właściwe, po uwzględnieniu wpływu rozpuszczalnika, dla monomeru i dimeru wynoszą odpowiednio $[\alpha]_{\text{D(monomer)}} = -1^\circ$ i $[\alpha]_{\text{D(dimer)}} = -203^\circ$. Porównanie zmierzonych i obliczonych dla różnych stężeń pantolaktonu w CCl_4 skręcalności właściwych umożliwia nie tylko wyznaczenie struktury, ale również określenie ułamków molowych monomeru i dimeru w zależności od warunków pomiaru [51].

Wokół cząsteczki chiralnej może następować również swoista, chiralna organizacja cząsteczek rozpuszczalnika. Wówczas obserwowana właściwość chiralnooptyczna (z reguły jest to skręcalność optyczna) jest wynikiem nie tyle oddziaływania płaszczyzny światła spolaryzowanego liniowo z cząsteczkami chiralnymi, ale raczej z klastrami: chiralna substancja rozpuszczona–rozpuszczalnik. Doskonałym przykładem takiego efektu jest (*S*)-metylooksiran – związek modelowy stosowany jako test dla różnych metod obliczeniowych (Rys. 10). Porównanie eksperymentalnego i obliczonych widm ORD, zarówno z użyciem modelu rozpuszczalnika jak i z uwzględnieniem cząsteczek benzenu otaczających chiralną molekułę, pokazuje przewagę tego ostatniego podejścia teoretycznego. Jakkolwiek wynik jest spektakularny to koszt prowadzenia tego typu obliczeń jest bardzo wysoki (ponad 20000 obliczeń skręcalności optycznej dla różnych aranżacji cząsteczek) i – niestety – jest to metoda pozbawiona szerszego praktycznego zastosowania [51].



Rysunek 10. Chiralna aranżacja cząsteczek benzenu wokół (*S*)-metylooksiiranu (a); porównanie zmierzonych i obliczonych różnymi metodami widm ORD (b)

Figure 10. A chiral arrangement of benzene molecules around (*S*)-methyloxirane (a) and comparison between measured and calculated ORD spectra (b)

5.2. METODY OBLICZENIOWE STOSOWANE W BADANIACH STEREOCHEMICZNYCH

Obecnie najczęściej stosowanymi metodami teoretycznymi w przypadku określania stereochemii związków chiralnych są metody bazujące na teorii funkcjonałów gęstości (DFT) [52–54]. Wiąże się to zarówno z ich uniwersalnością jak i stosunkowo niskim kosztem prowadzenia obliczeń. Jakkolwiek z definicji metody te nie prowadzą do ścisłych wyników, to otrzymywane wartości energii, przy zastosowaniu odpowiednich funkcjonałów (np. B2PLYP(D)) [55], są porównywalne z wynikami otrzymywanymi dla zaawansowanych metod korelacyjnych jak np. CCSD(T), przy znacznie niższym koszcie, porównywalnym z metodą MP2. Inną zaletą – ale jednocześnie uznawaną przez niektórych autorów za główną wadę – jest łatwość tworzenia funkcjonału gęstości najbardziej odpowiadającemu rozważanemu problemowi. Skutkuje to szybkim wzrostem liczby dostępnych funkcjonałów, bazujących na różnych rodzajach stosowanych przybliżeń, gdzie każdy z nich ma swoje zalety i wady. Związkami modelowymi do testowania metod używanych do obliczeń właściwości chiralnooptycznych są najczęściej metylooksiiran, H_2S_2 , H_2O_2 czy butadien, stąd też nie ma prostego przełożenia z wyników otrzymanych dla tego typu modeli na oczekiwane wyniki dla innych bardziej złożonych molekuł.

Z drugiej strony na pytanie – jakiego funkcjonału należy użyć do rozwiązania konkretnego problemu – nie można udzielić *a priori* odpowiedzi a tym bardziej nie ma żadnej „złotej reguły” pozwalającej na trafny wybór metody obliczania widm ECD i skręcalności optycznej. Podstawowym kryterium wyboru w większości obserwowanych w literaturze przypadków jest statystyka – funkcjonał gęstości częściej spotykany w literaturze jest naturalnym wyborem dla rozwiązania nowego problemu. Stąd też – statystycznie – najczęściej stosowanym funkcjonałem gęstości jest funkcjonał hybrydowy B3LYP [56–58], który w połączeniu z relatywnie małą bazą funk-

cyjną 6-31G(d), stanowi „szwajcarski scyzoryk” z mniejszym lub większym powodzeniem stosowany w różnego rodzaju badaniach.

Drugim problemem, który pojawia się przy planowaniu obliczeń to wielkość atomowej bazy funkcyjnej, zależnej od badanego układu i obliczanej właściwości spektroskopowej [59]. Wprawdzie chemicy-teoretycy mawiają, że dla odpowiednio dużej bazy metoda obliczeń nie ma znaczenia, ale taka korelacja zazwyczaj nie sprawdza się w przypadku metod DFT. Ponadto zastosowanie lepszej (większej) atomowej bazy funkcyjnej znacząco podnosi czas i koszt obliczeń.

W literaturze przedmiotu można wyróżnić co najmniej trzy algorytmy obliczania właściwości chiralooptycznych związków konformacyjnie labilnych i uszeregować je ze względu na rosnący koszt obliczeń [60]:

- Poszukiwania konformacyjne na poziomie mechaniki molekularnej/optymalizacja geometrii i obliczenia właściwości chiralooptycznych na poziomie B3LYP/6-31G(d) lub porównywalnym.
- Poszukiwania konformacyjne na poziomie mechaniki molekularnej/optymalizacja geometrii na poziomie B3LYP/6-31G(d) lub porównywalnym/obliczenia właściwości chiralooptycznych na wyższym poziomie, np. B3LYP/Aug-cc-pVDZ.
- Poszukiwania konformacyjne na poziomie mechaniki molekularnej/optymalizacja geometrii na poziomie B3LYP/6-31G(d) lub porównywalnym/reoptymalizacja geometrii na wyższym poziomie (np. B3LYP/6-311G(d,p)) /obliczenia właściwości chiralooptycznych na wyższym poziomie, (np. B3LYP/Aug-cc-pVDZ) dla struktur re-optymalizowanych.

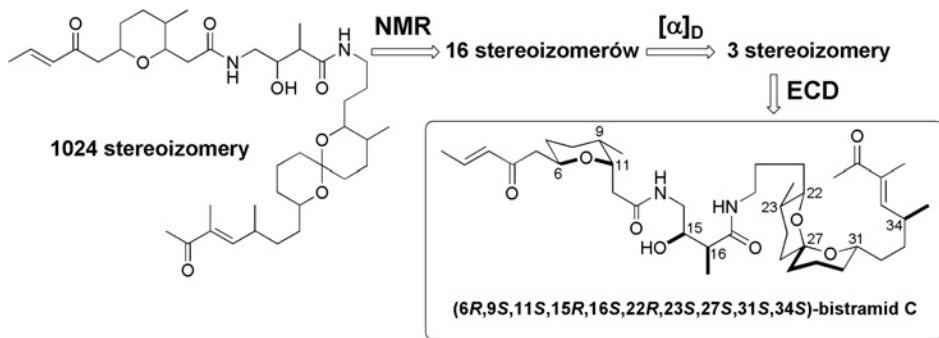
Jakkolwiek większość do tej pory opisanych w literaturze przypadków można było rozwiązać przy pomocy metod „najtąńszych” to jednak podejście metodologiczne, które można nazwać „eksperymentalnym”, niebazującym na statystyce, ale na podstawie szeregu eksperymentów obliczeniowych umożliwiających znalezienie metody lub kombinacji metod najlepszych dla danej klasy związków jest w opinii autora podejściem najbardziej prawidłowym.

6. PRZYKŁADY ZASTOSOWAŃ

Poniżej zostaną krótko omówione niektóre, arbitralnie wybrane przykłady zastosowań opisanej wcześniej analizy eksperymentalno-teoretycznej w badaniach stereochemicznych. Cechą wspólną omawianych przypadków jest znaczna konformacyjna labilność cząsteczek, wymagająca użycia metod komplementarnych, lub prowadzenia badań w sposób bardzo szczegółowy.

6.1. BISTRAMID C

Bistramid C (Rys. 11) jest morskim produktem naturalnym, charakteryzującym się obecnością dziesięciu centrów stereogenicznych, co daje w efekcie 1024 możliwe stereoizomery.



Rysunek 11. Przykład zastosowania kilku komplementarnych metod w celu ograniczenia liczby rozważanych stereoizomerów i określenia konfiguracji absolutnej związku

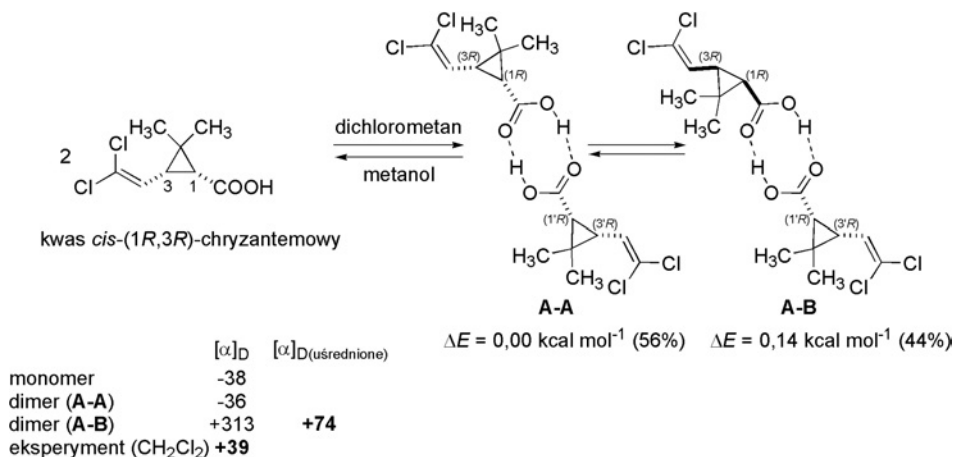
Figure 11. The use of a few complementary methods for determination of the absolute configuration of a molecule

Analiza widm magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), zwłaszcza stałych sprzężeń i efektów NOE, ograniczyła liczbę możliwych stereoizomerów do 16. Dalsza redukcja (do trzech stereoizomerów) była możliwa dzięki analizie wartości skręcalności właściwych. Ostatecznie konfiguracja absolutna prawoskrętnego (+)-bistramidu C została określona jako (6R,9S,11S,15R,16S,22R,23S,27S,31S,34S) poprzez porównanie obliczonych i zmierzonych widm ECD [51].

6.2. KWAS CHRYZANTEMOWY

Kwas chryzantemowy jest naturalnym insektycydem występujących w przyrodzie w postaci izomerów *cis* i *trans*. Przeprowadzone pomiary skręcalności optycznej diastereoizomerów kwasu *cis*- i *trans*-chryzantemowego nie pozwalały na jednoznaczne powiązanie znaku skręcalności ze strukturą danego diastereoizomeru. Co więcej nawet w przypadku tego samego enancjomeru znak i wielkość skręcalności zmieniały się w zależności od użytego rozpuszczalnika.

Zastosowanie metod obliczeniowych umożliwiło jednoznaczne określenie konfiguracji absolutnej diastereoizomerów. Przykładowo, porównanie eksperymentalnej (+39°, $c = 1,5$, dichlorometan) i obliczonej (−38°) skręcalności właściwej dla kwasu *cis*-(1R,3R)-chryzantemowego może prowadzić do mylnej konkluzji odnośnie konfiguracji absolutnej badanego związku (Rys. 12).



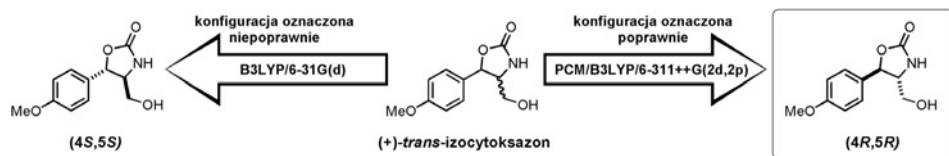
Rysunek 12. Wpływ dimeryzacji na skręcalność właściwą kwasu *cis*-chryzantemowego
 Figure 12. An effect of dimerization of chryzantemic acid on values of the specific rotations

Obecność grupy karboksylowej, a co za tym idzie możliwość tworzenia międzycząsteczkowych silnych wiązań wodorowych C=O...H-O, może prowadzić do tworzenia się w niepolarnym środowisku dimerów **A-A** i **A-B**, różniących się konformacją jednego z fragmentów. Ze względu na małą różnicę energii pomiędzy nimi, populacja **A-A** i **A-B** jest porównywalna, różnią się natomiast znacząco obliczone skręcalności właściwe. Uśrednienie obliczonych dla dimerów wartości $[\alpha]_D$ względem populacji konformerów prowadzi do wartości $[\alpha]_{D(\text{sr})} = +74$, co jest jakościowo zgodne z eksperymentem. Badania metodami chiralooptycznymi zostały potwierdzone poprzez oznaczenie konfiguracji absolutnej przy pomocy dyfrakcji promieni Roentgena [61].

6.3. TRANS-IZOCYTOKSAZON

Cytoksazon ((-)-(4*R*,5*R*)-*cis*-5-hydroksymetylo-4-(4-metoksyfenylo)-1,3-oksazolidyn-2-on) jest immunosupresorem produkowanym przez *Streptomyces sp.* Synteza *cis*- i *trans*-cytksazonów jak również ich izomerów – *cis*- i *trans*-izocytksazonów jest możliwa zarówno na drodze chemicznej jak i chemoenzymatycznej [62].

Konfiguracja absolutna *trans*- i *cis*-izocytksazonów została określona w 2005 roku przez Giorgio i współpracowników na bazie porównania obliczonych (B3LYP/6-31G(d)) i zmierzonych w różnych rozpuszczalnikach skręcalności optycznych dla wybranych długości fali [63]. Na tej podstawie zaproponowano konfigurację absolutną (4*S*,5*S*) dla prawoskrętnego ($[\alpha]_D = +70$, $c = 0,4$ w metanolu) enancjomeru *trans*-izocytksazonu. Jest w sprzeczności z danymi eksperymentalnymi uzyskanymi dla produktu otrzymanego na drodze syntezy ze związku o znanej konfiguracji absolutnej i z danymi pochodzącymi z badań rentgenograficznych (Rys. 13).

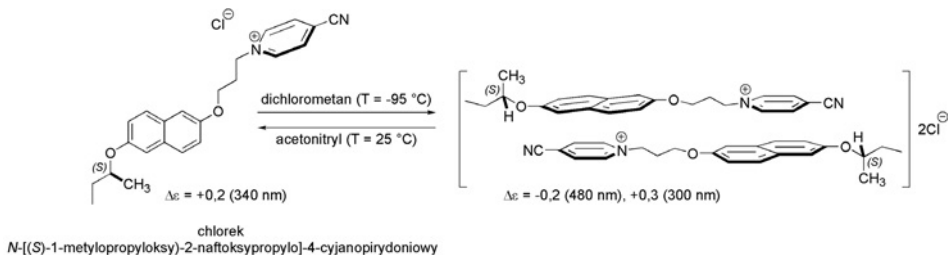


Rysunek 13. Wpływ metody i algorytmu obliczeń na oznaczoną konfigurację absolutną (+)-*trans*-izocytozaszonu
Figure 13. An effect of the method and calculations algorithm on determined absolute configuration of (+)-*trans*-isocytosaxone

Późniejsze badania z zastosowaniem dokładniejszych metod obliczeniowych skutkowały nie tylko doskonałą reprodukcją wyników eksperymentalnych (zarówno ORD jak ECD), ale przede wszystkim wykazały przyczyny błędnego przypisania konfiguracji absolutnej przez Giorgio i współpracowników. Najważniejszymi z nich wydają się być niedokładnie przeprowadzona analiza konformacyjna oraz nieuwzględnienie wpływu rozpuszczalnika na geometrie i względne energie cząsteczek [60].

6.4. CHLOREK *N*-[(*S*)-1-METYLOPROPYLOKSY]-2-NAFTOKSYPROPYLO]-4-CYJANOPYRIDONIOWY

Przykładem prostego związku, którego struktura jest uzależniona od szeregu czynników, takich jak rozpuszczalnik, temperatura, stężenie i obecność innych cząsteczek w roztworze, jest chlorek *N*-[(*S*)-1-metylopropyloksy]-2-naftoksypropylo]-4-cyanopirydoniowy (Rys. 14). Czynnikiem komplikującymi analizę struktury są: możliwość tworzenia się niekowalencyjnych agregatów, charakteryzujących się odmiennymi właściwościami chiralnooptycznymi niż cząsteczki izolowane, donoro-wo-akceptorowy charakter związku oraz małe wartości długofalowych efektów Cottona. Wyznaczenie struktur cząsteczek oddziałujących ze sobą niekowalencyjnie jest z reguły sporym wyzwaniem dla metod DFT, stąd też konieczność stosowania w obliczeniach tzw. empirycznej korekcji dyspersyjnej, uwzględniającej oddziaływanie van der Waalsa.



Rysunek 14. Preferowane struktury monomeru i dimeru chlorku *N*-[(*S*)-1-metylopropyloksy]-2-naftoksypropylo]-4-cyanopirydoniowego w zależności od warunków pomiaru

Figure 14. Preferred structures of monomer and dimer of *N*-[(*S*)-1-metylopropyloksy]-2-naftoksypropylo]-4-cyanopirydoniowy

Spośród kilkudziesięciu możliwych struktur – konformer zgięty, w którym możliwe jest oddziaływanie fragmentu donorowego z akceptorowym jest najbardziej stabilny w fazie gazowej. Uwzględnienie modelu rozpuszczalnika w obliczeniach zmienia znacząco dystrybucję konformerów. W polarnym środowisku najbardziej preferowany jest konformer rozciągnięty, co zostało potwierdzone przez porównanie widm ECD obliczonych i zarejestrowanych dla roztworu w acetonitrylu.

Konformer rozciągnięty może w sprzyjających warunkach tworzyć dimery typu „głowa do ogona”, stabilizowane międzycząsteczkowymi oddziaływaniami typu donor-akceptor, co również zostało wykazane na drodze eksperymentalnej i teoretycznej.

Należy nadmienić, że w tym przypadku obliczenia skręcalności właściwych nie dają jednoznacznej informacji na temat preferowanej struktury związku [64].

7. JEDNOCZESNE STOSOWANIE WIELU METOD CHIRALOOPTYCZNYCH

W 2003 roku Stephens i współpracownicy zaproponowali stosowanie więcej niż jednej metody chiralooptycznej (z reguły ECD i OR) w celu oznaczenia struktury związku chiralnego [65]. Polavarapu z kolei sugeruje użycie wibracyjnego dichroizmu kołowego, obok wzajemnie powiązanych ze sobą za pomocą transformat Keniga-Kramersa: skręcalności optycznej i elektronowego dichroizmu kołowego [66]. To podejście wydaje się bardzo atrakcyjne, ale należy zdawać sobie sprawę, że efekty obserwowane na widmach VCD jak i skręcalność optyczna są zależne od stężenia badanej próbki, co w przypadku ECD trudno wykazać. Co więcej – o ile w przypadku ECD można sobie pozwolić na pewną dowolność w doborze metod obliczania właściwości chiralooptycznych, to w przypadku VCD liczba funkcjonałów umożliwiających dobre odwzorowanie widm wibracyjnych jest stosunkowo niewielka.

8. OGRANICZENIA METODY

Podobnie jak większość metod, także zaprezentowane powyżej podejście do analiz stereochemicznych niesie ze sobą pewne ograniczenia. Wynikają one przede wszystkim z niedoskonałości metod obliczeniowych, stosowanych przybliżeń, czy błędnego szacowania subtelnych oddziaływań międzycząsteczkowych. Drugim czynnikiem jest struktura badanego obiektu – układy bardzo duże wciąż pozostają poza zasięgiem metod obliczeniowych dokładniejszych niż semiempiryczne. Podobnie jest z kompleksami metali – bardzo niewiele metod obliczeniowych jest zdolnych do prawidłowego odwzorowania widm CD, a zwłaszcza energii przejść elektronowych. Cząsteczki nie zawierające chromoforów, lub takie, które absorbują promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie dalekiego nadfioletu nie są przydatne do

badań ECD. W tym przypadku metodą z wyboru jest pomiar i obliczenie skręcalności optycznych bądź widm VCD.

PODSUMOWANIE

Na przykładzie badań stereochemicznych można prześledzić zmianę podejścia chemików-eksperymentatorów do wyników otrzymywanych na podstawie obliczeń – od całkowitego negowania, poprzez niechętną akceptację, aż po bezkrytyczną wiarę w wyniki obliczeń (i pojawiające się kwestionowanie wyników eksperymentalnych). Pamiętać jednakże należy, że każda, nawet najbardziej zaawansowana metoda, jest tylko narzędziem do rozwiązania konkretnego problemu a nie celem samym w sobie. Krytyczne podejście do otrzymywanych wyników, wręcz przysłowiowe szukanie „dziury w całym”, pozwala uchronić się przed popełnieniem błędu, a w przypadku oznaczania konfiguracji absolutnej skutki błędu są szczególnie wyraziste.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] K. Pigoń, Z. Ruziewicz, *Chemia fizyczna, t. 2*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005.
- [2] G.-Q. Lin, Y.-M. Li, Chan, A.S.C. *Principles and Applications of Asymmetric Synthesis*, Wiley, New York 2001.
- [3] E. Francotte, *Chirality in Drug Research*, Wiley-VCH, New York, 2007.
- [4] G. Wittig, *Stereochemie*, Akademische Verlagsgesellschaft M.B.H., Leipzig 1930.
- [5] K. Mislow, *Introduction to Stereochemistry*, Benjamin Press, New York 1965.
- [6] M. Nógrádi, *Stereochemia – podstawy i zastosowania*, PWN, Warszawa 1988.
- [7] E.L. Eliel, S.H. Wilen, *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley, New York, 1994.
- [8] R.P. Feynman, R.B. Leighton, M. Sands, *Feynmana wykłady z fizyki*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001.
- [9] D.J. Caldwell, H. Eyring, *The Theory of Optical Activity*, Wiley-Interscience, New York 1972.
- [10] C. Djerassi, *Optical Rotatory Dispersion, Applications to Organic Chemistry*, McGraw-Hill, New York, 1960.
- [11] D.A. Lightner, J.E. Gurst, *Organic Conformational Analysis and Stereochemistry from Circular Dichroism Spectroscopy*, Wiley-VCH, New York 2000.
- [12] *Circular Dichroism, Principles and Applications*, 2nd ed., N. Berova, K. Nakanishi, R.W. Woody (Eds.), Wiley-VCH, New York, 2000.
- [13] N. Harada, K. Nakanishi, *Circularly Dichroic Spectroscopy – Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*, University Science Books, Mill Valley, 1983.
- [14] G. Snatzke, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1979, **18**, 363.
- [15] J.A. Schellman, *Chem. Rev.*, 1975, **75**, 323.
- [16] A. Moscovitz, *Tetrahedron*, 1961, **13**, 48.
- [17] P. Crabbé, *Metody chiralooptyczne w chemii*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1974.
- [18] J.M. Bijvoet, A.F. Peerdeman, A.J. van Bommel, *Nature*, 1951, **168**, 271.
- [19] H.D. Flack, G. Bernardinelli, *Chirality*, 2008, **20**, 681.
- [20] M.F.C. Ladd, R.A. Palmer, *Structure Determination by X-ray Crystallography*, 2nd ed., Plenum Press: New York, 1985.

- [21] N. Harada, *Chirality*, 2008, **20**, 691.
- [22] T.D. Crawford, M.C. Tam, M.L. Abrams, *J. Phys. Chem. A*, 2007, **111**, 12057.
- [23] D.T. Crawford, *Theor. Chem. Acc.*, 2006, **115**, 227.
- [24] F. Neese, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 526.
- [25] M. Pecul, K. Ruud, *The Ab Initio Calculation of Optical Rotation and Electronic Circular Dichroism [w:] Advances in Quantum Chemistry*, 2005, **50**, 185.
- [26] A. Moscovitz, *Adv. Chem. Phys.*, 1962, **4**, 67.
- [27] M. Kwit, J. Gawronski, P. Skowronek, J. Frelek, M. Woznica, A. Butkiewicz, *Some Inherently Chiral Chromophores – Empirical Rules and Quantum Chemical Calculations w Comprehensive Chiroptical Spectroscopy*, N. Berova, P.L. Polavarapu, K. Nakanishi, R.W. Woody (Eds.), Wiley 2011 (zaakceptowane do druku).
- [28] J. Gawronski, M. Kwit, D.R. Boyd, N.D. Sharma, J.F. Malone, A.F. Drake, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 4308.
- [29] M. Kwit, J. Gawronski, D.R. Boyd, N.D. Sharma, M. Kaik, R. More O’Ferrall, J.S. Kudavalli, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 11500.
- [30] J. Gawronski, M. Kwit, K. Gawronska, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 4185.
- [31] W. Kuhn, *Die Naturwissenschaften*, 1938, **26**, 289.
- [32] W. Kuhn, *Die Naturwissenschaften*, 1938, **26**, 305.
- [33] W. Kuhn, K. Bein, *Die Naturwissenschaften*, 1933, **21**, 529.
- [34] W. Kuhn, *Die Naturwissenschaften*, 1931, **19**, 854.
- [35] W. Kuhn, *Trans. Faraday Soc.*, 1930, **26**, 293.
- [36] W. W. Wood, W. Fickett, J.G. Kirkwood, *J. Chem. Phys.*, 1952, **20**, 561.
- [37] J.G. Kirkwood, *J. Chem. Phys.*, 1937, **5**, 479.
- [38] F. London, *J. Phys. Radium*, 1937, **8**, 397.
- [39] T. Helgaker, P. Jørgensen, *J. Chem. Phys.*, 1991, **95**, 2595.
- [40] K.L. Bak, A.E. Hansen, K. Ruud, T. Helgaker, J. Olsen, P. Jørgensen, *Theor. Chim. Acta*, 1995, **90**, 441.
- [41] S.F. Mason, K. Schofield, R.J. Wells, J.S. Whitehurst, G.W. Vane, *Tetrahedron Lett.*, 1967, 137.
- [42] S.F. Mason, G.W. Vane, K. Schofield, R.J. Wells, J.S. Whitehurst, *J. Chem. Soc. B*, 1967, 553.
- [43] A. Amouche, F.J. Devlin, P.J. Stephens, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 2346.
- [44] F. Wang, P.L. Polavarapu, J. Drabowicz, P. Kiełbasiński, M.J. Potrzebowski, M. Mikołajczyk, M.W. Wieczorek, W.W. Majzner, I. Łażewska, *J. Phys. Chem. A*, 2004, **108**, 2072.
- [45] J. Autschbach, *Chirality*, 2009, **21**, E116.
- [46] N. Harada, P. Stephens, *Chirality*, 2010, **22**, 229.
- [47] N.M. O’Boyle, A.L. Tenderholt, K.M. Langner, *J. Comp. Chem.*, 2008, **29**, 839.
- [48] (a) N. Lin, F. Santoro, X. Zhao, A. Rizzo, V. Barone, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112**, 1092.
- [49] N. Lin, F. Santoro, A. Rizzo, Y. Luo, X. Zhao, V. Barone, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 4198.
- [50] M. Kwit, J. Gawronski, D.R. Boyd, N.D. Sharma, M. Kaik, *Org. Biomol. Chem.*, 2010, **8**, 5635.
- [51] P. Mukhopadhyay, P. Wipf, D.N. Beratan, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 809.
- [52] W. Koch, M.C. Holthausen, *A Chemist’s Guide to Density Functional Theory*, Wiley-VCH, Weinheim 2000.
- [53] C. Adamo, A. di Matteo, V. Barone, *Advances in Quantum Chemistry*, Academic Press, New York 1999, Vol. 36.
- [54] P. Geerlings, F. De Proft, W. Langenaeker, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 1793.
- [55] S. Grimme, *J. Chem. Phys.*, 2006, **124**, 034108.
- [56] K. Burke, J. Werschnik, E.K.U. Gross, *J. Chem. Phys.*, 2005, **123**, 062206.
- [57] J. Tirado-Rives, W.L. Jørgensen, *J. Chem. Theory Comput.*, 2008, **4**, 297.
- [58] Y. Zhao, D.G. Truhlar, *Acc. Chem. Res.*, 2008, **41**, 157.

- [59] J.R. Cheeseman, M.J. Frisch, F.J. Devlin, P.J. Stephens, *J. Phys. Chem. A*, 2000, **104**, 1039.
- [60] M. Kwit, M.D. Rozwadowska, J. Gawronski, A. Grajewska, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 8051.
- [61] W. Bicker, K. Kacprzak, M. Kwit, M. Lämmerhofer, J. Gawronski, W. Lindner, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 1027.
- [62] A. Grajewska, M.D. Rozwadowska, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, **18**, 803.
- [63] E. Giorgio, M. Roje, K. Tanaka, Z. Hamersak, V. Sunjic, K. Nakanishi, C. Rosini, N. Berova, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 6557.
- [64] T. Mori, Y. Inoue, S. Grimme, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 9797.
- [65] P.J. Stephens, D.M. McCann, F.J. Devlin, J.R. Cheeseman, M.J. Frisch, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 7514.
- [66] P.L. Polavarapu, *Chirality*, 2006, **18**, 348.

Praca wpłynęła do Redakcji 26 listopada 2010

POSZUKIWANIE NOWYCH LEKÓW IMMUNOSUPRESYJNYCH

QUEST FOR NEW IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS

**Krystyna Dzierzbicka^{1*}, Grzegorz Cholewiński¹,
Dorota Iwaszkiewicz-Grześ¹, Piotr Trzonkowski²**

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

² *Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii,
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Dębinki 7, 80-952 Gdańsk*

**e-mail:kd@chem.pg.gda.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Leki immunosupresyjne stosowane w medycynie
 - 1.1. Leki hamujące produkcję cytokin biorących udział w aktywacji komórek i ich klonalnej proliferacji
 - 1.2. Leki antyproliferacyjne (leki hamujące podziały komórkowe)
 - 1.3. Przeciwciała poliklonalne i monoklonalne
2. Nowe potencjalne leki immunosupresyjne
 - 2.1. Bakuchiol i jego pochodne
 - 2.2. Sotrastauryna (AEB071)
 - 2.3. Lipofilowe aminoalkohole i diaminy
 - 2.4. Cyklolinopeptyd A – inhibitor IL-1 i IL-2
 - 2.5. Pochodne 5,6-dihydroindolo[2,1-a]izochinoliny
 - 2.6. Pochodne chinoliny
 - 2.7. Pochodne iminocukrów
 - 2.8. Pochodne witaminy D₃
 - 2.9. *N*-Podstawione imidazolidin-2-ony oraz *N*-tetrahydropirymidin-2(1*H*)-ony
 - 2.10. Pochodne 3-metyloizoksazolo[5,4-*e*][1,2,4]triazepin-4-ony
 - 2.11. Alemtuzumab
 - 2.12. Depsipeptydy

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

dr hab. inż. Krystyna Dzierzbicka w roku 1985 ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej w specjalności Chemia i Technologia Organiczna. W tym samym roku podjęła pracę w Katedrze Chemii Organicznej PG, gdzie pracuje do chwili obecnej. W 1994 roku obroniła pracę doktorską, a w 2005 r. otrzymała tytuł doktora habilitowanego nauk chemicznych. Jest współautorem kilkunastu prac dotyczących syntezy i projektowania koniugatów muramylopeptydów i desmuramylopeptydów ze związkami o stwierdzonej lub domniemanej aktywności biologicznej, pochodnych akrydyny, akrydonu, batracyliny, antrachinonów czy tuft-syny. Obecnie zajmuje się syntezą związków immunosupresyjnych oraz syntezą niskocząsteczkowych peptydów o potencjalnym zastosowaniu w kosmetykach.

dr inż. Grzegorz Cholewiński w roku 2000 ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej na kierunku Technologia Chemiczna o specjalności Lekka Synteza Organiczna. W 2006 roku obronił pracę doktorską, w latach 2007/2008 odbył staż doktorski na Uniwersytecie w Leuven (Belgia) w zespole naukowym profesora Wima Dehaena. Obecnie pracuje w Katedrze Chemii Organicznej PG nad syntezą związków o potencjalnym działaniu immunosupresyjnym.

mgr inż. Dorota Iwaszkiewicz-Grześ w roku 2010 ukończyła studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej na kierunku Biotechnologia o specjalności Biotechnologia Żywności. W październiku 2010 roku rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Chemicznym PG w Katedrze Chemii Organicznej pod kierunkiem dr hab. inż. Krystyny Dzierzbickiej gdzie zajmuje się syntezą związków immunosupresyjnych.

dr hab. med. Piotr Trzonkowski – aktywnie zajmuje się immunologią od 1997 roku. Specjalizacja: (i) główna – immunologia (ii) dodatkowe – histologia, transplantologia (iii). Obecne zainteresowania naukowe dotyczą roli komórek regulatorowych w odporności i możliwości ich zastosowania w terapii immuno-supresyjnej po przeszczepach allogenicznych i w chorobach autoimmunologicznych. Prowadzi badania nad wykorzystaniem nowych związków immunosupresyjnych w terapii po przeszczepach narządowych. Zajmuje się też opisem funkcjonowania układu immunologicznego osób przewlekle hemodializowanych oraz po przeszczepie allogenicznym nerki oraz zaburzeń działania układu immunologicznego osób starszych.

ABSTRACT

Transplantology is getting more and more important in medicine. Development of surgical techniques and immunosuppressive treatment enabled to establish successful transplantations with various organs and tissues. However, allografts are recognized as foreign tissues and stimulate rejection, i.e. a strong immunological response which, if not stopped, results in complete destruction of the transplanted tissue. In order to prevent the rejection patients have to be treated with immunosuppressive drugs after transplantation. Unfortunately, such a damping of immune system poses a risk of cancer or severe infections. The treatment itself is also toxic, notably when applied in a long-term maintenance therapy. Currently, adverse effects of immunosuppressive drugs are recognized as the ones to be involved significantly in chronic rejection and limitation of long survival of grafted tissues. Whereas prevention of acute rejection is mostly successful, there is still no efficient treatment for chronic graft rejection. Reduction of a dose of immunosuppressive drugs or an invention of new active substances is considered the most promising solution.

Nowadays, immunosuppressive drugs can be divided into the three main groups: agents which inhibit production of cytokines taking part in cells' activation (glucocorticosteroids, calcineurine inhibitors, mTOR inhibitors), antiproliferative compounds (azathiopirin, mycophenolate mofetil, mycophenolic acid sodium salt), and antibodies.

In this article we present new investigations towards immunosuppressive drugs, their structures and synthetic methods.

Keywords: immunosuppressive activity, immunosuppressive drugs, glucocorticosteroids, CsA, FK506, tacrolimus, MPA, MMF, MPS

Słowa kluczowe: aktywność immunosupresyjna, leki immunosupresyjne, glikokortykosteroidy, CsA, FK506, takrolimus, MPA, MMF, MPS

WYKAZ STOSOWANYCH SKÓTÓW

| | |
|------------------|---|
| ATG | – globulina antylimfocytarna |
| <i>t</i> -BuOK | – <i>tert</i> -butanolan potasu |
| CbzCl | – chloromrówczan benzylu |
| DIC | – <i>N,N'</i> -diizopropylkarbodiimid |
| DMF | – <i>N,N</i> -dimetyloformamid |
| DTH | – reakcja nadwrażliwości typu późnego (ang. <i>delayed type hypersensitivity</i>) |
| DMAP | – 4-(<i>N,N</i> -dimetyloamino)-pirydyna |
| DMSO | – dimetylosulfotlenek |
| EDCI | – chlorowodorek 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu |
| FK506 | – takrolimus |
| GM-GSF | – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów |
| GVDH | – reakcja przeszczep przeciwko biorcy (ang. <i>graft-versus-host-disease</i>) |
| HOSU | – <i>N</i> -hydroksyimid kwasu bursztynowego |
| IL | – interleukina |
| ICAM | – białka adhezyjne, białka uczestniczące w przyleganiu komórek do siebie (ang. <i>intracellular adhesion molecule</i>) |
| IC ₅₀ | – stężenie hamujące proliferację komórek w 50% w stosunku do komórek kontrolnych |
| Ile | – izoleucyna |
| IMPDH | – dehydrogenaza inozyno-5'-monofosforanu |
| INF γ | – interferon γ |
| LDA | – diizopropylamidek litu |
| Leu | – leucyna |
| LiHMDS | – heksametylosilan litu |
| LiTMP | – tetrametylopirydyna litu |
| MHC | – układ zgodności tkankowej |
| MLR | – mieszana reakcja limfocytów (ang. <i>mixed lymphocyte reaction</i>) |
| MPA | – kwas mykofenolowy |
| MTT | – bromek [3-(4,5,-dimetylo-2-ilo)-2,5-difenylotetrazolu] |
| NBS | – <i>N</i> -bromosukcynoimid |
| NK | – naturalne komórki „zabójcze” (ang. <i>natural killer</i>) |
| OVA | – albumina jaja kurzego (ang. <i>ovalbumin</i>) |
| PCC | – chlorochromian pirydyny |
| Phe | – fenyloalanina |
| β -Phe | – β -fenyloalanina |

| | |
|---------------|---|
| PHA | – fitohemaglutynina |
| PI3-K | – rodzina lipidowych kinaz, mających zdolność fosforylowania grupy hydroksylowej w pozycji 3 pierścienia fosfotydyloinozytolu |
| Pro | – prolina |
| Py | – pirydyna |
| TBDMS | – <i>tert</i> -butylodimetylosilil |
| TBDMS-Cl | – chlorek <i>tert</i> -butylodimetylosililu |
| TNF- α | – czynnik martwicy nowotworu α |
| Val | – walina |

WPROWADZENIE

Transplantologia jako metoda leczenia nieuleczalnych chorób nabiera obecnie coraz większego znaczenia. Rozwój technik chirurgicznych i leczenia immunosupresyjnego umożliwił allotransplantacje różnych organów i tkanek. Przeszczep allogeniczny wywołuje silną reakcję odpornościową – odrzucanie – w wyniku której przeszczepiony organ jest niszczone. Dlatego też pacjenci po przeszczepie są zmuszeni do przyjmowania leków immunosupresyjnych tłumiących odpowiedź immunologiczną. Nie jest to jednak najskuteczniejsze leczenie ze względu na zwiększone ryzyko infekcji i nowotworzenia. Takie leczenie jest też toksyczne. Uboczne działanie leków immunosupresyjnych ma między innymi duży udział w odrzucaniu przewlekłym. Podczas, gdy przy użyciu leków immunosupresyjnych udało się ograniczyć występowanie odrzutów ostrych, wciąż nie ma skutecznego leczenia zapobiegającego i hamującego odrzucanie przewlekłe.

W latach siedemdziesiątych i osiemdziesiątych ubiegłego wieku udowodniono, że za odrzucanie przeszczepów odpowiadają głównie limfocyty efektorowe, zarówno T, jak i B oraz NK. Z kolei za indukcję tolerancji immunologicznej na przeszczepione tkanki odpowiadają głównie limfocyty regulatorowe. W 1995 roku opisano po raz pierwszy fenotyp regulatorowych limfocytów T jako $CD4^+CD25^+$ (T_{reg}) [1].

Immunologiczne odrzucanie przeszczepu jest mediowane przez limfocyty dwiema odrębnymi drogami: tzw. bezpośrednią i pośrednią prezentacją antygeny. Drogi te zostały odkryte i zdefiniowane po raz pierwszy przez Lechler'a i Batchelor'a [2]. Podczas bezpośredniej prezentacji antygeny, cząsteczki MHC dawcy występujące na jego komórkach prezentujących antygen (APC) są bezpośrednio rozpoznawane przez limfocyty T biorcy. Szybkość działania tego mechanizmu świadczy o jego udziale w pierwszych etapach ostrego odrzutu przeszczepionej tkanki. Ten rodzaj odpowiedzi jest wysoce wrażliwy na immunosupresję (np. na cyklosporynę A) [2]. Z czasem pula komórek APC dawcy ulega wyczerpaniu. Wtedy rozpoczyna swoje działanie drugi mechanizm prezentacji antygenów – pośredni, prowadzący nieuchronnie do stanu przewlekłego odrzucenia przeszczepu. Ten rodzaj alloreaktywności charakteryzuje się przetwarzaniem cząsteczek MHC dawcy i prezentacją ich fragmentów przez komórki prezentujące antygen biorcy, wywołując w ten sposób reakcję limfocytów T. W odróżnieniu od prezentacji bezpośredniej, pośrednia nie wykazuje zbyt dużej wrażliwości na cyklosporynę [2].

W ostatnim czasie został opisany jeszcze jeden mechanizm biorący udział w procesie odrzucania przeszczepianych tkanek i komórek, w którym dochodzi do aktywacji alloreaktywnych limfocytów T biorcy. Komórki dendrytyczne biorcy mogą nabyć obce cząsteczki MHC poprzez bezpośredni kontakt komórka-komórka. Nabyte w ten sposób MHC dawcy mogą stymulować odpowiedź limfocytów T. Drogę tę nazwano „semidirect”. Zdolność komórek dendrytycznych do przyswajania nietkniętych cząsteczek MHC obserwowano zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*. Dodatkowo komórki dendrytyczne wykazują tę umiejętność niezależnie od stopnia dojrzałości. Niezbyt istotne jest również źródło obcych MHC, mianowicie przyswa-

jalne są receptory z powierzchni obcych komórek dendrytycznych, komórek śródbłonna, jak również rozpuszczalne białka MHC. Wydaje się, że droga ta stanowi pomost pomiędzy alloreaktywnością bezpośrednią i pośrednią, które samodzielnie nie wykazują zdolności do wzajemnej regulacji [3]. Zdolność limfocytów T do rozpoznawania alloantygenów odgrywa kluczową rolę we wczesnej fazie odrzutu poprzez uwrażliwienie biorcy na antygeny dawcy. Niemniej jednak to prawdopodobnie droga pośrednia jest główną siłą doprowadzającą do destrukcji przeszczepionego narządu [4, 5]. Proponowanym obecnie rozwiązaniem jest ograniczanie dawek leków immunosupresyjnych i opracowywanie nowych mniej toksycznych leków.

Obecnie stosowane leki immunosupresyjne możemy podzielić na 3 główne grupy: do pierwszej zaliczamy leki hamujące produkcję cytokin biorących udział w aktywacji komórek (glikokortykosteroidy, inhibitory kalcyneuryny, inhibitory TOR), do drugiej grupy należą leki antyproliferacyjne hamujące podziały komórkowe (azatiopryna, mykofenolan mofetylu, sól sodowa kwasu mykofenolowego), a trzecią stanowią przeciwciała poliklonalne i monoklonalne.

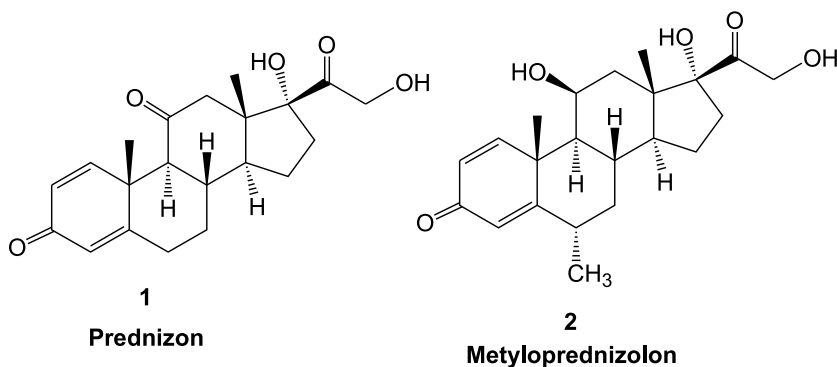
W artykule przedstawiono najnowsze kierunki poszukiwań leków immunosupresyjnych, ich struktury oraz metody otrzymywania.

1. LEKI IMMUNOSUPRESYJNE STOSOWANE W MEDYCYNIE

1.1. LEKI HAMUJĄCE PRODUKCJĘ CYTOKIN BIORĄCYCH UDZIAŁ W AKTYWACJI KOMÓREK I ICH KLONALNEJ PROLIFERACJI

- **Glikokortykosteroidy (GS) 1, 2** (Rys. 1) – najstarsza grupa leków immunosupresyjnych [6–10]:
 - wiążą się one ze swoistymi receptorami cytoplazmatycznymi znajdującymi się prawie we wszystkich komórkach organizmu, również w komórkach układu odpornościowego;
 - hamują syntezę wielu cytokin: IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF α , GM-CSF;
 - blokują indukowaną formę tlenku azotu (iNOS), a także cyklooksigenazę 2;
 - uczestniczą w szlaku powstawania prostaglandyn z kwasu arachidonowego;
 - pobudzają syntezę lipokortyn (receptory dla lipokortyn zostały wykryte na monocytach i neutrofilach), które będąc specyficznymi inhibitorami fosfolipazy A2, pośrednio hamują tworzenie leukotrienów przy udziale lipooksygenazy. W obecności lipokortyn zmniejsza się zdolność monocytów i neutrofilów do chemotaksji i fagocytozy;
 - zmniejszają ekspresję na powierzchni komórek cząsteczek MHC oraz cząsteczek adhezyjnych, np. ICAM czy selektyna E;

- w klinice są wykorzystywane w leczeniu chorób autoimmunologicznych i w zapobieganiu odrzucania przeszczepów narządowych;
- objawy uboczne GS wiążą się z ich oddziaływaniem na metabolizm białek, węglowodanów i tłuszczów, powoduje, np. osteoporozę, cukrzycę, choroby układu krążenia, jaskrę, zwiększoną podatność na infekcje.



Rysunek 1. Stosowane glikokortykosteroidy [7]

Figure 1. Glicocorticosteroids used in clinic [7]

- **Inhibitory kalcyneuryny – hamują działanie fosfatazy kalcyneuryny powodując obniżenie produkcji IL-2 i innych cytokin**

- **Cyklosporyna A (CsA) 3** (Rys. 2) [11, 12]:

- cykliczny undekapeptyd wytwarzany przez grzyb *Tolypocladium inflatum*;
- CsA jest lekiem z wyboru w transplantologii;
- CsA hamuje komórkowe i humoralne reakcje immunologiczne i modyfikuje reakcje zapalne;
- posiada ona zdolność do wybiórczego i odwracalnego hamowania odpowiedzi komórkowej przez zablokowanie aktywacji limfocytów T-pomocniczych;
- hamuje produkcję IL-2, IL-3, IL-4, INF- γ , GM-CSF, proliferację limfocytów T w odpowiedzi na mitogeny takie jak: PHA, MLR i DTH;
- CsA hamuje aktywację limfocytów T cytotoksycznych; w obecności IL-4 limfocyty te stają się jednak odporne na immunosupresyjne działanie CsA;
- opisano również bezpośrednie działanie CsA na komórki prezentujące antygen, bazofile, limfocyty B, jak również na różnicowanie limfocytów T w grasicy;
- istnieją doniesienia o spadku aktywności komórek NK pod wpływem CsA [13];
- CsA jest niezbędna we wczesnym etapie aktywacji limfocytów T (G_0 , wczesna G_1) dla wywołania efektu hamującego; etap aktywacji komórki wrażliwy na działanie CsA jest późniejszy niż wzrost wewnątrzkomórko-

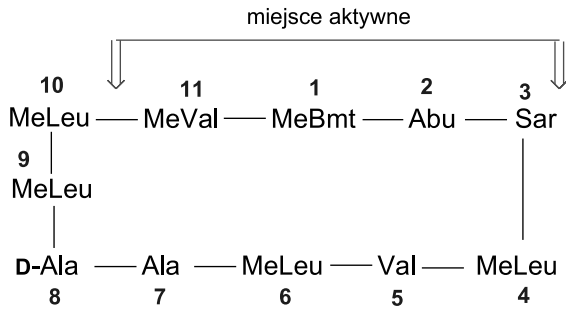
wego stężenia Ca^{+2} ; CsA nie jest lekiem, który w sposób znaczący hamuje wczesne etapy aktywacji limfocytów, a jej efekty nie są widoczne tuż po podaniu. Ze względu na hamowanie ścieżki sygnałowej zależnej od kalcyneuryny działanie CsA rozwija się w ciągu dni-tygodni, a dla utrzymania aktywności supresyjnej jej poziom musi być w sposób ciągły monitorowany w surowicy biorcy przeszczepów;

- CsA wiąże się z cyklofiliną, białkiem cytoplazmatycznym limfocytów T; kompleks CsA-cyklofilina wiąże kalcyneurynę, uniemożliwiając jej aktywację czynnika transkrypcyjnego pobudzającego transkrypcję IL-2;
- użycie wysokich dawek CsA jest w dużym stopniu limitowane przez jej nefrotoksyczność i działanie hipertensyjne; istnieją doniesienia o zwiększonym ryzyku zakrzepicy oraz tendencjach do krwawienia w wyniku toksycznego działania na śródbłonek; opisano również częstsze występowanie chłoniaków u pacjentów po terapii CsA;
- CsA była testowana także w terapii chorób autoimmunologicznych: reumatoidalnego zapalenia stawów (rzadko stosowana i raczej w ciężkich postaciach) [14], cukrzycy typu I (nie jest używana, brak poprawy i skutki uboczne), astmy (nie jest używana, brak poprawy i skutki uboczne), łuszczycy (stosowana w ciężkich postaciach) [15], zapalenia jagodówki (jest stosowana) [16];
- CsA posiada również aktywność przeciwgrzybiczą i przeciw pasożytniczą, które są niezależne od aktywności immunosupresyjnych.

Opisano także, że CsA okazała się inhibitorem oporności wielolekowej MDR zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* [17, 18].

Wśród syntetycznych pochodnych CsA na uwagę zasługuje (Val²)-dihydrocyklosporyna, która jest nieskuteczną w zapobieganiu odrzucania przeszczepu, efektywna natomiast w leczeniu przewlekłych stanów zapalnych, jednak jej silna hepatotoksyczność i działanie hipertensyjne spowodowały przerwanie badań klinicznych.

Za aktywność immunosupresyjną CsA odpowiada pierwszy dziewięć-węglowy aminokwas – butenylometylo-L-treonina [*N*-4-dimetylo-4(*R*)-(2(*E*)-butenyl)-L-treonina, MeBmt]. Obecność *trans* podwójnego wiązania C=C i podstawnika hydroksylowego w łańcuchu bocznym MeBmt są korzystnymi miejscami do modyfikacji cząsteczki. Dlatego większość projektowanych analogów CsA polega właśnie na modyfikowaniu łańcucha bocznego tego aminokwasu. W 2009 roku Yang i in. [19] opublikowali otrzymanie ketonu metylo-winyłowego cyklosporyny (Cs-MVK) **34** (Schemat 1).



MeBmt - *N*-4-dimetylo-4(*R*)-[2(*E*)-butenylo]-*L*-treonina

Abu - kwas *L*-2-aminobutanowy

Sar - sarkozyna (*N*-metyloglicyna)

MeLeu - *N*-metylo-*L*-leucyna

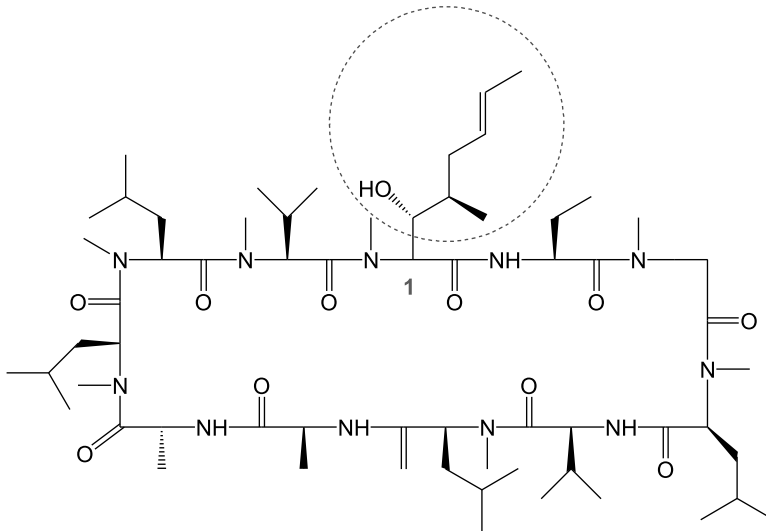
Val - *L*-walina

Ala - *L*-alanina

D-Ala - *D*-alanina

MeVal - *N*-metylo-*L*-walina

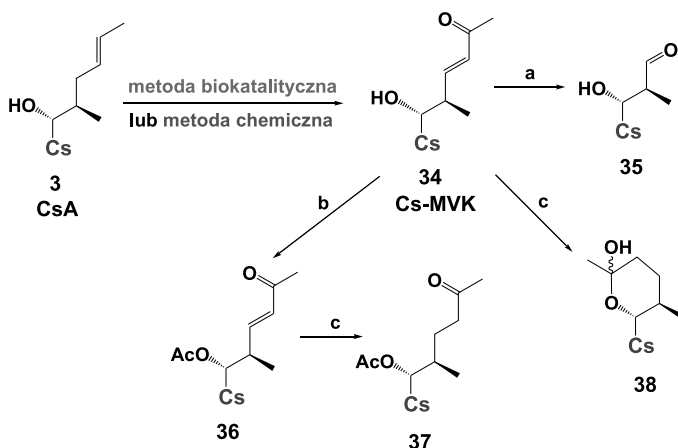
3



Cyklosporyna A (CsA)

Rysunek 2. Struktura cyklosporyny A (CsA) [19]

Figure 2. Structure of cyclosporine A (CsA) [19]



metoda biokatalityczna: lakaza, HOBt, eter *t*-butylowo-metylowy, bufor pH 5.6

metoda chemiczna: 70% wodoronadtlenek *t*-butylowy, KIO₄, eter koronowy (18-crown-6), aceton, benzen, woda, temp.pok.

a: O₃, CH₂Cl₂, -78°C, 20 min; Me₂S, -78°C do temp. pok.

b: Ac₂O, pirydyna, DMAP, CH₂Cl₂, temp. pok.

c: H₂, 10% Pd/C, MeOH, temp. pok.

Schemat 1. Otrzymywanie ketonu metylowo-winylowego CsA [19]

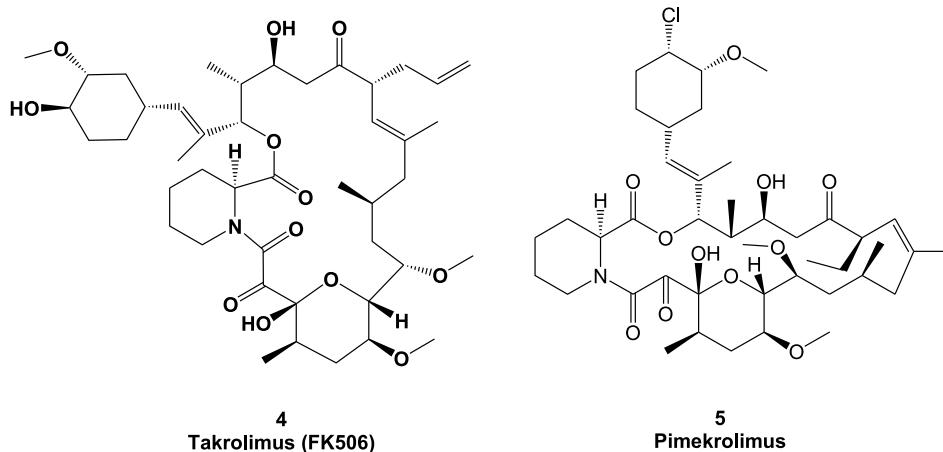
Scheme 1. Synthesis of methyl-vinyl ketone CsA [19]

Zaproponowano drogę syntezy metodą biokatalityczną wykorzystującą enzym lakazę w obecności mediatora HOBt otrzymując produkt z dobrą wydajnością, który potwierdzono metodą chemicznego utleniania z zastosowaniem wodoronadtlenku *t*-butylowego (*t*-BuOOH) i nadjodanu potasu (KIO₄) (Schemat 1). Cs-MVK jest uniwersalnym intermedialem, który może być wykorzystany do otrzymywania nowych analogów cyklosporyny o potencjalnej aktywności immunosupresyjnej **35–38**.

Takrolimus (FK506) 4 (Rys. 3) [20]:

- makrolid wyizolowany w 1984 roku z grzyba *Streptomyces tsukubaensis*;
- mechanizm działania polega na hamowaniu aktywności kalcyneuryny, a przez to również transkrypcji genów dla cytokin (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, INF- γ , TNF- α , GM-CSF);
- aktywny immunosupresyjnie w stężeniach znacznie niższych niż CsA;
- podobnie jak CsA hamuje jedynie te systemy przekaźnikowe, które są związane ze wzrostem wewnątrzkomórkowego stężenia Ca⁺²;
- wykazuje silne działanie synergistyczne z niskimi dawkami CsA;
- takrolimus podobnie jak pimekrolimus **5** (Rys. 3) (pochodna askomycyny
- selektywny inhibitor cytokin prozapalnych wytwarzanych przez aktywowane limfocyty T i komórki tuczne) są niesteroidowymi lekami immunosupresyjnymi do miejscowego stosowania w stanach zapalnych skóry, m.in. w zespole atopowego zapalenia skóry (ZAZS), w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry oraz w przewlekłym kontaktowym zapaleniu

skóry rąk. Leki te w 2003 roku zostały zarejestrowane w Polsce pod nazwami Elidel (pimekrolimus) i Protopic (takrolimus) [21].



Rysunek 3. Struktura takrolimusu 4 i pimekrolimusu 5 [20, 21]

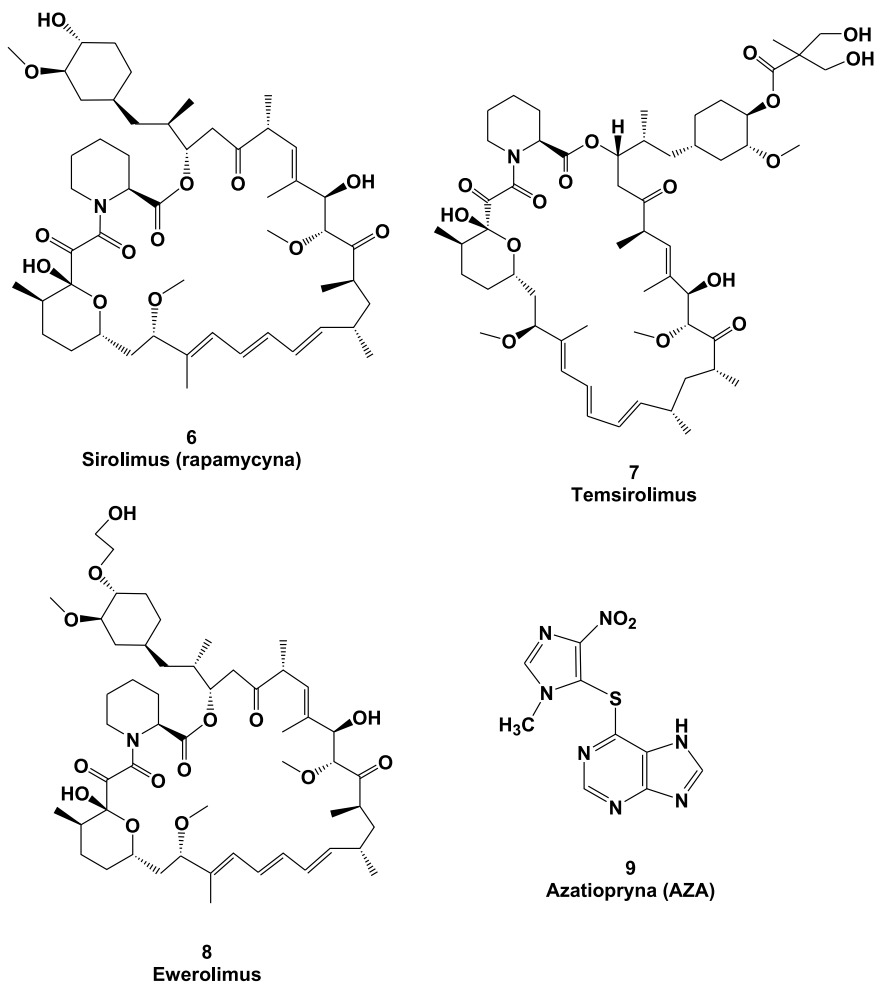
Figure 3. Structures of tacrolimus 4 and pimecrolimus 5 [20, 21]

- **Inhibitory TOR** – inhibitory szlaku PI3-K/Akt (inhibitory m-TOR)
 - rapamycyna, temsirolimus, everolimus – inhibitory kinazy serynowo-treoninowej m-TOR (ang. *mammalian target of rapamycin*), należącej do szlaku PI3-K, mającego wpływ na kontrolę wzrostu i przeżywalności komórek. Kinaza m-TOR bierze udział w regulacji inicjacji translacji, transkrypcji i procesu degradacji białek. Zablokowanie m-TOR uniemożliwia komórce przejście z fazy G_1 do S.

Sirolimus (Rapamycyna) 6 (Rys. 4) [22, 23]:

- naturalny antybiotyk makrolidowy produkowany przez szczep bakterii z gatunku *Streptomyces higroscopicus*;
- nie hamuje ona produkcji IL-2, lecz blokuje odpowiedź limfocytów T na egzogenną IL-2 lub IL-4 (etap niewrażliwy na FK506 i CsA);
- w odróżnieniu od FK506 i CsA, działających na granicy faz G_0 i G_1 , blokuje ona progresję komórki w cyklu komórkowym w fazie G_1 ;
- CsA wzmacnia efekt immunosupresyjny rapamycyny.

Obecnie prowadzonych jest wiele badań dotyczących zastosowania rapamycyny w leczeniu nowotworów, np. w terapii raka nerki badano rozpuszczalną w wodzie pochodną – CCI-779 (temsirolimus) 7 (Rys. 4).



Rysunek 4. Inhibitory TOR **6-8** oraz lek antyproliferacyjny – AZA **9**

Figure 4. TOR inhibitors **6-8** and antiproliferative drug – AZA **9**

Ewerolimus (everolimus, pochodna rapamycyny) 8 (Rys. 4) [24]:

- stosowany w transplantologii w zapobieganiu odrzucania przeszczepu;
- działając na limfocyty prowadzi do zahamowania ich proliferacji i ekspansji klonalnej;
- mechanizm działania opiera się na inhibicji białka kinazy m-TOR (FRAP), mającego wpływ na procesy wzrostu i proliferacji komórek;
- działa na proliferację komórek stymulowaną czynnikami wzrostu, w tym miocytów gładkich ściany naczyń krwionośnych;
- w porównaniu z rapamycyną ma większą biodostępność i krótszy okres półtrwania; działa synergistycznie z CsA (pozwala to na zmniejszenie

dawki CsA przy zachowanej skuteczności, np. w zapobieganiu ostremu odrzucaniu przeszczepu nerki).

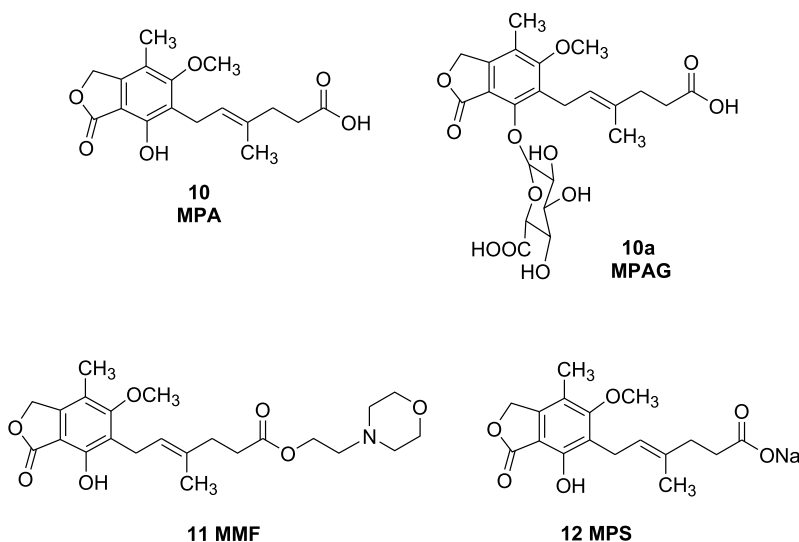
1.2. LEKI ANTYPROLIFERACYJNE (LEKI HAMUJĄCE PODZIAŁY KOMÓRKOWE)

Azatiopryna (AZA) 9 (Rys. 4) [25]:

- imidazolowa pochodna 6-merkaptopuryny (jeden z pierwszych leków immunosupresyjnych stosowanych w klinice, przez wiele lat w połączeniu z GS był standardem w zapobieganiu odrzucania przeszczepu, w 1978 roku została zastąpiona CsA);
- w organizmie ulega przemianie do kwasu 6-tioinozynowego, który zastępuje cząsteczki zasad purynowych prowadząc do zahamowania syntezy kwasów nukleinowych w limfocytach stymulowanych antygenem;
- działa głównie na komórki dzielące się, hamuje proliferację limfocytów T oraz w mniejszym stopniu także limfocytów B;
- stosowany przede wszystkim w profilaktyce odrzucania przeszczepów, znajduje także zastosowanie w leczeniu niektórych chorób autoimmunizacyjnych;
- poważnym efektem ubocznym jest hamowanie funkcji szpiku, a także jego hepatotoksyczność.

Mykofenolan mofetylu 11 i sól sodowa kwasu mykofenolowego 12 (Rys. 5) [26–30]:

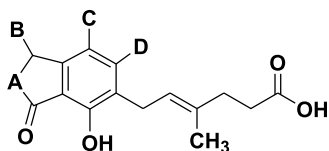
Kwas mykofenolowy (MPA) 10 – inhibitor IMPDH, blokuje syntezę puryn *de novo*, a w rezultacie nukleotydów guanozynowych i powoduje obumieranie limfocytów T. W 1995 roku ester morfolinowy kwasu mykofenolowego – mykofenolan mofetylu (MMF) **11** został zatwierdzony przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA), jako środek zmniejszający ryzyko odrzucenia przeszczepów narządów, takich jak: nerki, wątroba i serce. Obecnie lek ten jest sprzedawany również w Polsce (CellCept[®], Roche AG). Inną postacią leku jest sól sodowa kwasu mykofenolowego **12** (MPS, Myfortic[®], Novartis Farma AG). Zarówno MMF jak i MPS stosuje się w połączeniu z innymi immunosupresantami, takimi jak kortykosteroidy, cyklosporyna, czy takrolimus. Nie udało się jednak całkowicie wyeliminować ryzyka odrzucania przeszczepu oraz efektów ubocznych takich jak: biegunka, wymioty, nudności, łysienie, podwyższone ryzyko infekcji.



Rysunek 5. Struktura kwasu mykofenolowego **10**, koniugatu z kwasem glukuronowym **10a**, mykofenolanu mofetylu **11** oraz soli sodowej MPA **12** [26]

Figure 5. Structures of mycophenolic acid **10**, conjugate with glucuronic acid **10a**, mycophenolate mofetil **11** and sodium salt of mycophenolic acid **12** [26]

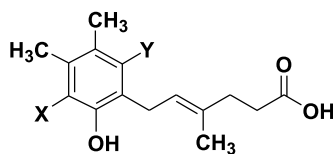
Wykazano, że dla zachowania biologicznej aktywności MPA niezbędna jest obecność w cząsteczce fenolowej grupy hydroksylowej oraz grupy metylowej związanej z pierścieniem aromatycznym. Zsyntetyzowano szereg analogów MPA, np. **13–16** (Rys. 6) w celu wyeliminowania szkodliwych efektów ubocznych terapii z jego udziałem [31–34]. Otrzymane dotychczas analogi m.in. zawierające różne cykliczne ugrupowania **13**, monocykliczne fenole **14** i niefenolowe analogi **15** oraz monocykliczne aminy **16**, poza nielicznymi wyjątkami, odznaczają się gorszymi właściwościami farmakologicznymi niż sam kwas mykofenolowy. Zastąpienie w pierścieniu aromatycznym grupy metoksylowej etylową lub winylową prowadzi do silniejszych inhibitorów IMPDH w porównaniu z MPA, a zastąpienie laktonowego pierścienia innym cyklicznym fragmentem powoduje utratę aktywności. Pochodne, w których wiązanie podwójne o konfiguracji *trans* zostało zastąpione różnymi grupami czy wprowadzenie do łańcucha bocznego heteroatomu prowadziły do znaczącego spadku aktywności albo całkowitej jej utraty.



13

zawierające różne cykliczne ugrupowania

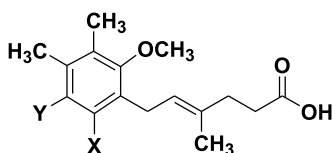
- np. a. A = S; B = H; C = CH₃; D = OCH₃
 b. A = NH; B = H; C = CH₃; D = OCH₃
 c. A = CH₂; B = H; C = CH₃; D = OCH₃
 d. A = O; B = H; C = CH₃; D = OH



14

monocykliczne fenole

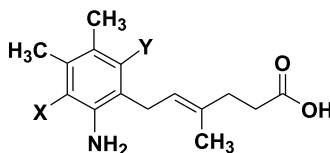
- np. a. X = H; Y = OCH₃
 b. X = CH₃; Y = OCH₃
 c. X = F; Y = OCH₃
 d. X = Cl; Y = OCH₃



15

niefenolowe analogi

- np. a. X = H; Y = Cl
 b. X = H; Y = Br
 c. X = H; Y = NO₂
 d. X = H; Y = NH₂



16

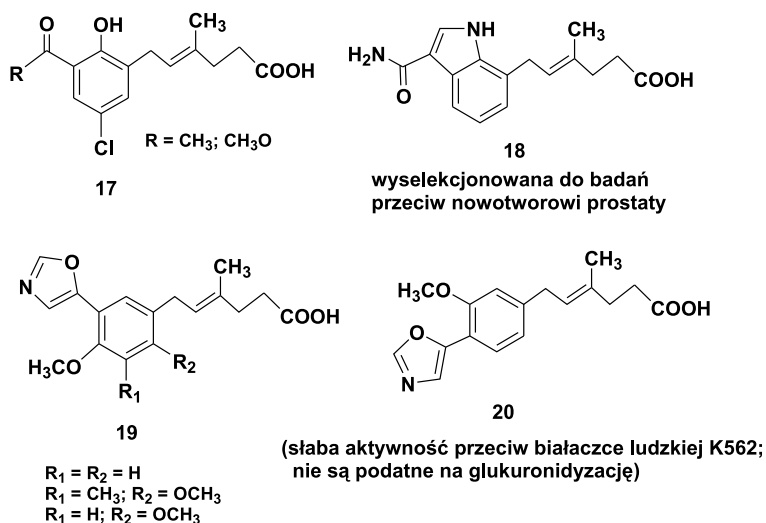
monocykliczne aminy

- np. a. X = H; Y = CH₃
 b. X = Br; Y = CH₃
 c. X = Br; Y = OCH₃
 d. X = CN; Y = OCH₃

Rysunek 6. Przykładowe analogi MPA [26]

Figure 6. Examples of MPA analogs [26]

MPA i jego pochodne, np. **17–20** (Rys. 7) były również testowane klinicznie w różnych typach nowotworów jednak bez znaczących sukcesów. Główną przyczyną niepowodzeń było tworzenie się koniugatów z kwasem glukuronowym **10a** (Rys. 5) co utrudniało utrzymanie odpowiedniego stężenia leku dla wykazania aktywności przeciwnowotworowej.



Rysunek 7. Analogi MPA o aktywności przeciwnowotworowej [26]

Figure 7. MPA analogs with anticancer activity [26]

1.3. PRZECIWCIAŁA POLIKLONALNE, MONOKLONALNE PRZECIWCIAŁA SKIEROWANE WOBEC RECEPTORÓW IL-2 (ANTY CD25) ORAZ PRZECIWCIAŁA SKIEROWANE PRZECIW LIMFOCYTOM CD52 I CD20

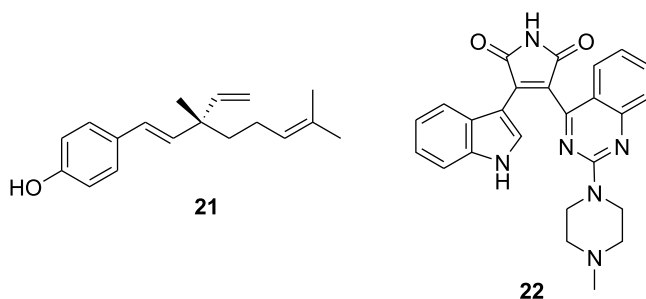
Najważniejsze stosowane przeciwciała monoklonalne: daklizumab (humanizowane przeciwciało monoklonalne przeciwko receptorowi IL-2), bazyliksymab (chimeryczne ludzko-mysie przeciwciało przeciwko łańcuchowi alfa receptora dla IL-2) to przeciwciała hamujące działanie szlaków sygnałowych zależnych od IL-2. Druga grupa to przeciwciała lityczne, których funkcja polega na zabijaniu limfocytów. Do tej grupy należą muromonab-CD3 (mysie przeciwciało monoklonalne przeciwko antygenowi CD3 limfocyta T), rituximab (chimeryczne przeciwciało przeciw antygenowi CD20 limfocytów B), alemtuzumab (CAMPATH – humanizowane przeciwciało monoklonalne przeciw antygenowi CD52 obecnemu na wszystkich limfocytach) oraz poliklonalne królicze lub końskie surowice antylimfocytarne (tymoglobulina i ATG) [35].

2. NOWE POTENCJALNE LEKI IMMUNOSUPRESYJNE

Ze względu na liczne efekty uboczne (nefrotoksyczność, neurotoksyczność, zwiększenie ryzyka infekcji, cukrzyca będąca efektem leczenia po transplantacji, nadciśnienie, hiperlipidemia) poszukuje się nowych leków immunosupresyjnych.

2.1. BAKUCHIOL I JEGO POCHODNE

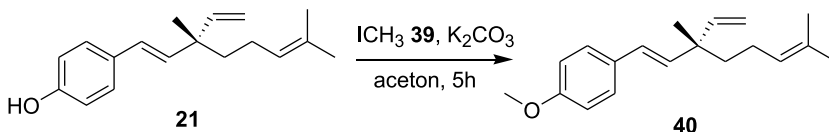
Bakuchiol **21** (Rys. 8) jest terpenem izolowanym z nasion *Psoralea corylifolia* L [36]. Lecznicze działanie tego związku jest wykorzystywane w indyjskiej oraz chińskiej medycynie ludowej i wiąże się z jego aktywnością antybakteryjną, antyoksydacyjną. Ostatnio badano również właściwości immunosupresyjne bakuchioli i jego pochodnych.



Rysunek 8. Struktura bakuchioli **21** [36] i sotrastauryny **22** [37]
Figure 8. Structures of bakuchiol **21** [36] and sotrastaurine **22** [37]

Nie stwierdzono znaczącego wpływu konfiguracji na chiralnym atomie węgla oraz geometrii wiązania podwójnego w części alifatycznej na aktywność immunosupresyjną. Niektóre modyfikacje struktury bakuchioli mają wyraźny wpływ na inhibicję limfocytów w testach *in vitro*. Okazało się, że:

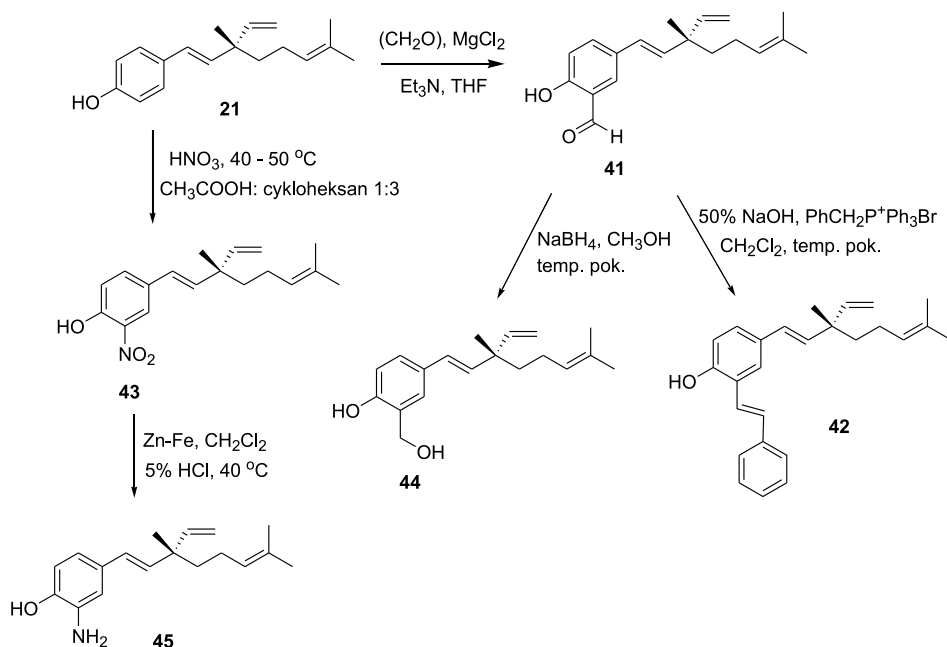
1. zastąpienie grupy hydroksylowej w pierścieniu fenyłowym grupą metoksyłową (**40**) zwiększa właściwości immunosupresyjne. *O*-Alkilowanie bakuchioli **21** przeprowadzono jodkiem metylu **39** w obecności zasady (Schemat 2);



Schemat 2. *O*-Metylowanie bakuchioli [36]
Scheme 2. *O*-Methylation of bakuchiol [36]

2. wprowadzenie w pozycji *orto* grupy sprzęgającej się z elektronami π pierścienia aromatycznego (**41**, **42**) zwiększa działanie immunosupresyjne, z wyjątkiem pochodnej nitrowej **43** (Schemat 3). Przekształcenia syntetyczne polegały na formylowaniu pierścienia fenolowego **21** w obecności chlorku magnezu (**41**), reakcji Wittiga (**42**) oraz mononitrowania (**43**);

3. wprowadzenie grupy elektronodonorowej (**44**, **45**) nie wpływa znacząco na działanie immunosupresyjne (Schemat 3). Synteza związków **44**, **45** obejmuje redukcję aldehydu **41** oraz pochodnej nitrowej **43**.



Schemat 3. Modyfikacje syntetyczne bakuchiolu [36]

Scheme 3. Synthetic modifications of bakuchiol [36]

2.2. SOTRASTAURYNA (AEB071)

Sotrastauryna **22** (Rys. 8) jest selektywnym inhibitorem kinazy białkowej C [37–39]. Kinazy białkowe C należą do rodziny kinaz serynowo-treoninowych (fosforylujących reszty serynowe i treoninowe). Pełnią one istotną rolę w regulacji układu immunologicznego i aktywacji komórek T.

Badania aktywności biologicznej wykazały, że mechanizm jest inny aniżeli w przypadku cyklosporyny A i sugerują inhibicję wczesnej aktywacji komórek T.

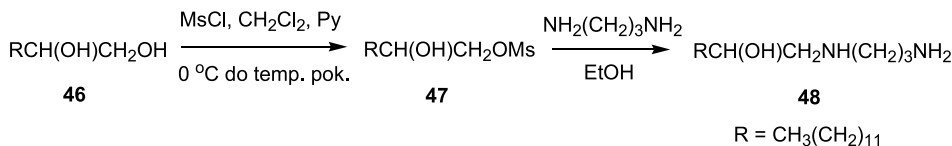
Lek immunosupresyjny oparty na sotrastauryinie jest obecnie opracowywany przez firmę Novartis. Przeprowadzono II fazę badań klinicznych na zdrowych ochotnikach i po przeszczepie nerki, w połączeniu z takrolimusem i solą sodową kwasu mykofenolowego. Próby te zostały przerwane ze względu na pojawianie się ostrego odrzucania przeszczepu. Planuje się badania kliniczne sotrastauryiny w połączeniu z ewerolimusem.

Przy pomocy sotrastauryny uzyskano obiecujące wyniki w leczeniu łuszczycy. Lek był dobrze tolerowany podczas 2 tygodni doustnego podawania. Odnotowano jednak efekty uboczne, takie jak: ból głowy, wymioty, biegunka. Badania nad stosowaniem sotrastauryny jako leku immunosupresyjnego wciąż trwają.

2.3. LIPOFILOWE AMINOALKOHOLE I DIAMINY

Lipofilowe aminoalkohole i diaminy opisano w literaturze jako związki o działaniu przeciwpasożytniczym, przeciwbakteryjnym oraz immunomodulacyjnym [40].

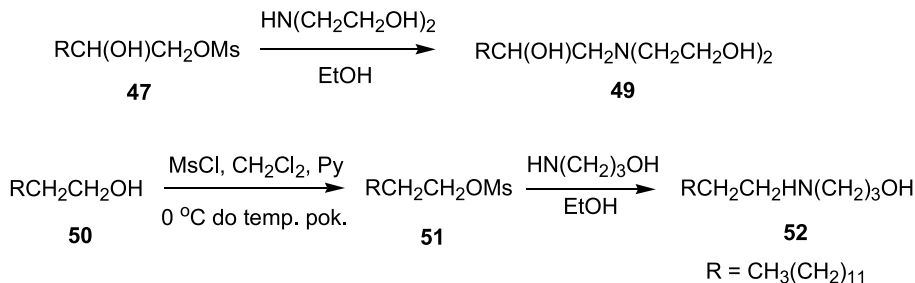
Niżej przedstawiona pochodna **48** (Schemat 4) jest przykładem substancji wykazującej działanie immunosupresyjne w testach *in vitro*. Związek ten otrzymano z diolu **46**, którego pierwszorzędową grupę hydroksylową selektywnie sulfonowano za pomocą chlorku metylosulfonowego [40]. Następnie grupa metylosulfonowa związku **47** ulega podstawieniu w reakcji z odpowiednią diaminą do produktu **48**.



Schemat 4. Synteza lipofilowych diamin [40]

Scheme 4. Preparation of lipophilic diamines [40]

Otrzymano również aminoalkohole **49**, **52** (Schemat 5), które okazały się obiecującymi immunosupresantami w testach DTH względem OVA, czyli hamujących nadwrażliwość typu późnego. Warto zwrócić uwagę na fakt, iż takie pochodne mogą okazać się bardzo obiecujące, gdyż przykładem nadwrażliwości typu późnego jest reakcja odrzucania gospodarza (GVDH), która to stanowi poważny problem w transplantologii. Aminoalkohol **49** otrzymano działając na substrat **47** etanoloaminą, z kolei produkt **52** uzyskano z alkoholu **50** poprzez reakcję podstawienia estru kwasu metylosulfonowego **51** 3-aminopropanolem [40].



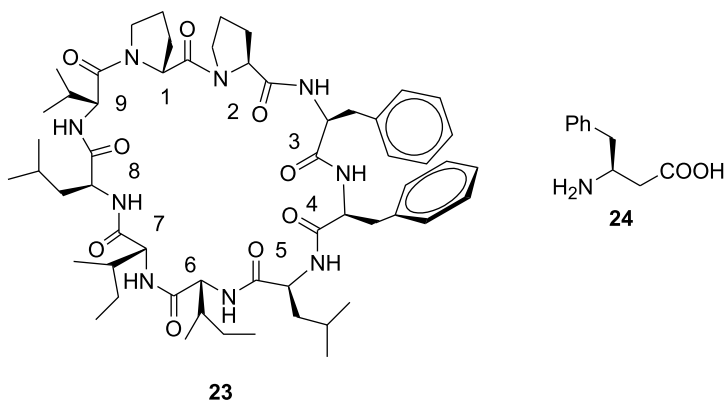
Schemat 5. Synteza lipofilowych aminoalkoholi [40]

Scheme 5. Preparation of lipophilic aminoalcohols [40]

2.4. CYKLINOPEPTYD A – INHIBITOR IL-1 I IL-2

Cyklinopeptyd A **23** (Rys. 9) jest cyklicznym nonapeptydem wyizolowanym z oleju lnianego. Związek ten posiada silne właściwości immunosupresyjne. Badania aktywności biologicznej pochodnych cyklinopeptydu A wykazały, że dla zachowania działania immunosupresyjnego istotne są następujące elementy strukturalne: obecność sekwencji Pro¹-Pro²-Phe³-Phe⁴, geometria *cis* wokół wiązania amidowego Pro¹-Pro² oraz oddziaływania typu krawędź–powierzchnia pomiędzy pierścieniami aromatycznymi reszt Phe.

Najnowsze badania wykazały, że aktywność immunosupresyjną porównywalną do cyklosporyny A posiadają także liniowe analogi nonapeptydu, jak również pochodne zawierające jednostki β-feniloalaniny **24** (Rys. 9) zamiast fenyloalaniny [41]. Dodatkowa grupa metylenowa powoduje znaczące zmiany w konformacji cząsteczki i nie wykazuje ona oddziaływania typu krawędź–powierzchnia pomiędzy pierścieniami aromatycznymi. Natomiast geometria *cis* wokół wiązania amidowego Pro¹-Pro² pozostaje zachowana w *c*(Ile⁶-Ile⁷Leu⁸-Val⁹-Pro¹-Pro²-β³Phe³-Phe⁴-Leu⁵) [41].



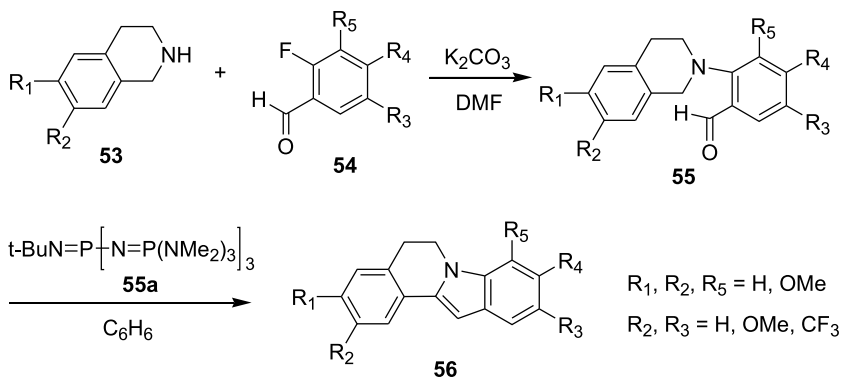
Rysunek 9. Struktura cyklinopeptydu A **23** i β-feniloalaniny **24** [41]

Figure 9. Structures of cyclinopeptide A **23** and β-phenylalanine **24** [41]

2.5. POCHODNE 5,6-DIHYDROINDOLO[2,1-α]IZOCHINOLINY

Pochodne typu **56** (Schemat 6) są inhibitorami IL-2, IL-10 oraz IFN-γ. Badania wykonano na komórkach mysiej śledziony zainfekowanych wirusem grypy. IL-2 jest produkowana głównie przez komórki pomocnicze T i podczas infekcji grypowej pełni istotną rolę w aktywacji komórek T. Wszystkie z otrzymanych pochodnych wykazały znaczące działanie immunosupresyjne, a także obniżenie żywotności komórek, co może wiązać się z hamowaniem produkcji cytokin. Testy żywotności prowadzono w hodowlach komórek śledziony niezainfekowanych myszy [42].

Substratem w syntezie **56** są pochodne 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny **53**, które reagują z fluorkami aromatycznymi **54** dając aldehyd **55**. Następnie związek **55** w obecności fosfazyny **55a** (zasada o bardzo dużym zatłoczeniu sterycznym) ulega cyklizacji do **56**. Na uwagę zasługuje fakt, iż zastosowanie takich zasad jak: *t*-BuOK, LDA, Li-TMP, KH nie dawało produktu cyklizacji [42].



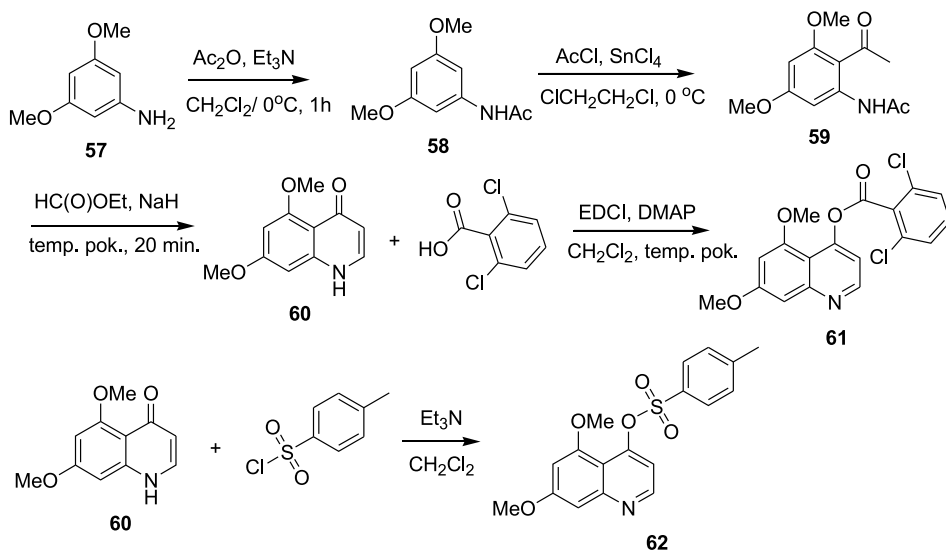
Schemat 6. Otrzymywanie pochodnych 5,6-dihydroindolo[2,1-a] izochinoliny [42]

Scheme 6. Synthesis of derivatives of 5,6-dihydroindolo[2,1-a] isoquinolines [42]

2.6. POCHODNE CHINOLINY

Znane są liczne przykłady naturalnych związków heterocyklicznych zawierających w swojej strukturze szkielet chinoliny, a posiadające właściwości przeciwmalaryczne, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwegzucicze, przeciwnowotworowe. Pochodne **61**, **63** (Schemat 7) wykazują działanie immunosupresyjne w stopniu porównywalnym z cyklosporyną A [43].

Badania wykonano metodą testu kolorymetrycznego MTT, gdzie proliferację limfocytów T indukowano konkanawaliną A. Związki te otrzymywano z 3,5-dimetoksyaniliny **57**, którą w pierwszym etapie poddano *N*-acylowaniu do **58**, a następnie acylowaniu w pierścieniu aromatycznym. Kolejny etap polega na formylowaniu ketonu **59** przy użyciu mrówczanu etylu i cyklizacji do 5,7-dimetoksychinolin-4(1*H*)-onu **60**. 2,6-Dichlorobenzoesan 5,7-dimetoksychinolin-4-ylu **61** otrzymano w reakcji sprzęgania pochodnej **60** z kwasem 2,6-dichlorobenzoesowym. Z kolei traktowanie **60** chlorkiem *p*-toluenosulfonowym prowadzi do *p*-toluenosulfonianu 5,7-dimetoksychinolin-4-ylu **62** [43].

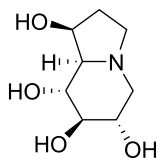


Schemat 7. Synteza pochodnych chinoliny [43]

Scheme 7. Synthesis of quinoline derivatives [43]

2.7. POCHODNE IMINOCUKRÓW

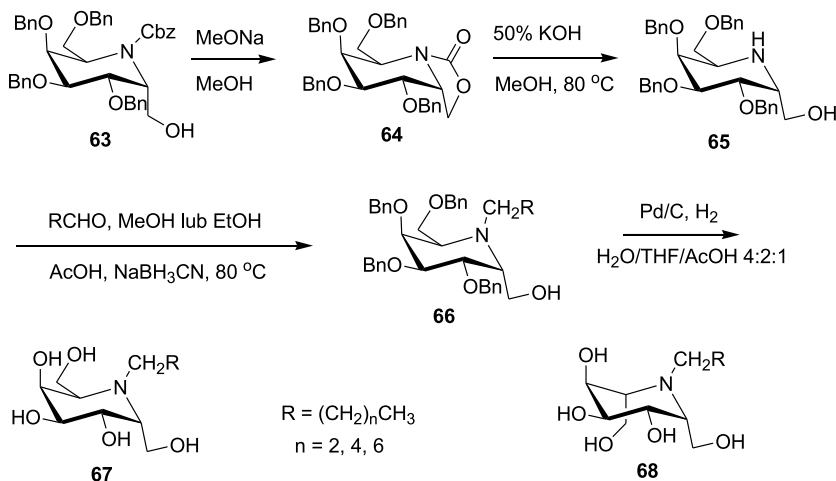
Iminocukrowe pochodne uważane są niekiedy za „cukrowe alkaloidy”. Niektóre z tych związków są inhibitorami enzymów regulujących metabolizm węglowodanów (glikozydazy, glikozylotransferazy). Z uwagi na fakt, iż takie enzymy biorą udział w ważnych procesach biologicznych, pochodne iminocukrów są związkami o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, przeciwwirusowym, przeciwcukrzycowym. W literaturze naukowej niewiele jest danych na temat właściwości immunosupresyjnych tego typu pochodnych. Kastanospermina **25** (Rys. 10) jest jednym z niewielu zbadanych cukrowych alkaloidów, który wykazuje właściwości immunosupresyjne [44].


25

Rysunek 10. Struktura kastanosperminy [44]

Figure 10. Structure of castanospermine [44]

Jak dotąd otrzymano i zbadano m.in. iminowe pochodne D-galaktozy **67** (Schemat 8). Spośród tej grupy związków aktywność immunosupresyjną najbardziej zbliżoną do cyklosporyny A wykazała pochodna zawierająca 6 atomów węgla w łańcuchu R ($n = 4$). Stwierdzono, że aktywność analogicznych pochodnych L-altozy **68** okazała się niższa aniżeli **67**, co wskazuje, że konfiguracja na węglu C6 ma istotne znaczenie. Ponadto wyniki tych eksperymentów sugerują, że hydrofobowy łańcuch alkilowy na atomie azotu jest istotny dla właściwości immunosupresyjnych tych pochodnych. Jednak dokładny mechanizm ich działania nie został do tej pory poznany. Badania przeprowadzono metodą MTT, polegały one na oznaczeniu proliferacji splenocytów u myszy wywoływanej konkanawaliną A, w obecności badanego związku.



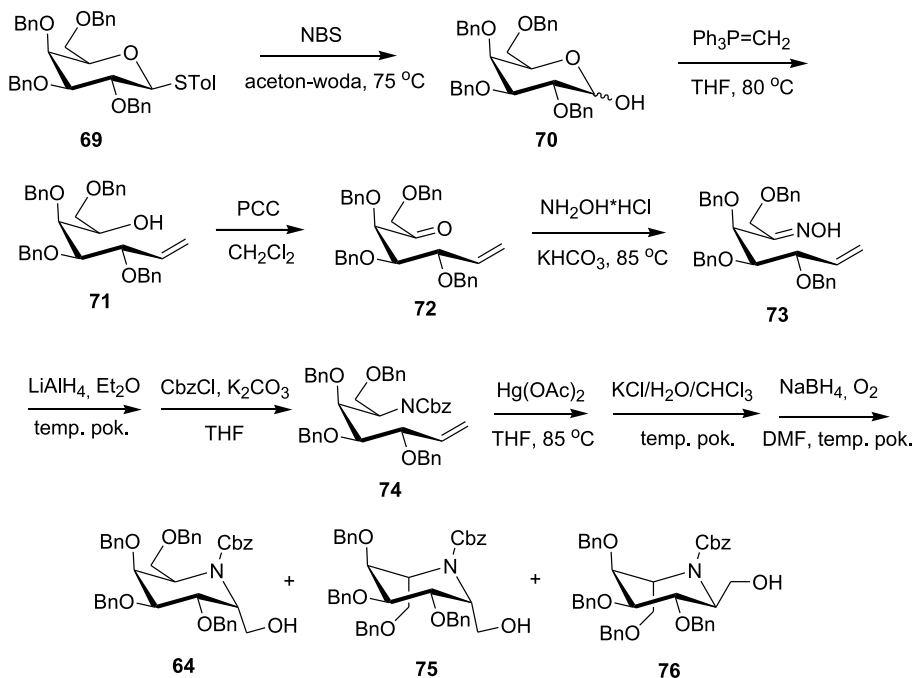
Schemat 8. Otrzymywanie iminowej pochodnej D-galaktozy **68** [45]

Scheme 8. Synthesis of the iminosugar derivative of D-galactose **68** [45]

Do syntezy iminowej pochodnej D-galaktozy **67** użyto alkoholu **63** posiadającego chronioną grupę aminową. Reakcja z metanolanem sodu powoduje podstawienie grupy benzyloksylowej w reszcie karboksybenzylowej przez metoksyl i cyklizację do laktonu **64**. Następnie hydroliza estru **64** daje alkohol **65** z niechronioną grupą aminową. Z kolei redukcyjna aminacja związku **65** prowadzi do trzeciorzędowej aminy **66**. Ostatnim etapem jest deprotekcja reszt alkoksylowych do związku **67** [45].

Wyjściowy alkohol **63** otrzymano w mieszaninie z dwoma innymi cyklicznymi izomerami **75**, **76** z odpowiedniego tioglikozydu **69** (Schemat 9). Grupę tiolową usuwa się w reakcji rodnikowej z NBS. Otrzymany w ten sposób hemiacetal **70** przeprowadzono z wykorzystaniem reakcji Wittiga w alken **71**, który to został utleniony do ketonu **72**. Związek ten traktowano hydroksyloaminą, a uzyskany w ten sposób oksym **73** redukowano glinowodorkiem litu a produkt redukcji traktowano chloromrówczanem benzyłu. Cyklizacja **74** zachodzi na skutek aminortęciowania,

następnie reakcji z NaBH_4 w obecności tlenu, co pozwoliło na otrzymanie trzech izomerycznych, dających się wyizolować alkoholi **63**, **75**, **76** z wydajnościami odpowiednio 26 %, 29 % i 10 %. Autorzy wyjaśnili brak czwartego możliwego izomeru stereoselektywnością reakcji aminortęciowania pochodnej **74** [46].

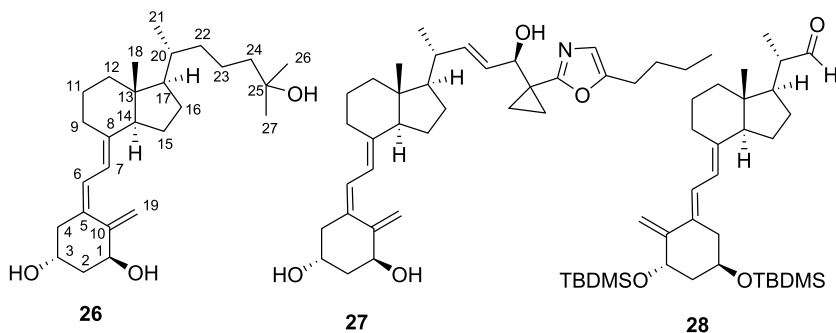


Schemat 9. Droga syntezy hydroksylowej pochodnej D-galaktozy **64** [46]

Scheme 9. Synthetic pathway to the hydroxyl derivative of D-galactose **64** [46]

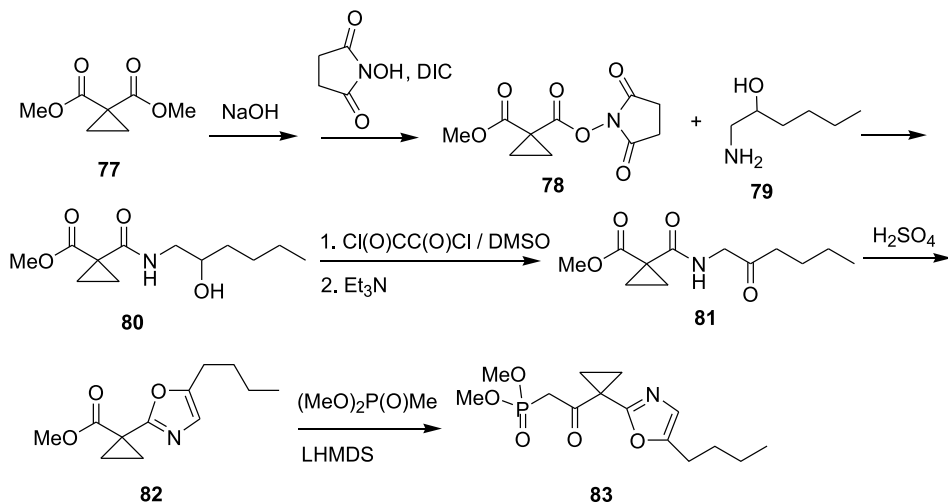
2.8. POCHODNE WITAMINY D_3

1,25-Dihydroksywitamina D_3 (kalcytriol) **26** (Rys. 11) jest związkiem charakteryzującym się znaczącą aktywnością immunosupresyjną zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*. Jednak istotnym efektem ubocznym podczas stosowania kalcytriolu **26** jest hiperkalcemia, stąd przeprowadzono liczne jego modyfikacje strukturalne, w tym dotyczące budowy łańcucha bocznego. Pochodna **27** (ZK 191784) nie powoduje hiperkalcemii, ponadto związek ten jest obiecujący jako potencjalny lek przeciwko łuszczycy. Cząsteczka **27** zawiera w swojej strukturze łańcuch boczny z fragmentem 1,3-oksazolu.



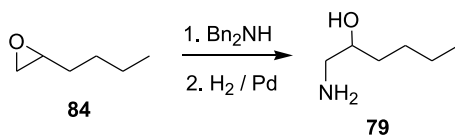
Rysunek 11. Witamina D₃ i jej pochodne [47–49]
Figure 11. Vitamin D₃ and its derivatives [47–49]

Substratem wyjściowym w syntezie ZK 191784 **27** była pochodna **28**, z kolei łańcuch boczny związku **27** otrzymano w następującej sekwencji reakcji (Schemat 10) [47–49].



Schemat 10. Synteza łańcucha bocznego pochodnej **83** (ZK 191784) [47]
Scheme 10. Synthesis of side-chain of the derivative **83** (ZK 191784) [47]

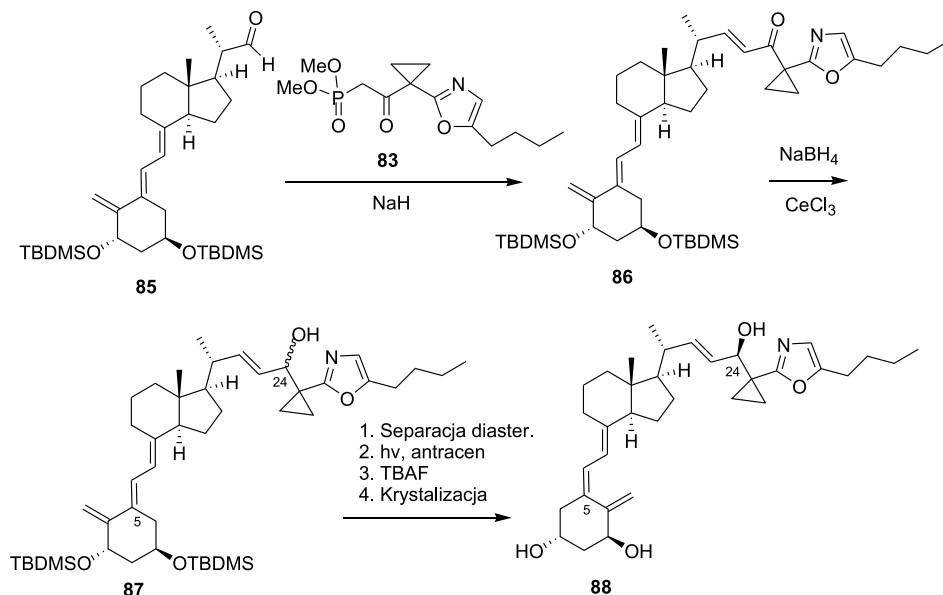
Cyklopropylowy analog malonianu dietylu **77** poddano selektywnej hydrolizie i sprzężeniu z HOSU w obecności DIC do aktywnego estru **78**. W kolejnym etapie **78** reaguje z 2-hydroksy(*n*-heksyloaminą) dając alkohol **80**, który to poddano utlenianiu Swerna. Tak otrzymany keton **81** cyklizuje pod wpływem kwasu do pochodnej oksazolu **82**. Następnie reakcja z estrem dimetylowym kwasu metanofosfonowego w obecności zasady prowadzi do produktu **83**. użytą w syntezie 2-hydroksy(*n*-heksyloaminę) **79** otrzymano w reakcji 1,2-epoksyheksanu **84** z dibenzylaminą, a następnie uwodornieniu w obecności katalizatora (Schemat 11).



Schemat 11. Otrzymywanie 2-hydroksy(*n*-heksyloaminy) [47]

Scheme 11. Preparation of 2-hydroxy(*n*-hexylamine) [47]

Tak otrzymaną pochodną oksazolu **83** połączono z **28** reakcji w warunkach reakcji Wittiga–Hornera (Schemat 12). Następnie keton **86** zredukowano do alkoholu, który to rozseparowano na dwa optycznie czyste diastereoizomery za pomocą chromatografii, uzyskując alkohol **87** o konfiguracji *S* na węglu 24. Drugi diastereoizomer (konfiguracja *R* na węglu 24) daje się utlenić do ketonu **86** za pomocą MnO_2 i ponownie przetwarzać w żądany alkohol **87** (S24). Fotochemiczna izomeryzacja **87** (S24) do *5Z* oraz deprotekcja obydwu grup hydroksylowych daje końcowy produkt **88**.

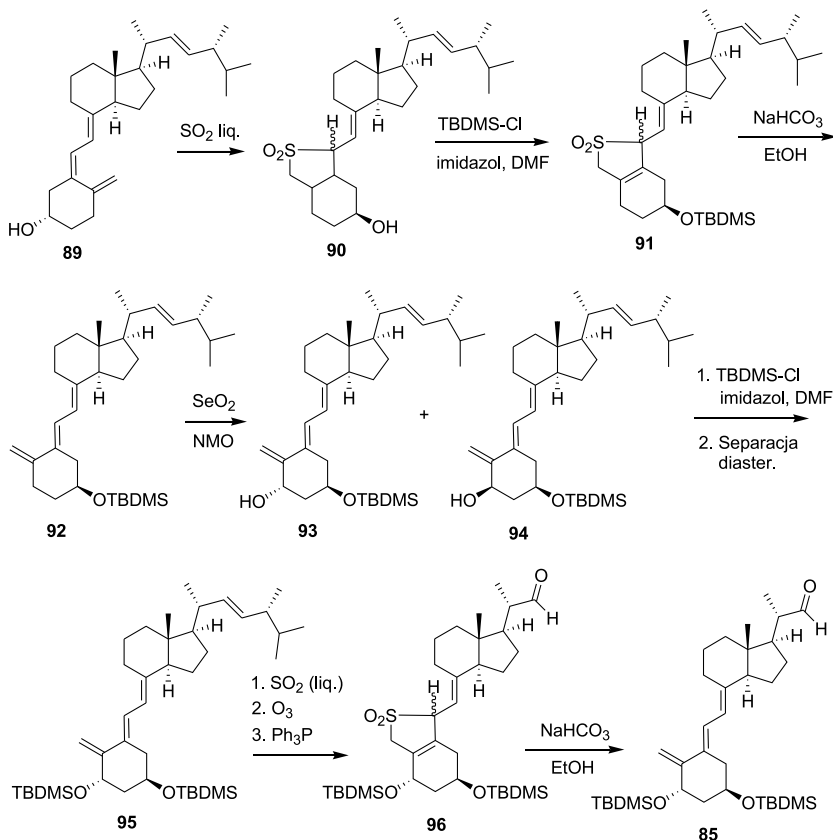


Schemat 12. Synteza pochodnej **88** (ZK 191784) [47, 49]

Scheme 12. Synthesis of the derivative **88** (ZK 191784) [47, 49]

Otrzymanie aldehydu **85** było również interesującym wyzwaniem syntetycznym (Schemat 13). W pierwszym etapie, witaminę D_2 **89** traktowano ciekłym ditlenkiem siarki. Powstały w tej reakcji cykliczny sulfon **90** posiada właściwie zorientowany pierścień cykloheksylowy. Grupę hydroksylową przekształcono w ester *tert*-butylo-dimetylosililowy, po czym grupę sulfonową zdjęto poprzez ogrzewanie **91** z $NaHCO_3$ we wrzącym etanolu. W celu wprowadzenia drugiego podstawnika hydroksylowego, pochodną **92** utleniało ditlenkiem selenu w obecności *N*-tlenku *N*-metylomorfoliny.

W tej reakcji powstają dwa diastereoizomeryczne produkty **93** i **94** w stosunku 6:1, które udało się rozseparować w postaci pochodnych *tert*-butylodimetylosililowych. Uzyskaną w ten sposób pochodną **95** przekształcono w odpowiedni sulfon i poddano ozonolizie otrzymując aldehyd **96**. Następnie addukt **96** ogrzewano z NaHCO_3 we wrzącym etanolu.



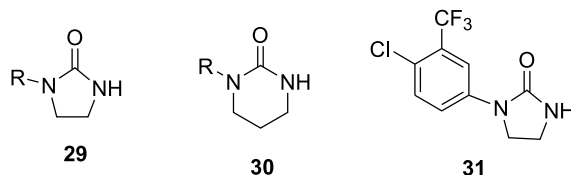
Schemat 13. Synteza aldehydu **97** – substratu do otrzymywania pochodnej **88** [49]

Scheme 13. Synthesis of aldehyde **97** – the substrate for preparation of compound **88** [49]

2.9. *N*-PODSTAWIONE IMIDAZOLIDIN-2-ONY ORAZ *N*-TETRAHYDROPIRYMIDIN-2(1*H*)-ONY

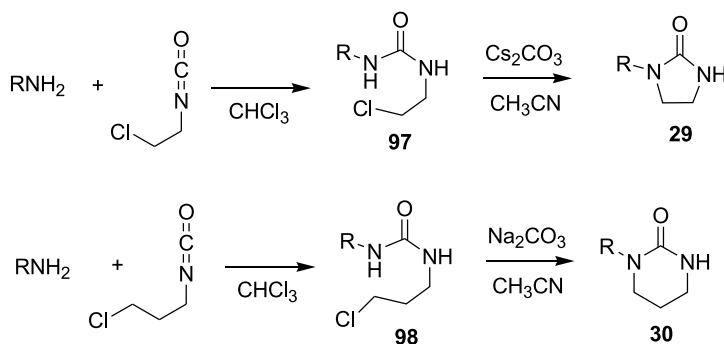
W ostatnich latach otrzymano i zbadano heterocykliczne pochodne: *N*-alkilo imidazolidin-2-ony **29** oraz *N*-alkilo tetrahydropyrimidin-2(1*H*)-ony **30** (Rys. 12) [50]. Właściwości immunosupresyjne badano na podstawie pomiaru inhibicji splenocytów myszy indukowanych konkanawaliną A w obecności danego związku. Na podstawie testów aktywności biologicznej ustalono, że pochodne **29** zawierające

pierścień 5-członowy posiadają lepsze właściwości immunosupresyjne, aniżeli *N*-tetrahydropyrimidin-2(1*H*)-ony **30**. Ponadto obecność atomu halogenu w pierścieniu aromatycznym wyraźnie zwiększa inhibicję splenocytów, a najbardziej aktywnym związkiem w przebadanej serii okazał się analog **31**.



Rysunek 12. *N*-Imidazolidin-2-ony **29**, **31** oraz *N*-tetrahydropyrimidin-2(1*H*)-ony **30** [50]
 Figure 12. *N*-Imidazolidin-2-ones **29**, **31** and *N*-tetrahydropyrimidin-2(1*H*)-ones **30** [50]

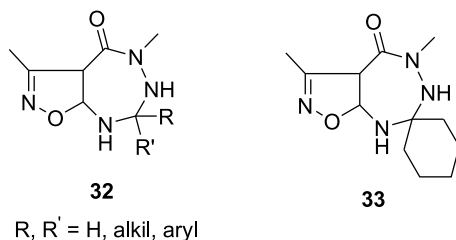
Synteza tych związków obejmuje reakcje odpowiednich amin z izocyjanianem 2-chloroetylu bądź izocyjanianem 3-chloropropylu, w zależności od docelowej wielkości pierścienia (Schemat 14). Następnie *N,N'*-dipodstawione moczniki **97**, **98** ulegają cyklizacji do produktów **29**, **30**.



Schemat 14. Synteza *N*-imidazolidin-2-onów **29** oraz *N*-tetrahydropyrimidin-2(1*H*)onów **30** [50]
 Scheme 14. Synthesis of *N*-imidazolidin-2-ones **29** and *N*-tetrahydropyrimidin-2(1*H*)-ones **30** [50]

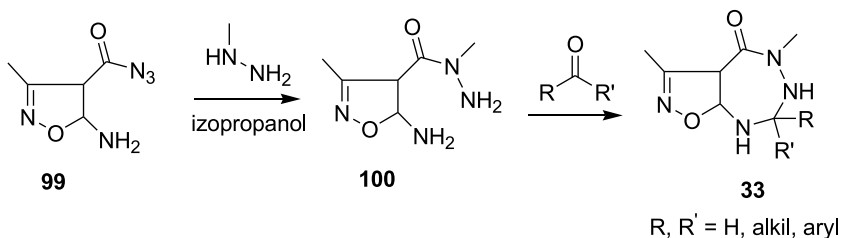
2.10. POCHODNE 3-METYLOIZOKSAZOLO[5,4-e][1,2,4]TRIAZEPIN-4-ONU

3-Metyloizoksazolo[5,4-e][1,2,4]triazepin-4-ony **32** (Rys. 13) składają się z dwóch skondensowanych pierścieni: 5-członowego pierścienia izoksazolu oraz 7-członowego fragmentu triazepinowego. Spośród otrzymanych analogów **32** wyodrębniono kilka o znacznej aktywności immunosupresyjnej w testach *in vivo*, porównywalnej z CsA, np. pochodna spirocykloheksylowa **33**.



Rysunek 13. Struktura pochodnych 3-metyloizoksazolo[5,4-e][1,2,4]triazepin-4-onu [51]
 Figure 13. Structure of derivatives of 3-methylisoxazolo[5,4-e] [1,2,4]triazepin-4-one [51]

3-Metyloizoksazolo[5,4-e][1,2,4]triazepin-4-ony **32** otrzymano z wykorzystaniem azydku kwasu 5-amino-3-metylo-4-izoksazolokarboksylowego **99** (Schemat 15). W reakcji z pochodnymi hydrazyny zachodzi podstawienie anionu azydkowego na węgiel acylowym. Nie obserwowano natomiast charakterystycznego dla azydków acylowych przegrupowania Curtiusa. W kolejnym etapie hydrazyd **100** traktowano odpowiednim reagentem karbonylowym [51, 52].



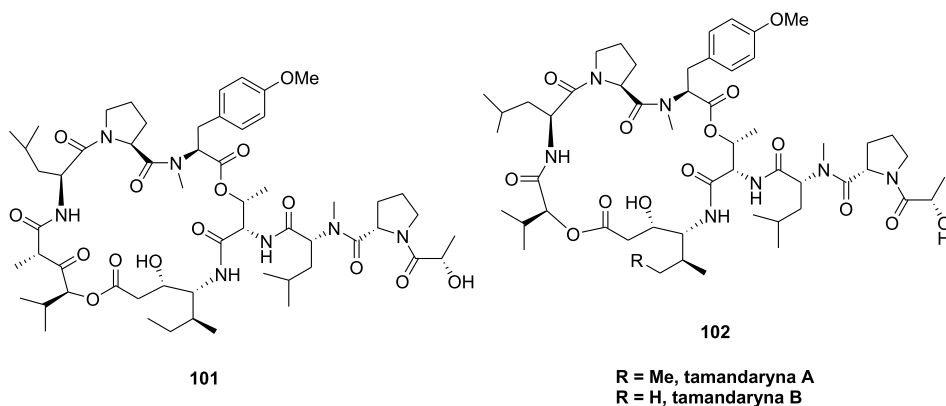
Schemat 15. Otrzymywanie 3-metyloizoksazolo[5,4-e][1,2,4]triazepin-4-onów [51, 52]
 Scheme 15. Preparation of 3-methylisoxazolo[5,4-e] [1,2,4]triazepin-4-ones [51, 52]

2.11. ALEMTUZUMAB

Alemtuzumab jest litycznym ciałem monoklonalnym, antygenem glikoproteiny CD52 znajdującej się na powierzchni limfocytów. Preparat ten powoduje rozpad limfocytów B oraz T i używa się go przede wszystkim w leczeniu nowotworów hematologicznych. Zastosowanie tego leku podczas przeszczepu wątroby z innymi immunosupresantami (sterydy, inhibitory kalcyneuryny) pozwoliło na obniżenie ryzyka ostrego odrzutu bądź wydłużenia czasu do jego wystąpienia. Dotyczyło to zwłaszcza grupy dzieci, u których leczenie alemtuzumabem łączono z takrolimusem. Podobny efekt zaobserwowano po przeszczepie nerki, gdzie dodatkowo możliwa była redukcja immunosupresji podtrzymującej do jednego leku – sirolimusu. Najnowszym zastosowaniem alemtuzumabu (III faza badania klinicznego) jest immunosupresyjne leczenie stwardnienia rozsianego [53–55].

2.12. DEPSIPEPTYDY

Didemmina B **101** i tamandaryna A i B **102** (Rys. 14) stanowią grupę naturalnych depsipeptydów izolowanych z organizmów morskich (odpowiednio z *Trididemnum solidum* – osłonicy karaibskiej oraz z zachwy brazylijskiej). Związki te wykazują interesujące właściwości biologiczne, w tym przeciwnowotworowe i immunosupresyjne. Obecnie w USA prowadzone są badania kliniczne didemminy B **101** w leczeniu chorób nowotworowych, a jej mechanizm działania jest wciąż badany [56].



Rysunek 14. Budowa didemminy B i tamandaryny A i B [56]

Figure 14. Structures of didemnin-B and tamandarin A and B [56]

PODSUMOWANIE

Badania z zakresu transplantologii doświadczalnej koncentrują się od wielu lat na możliwościach wyidukowania stanu tolerancji immunologicznej na przeszczepiony narząd (czyli braku odpowiedzi immunologicznej na ściśle zdefiniowany antygen bądź antygeny bez potrzeby stosowania leków immunosupresyjnych), a przynajmniej zahamowania procesu odrzucania. Stąd, działanie projektowanych leków immunosupresyjnych opiera się o regulację węzłowych elementów procesu odrzucania alloprzeszczepu.

Przez wiele lat ostre epizody komórkowego odrzucenia przeszczepu stanowiły główny problem w utrzymaniu transplantacji organów. W konsekwencji, projektowanie leczenia immunosupresyjnego i wykorzystywanych w nim czynników skupiło się na zapobieganiu ostrym odrzutom przeszczepionych narządów charakteryzujących się infiltracją organu przez komórki jednojądrzaste. Patofizjologiczna podstawa tej koncepcji opiera się o centralną rolę limfocytów T i ich aktywację przez komórki prezentujące antygen. W ostatnim czasie coraz większą rolę, szczególnie w odrzucaniu przewlekłym, przypisuje się także odrzucaniu humoralnemu, które mediowane jest przez alloprzeciwciała [57]. Staranne analizy szlaków zaangażowanych w stymu-

lację indukcji obu typów reakcji odrzucania doprowadziły do identyfikacji wielu kluczowych elementów, w tym sygnałów kostymulujących i reagujących na nie receptorów czy enzymów wymaganych do syntezy DNA w czasie aktywacji cyklu komórkowego limfocytów T [58]. Świadomość istnienia tych komórek oraz możliwość ich ilościowej oceny pozwoliły rzucić więcej światła na mechanizmy leżące u podstaw kontroli odpowiedzi immunologicznej i jej zmian po przeszczepie allogenicznym i ta wiedza jest źródłem inspiracji dla tworzenia nowych leków immunosupresyjnych, które nie tylko mają zapobiegać odrzucaniu przeszczepu, ale również pozbawionych niekorzystnych działań ubocznych.

PODZIĘKOWANIE

Praca powstała w ramach realizacji projektu badawczego finansowanego przez Politechnikę Gdańską (DS 014668 t.008).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] S. Sakaguchi, N. Sakaguchi, M. Asano, M. Itoh, M. Toda, *J. Immunol.*, 1995, **155**, 1151.
- [2] R.I. Lechler, J.R. Batchelor, *J. Exp. Med.*, 1982, **155**, 31.
- [3] O.B. Herrera, D. Golshayan, R. Tibbott, et al., *J. Immunol.*, 2004, **173**, 4828.
- [4] G. Benichou, *Front Biosci.*, 1999, **4**, D476-80.
- [5] P. Hornick, *Methods Mol. Biol.*, 2006, **333**, 145.
- [6] A.C. Allison, *Immunopharmacology*, 2000, **47**, 63.
- [7] Dostępny w Internecie: <http://bioinfo.mol.uj.edu.pl/articles/Bechyne04?action=print>.
- [8] P.F. Halloran, *N. Engl. J. Med.*, 2004, **351**, 2715.
- [9] D. Dell'Olio, D.A. Kelly, *Curr. Opin. Organ. Transplant.*, 2010, **15**, 594.
- [10] J. Pascual, C. Galeano, A. Royuela, J. Zamora, *Transplantation*, 2010, **90**, 343.
- [11] P. Romanowski, K. Dzierzbicka, A. Myśliwski, A.M. Kołodziejczyk, *Post. Biochem.*, 1991, **37**, 159.
- [12] M.H. Dreyfuss, H. Hofmann, H. Kobel, H. Pache, W. Tschertter, *Eur. J. Appl. Microbiol.*, 1976, **3**, 125.
- [13] M. Introna, P. Allavena, F. Spreafico, A. Mantovani, *Transplantation*, 1981, **31**, 113.
- [14] T. Rath, A. Rubbert, *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2010, **28** (5 Suppl 61), S52.
- [15] A.P. Diamanti, M. Rosado, V. Germano, M. Scarsella, E. Giorda, E. Podestf, R. D'Amelio, R. Carsetti, B. Laganf, *Clin. Immunol.*, 2011, **138**, 9.
- [16] R.O. Kaçmaz, J.H. Kempen, C. Newcomb, E. Daniel, S. Gangaputra, R.B. Nussenblatt, J.T. Rosenbaum, E.B. Suhler, J.E. Thorne, D.A. Jabs, G.A. Levy-Clarke, C.S. Foster, *Ophthalmology*, 2010, **117**, 576.
- [17] C. Avendario, J.C. Menendez, *Curr. Med. Chem.*, 2002, **9**, 159.
- [18] N. Aouali, L. Eddabra, J. Macadre, H. Morjani, *Critical Rev., [w:] Oncology/Hematology*, 2005, **56**, 61.
- [19] Z. Yang, K. Pattamana, B.F. Molino, S.N. Haydar, Y. Cao, F. Bois, J-H. Maeng, M.S. Hemenway, J.O. Rich, Y.I. Khmelnsky, T.D. Friedrich, D. Peace, P.C. Michels, Synlett, 2009, **18**, 2935.
- [20] T. Ruzicka, T. Assmann, B. Horney, *Arch. Dermatol.*, 1999, **135**, 574.

- [21] W. Barańska-Rybak, R. Nowicki, *Alergia Astma Immunologia*, 2003, **8**, 69.
- [22] A.W. Thomson, *Immunol. Today*, 1989, **10**, 6.
- [23] S. Vitko, et al., *Am. J. Transplant.*, 2004, **4**, 626.
- [24] Dostępny w Internecie: <http://pl.wikipedia.org/wiki/Ewarolimus>
- [25] Dostępny w Internecie: <http://pl.wikipedia.org/wiki/Azatiopryna>
- [26] M. Małachowska, G. Cholewiński, K. Dzierzbicka, A. Wardowska, P. Trzonkowski, *Wiad. Chem.*, 2009, **63**, 309.
- [27] R. Bentley, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 3801.
- [28] B. Kaplan, *Curr. Med. Res. Opin.*, 2006, **22**, 2355.
- [29] L. Ghioa, M. Ferrarasso, G. Zacchello, L. Murerc, F. Ginevrid, M. Belingheria, L. Peruzzie, F. Zanonf, F. Perfumod, L. Berardinellib, S. Tirellig, L.D. Strologoh, I. Fontanai, U. Valentei, M. Cardilloj, A. Edefontia, *Clin. Transplant.*, 2009, **23**, 264.
- [30] J. Jablecki, L. Kaczmarzyk, D. Patrzalek, A. Domanasiewicz, Z. Boratynska, *Transplant. Proc.*, 2009, **41**, 549.
- [31] P.H. Nelson, S.F. Carr, B.H. Devens, E.M. Eugui, F. Franco, C. Gonzalez, R.C. Havley, D.G. Loughhead, D.J. Milan, E. Papp, J.W. Patterson, S. Rouhafza, E.B. Sjogren, D.B. Smith, R.A. Stephenson, F.X. Talamas, A-N. Waltos, R.J. Weikert, J.C. Wu, *J. Med. Chem.*, 1996, **39**, 4181.
- [32] G. Lai, W.K. Anderson, *Tetrahedron*, 2000, **56**, 2583.
- [33] M.E. Meza-Aviña, M. Ordoñez, M. Fernández-Zertuche, L. Rodriguez-Fragoso, J. Reyes-Esparza, A.A.M. de los Rios-Corsino, *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, **13**, 6521.
- [34] L. Chen, D.J. Wilson, N.P. Labello, H.M. Jayaram, K.W. Pankiewicz, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 9340.
- [35] Dostępny w Internecie:
http://www.p-t-t.org/index.php?option=com_content&task=view&id=106&Itemid=105.
- [36] H. Chen, X. Du, W. Tang, Y. Zhou, J. Zuo, H. Feng, Y. Li, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 2403.
- [37] Dostępny w Internecie:
http://www.manufacturingchemist.com/new/article_page/Immunosuppressant_-_sotrastaurin/50543.
- [38] J.-P. Evenou, J. Wagner, G. Zenke, V. Brinkmann, K. Wagner, J. Kovarik, K.A. Welzenbach, G. Weitz-Schmidt, Ch. Guntermann, H. Towbin, S. Cottens, S. Kaminski, T. Letschka, Ch. Lutz-Nicoladoni, T. Gruber, N. Hermann-Kleiter, N. Thuille, G. Baier, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009, **330**, 792.
- [39] C. Sommerer, M. Zeier, *Clin. Transplant.*, 2009, **23**, 15.
- [40] F.C.E. Reis, C.O.R. Júnior, L.L. Alves, A.P. Ferreira, M.V. de Almeida, *Chem. Biol. Drug Des.*, 2008, **72**, 596.
- [41] K. Kaczmarek, B. Farina, P. Zubrzak, S. Jankowski, M. Zimecki, P. Suder, E. Benedetti, R. Fattorusso, M. Savianio, J. Zabrocki, *J. Pept. Sci.*, 2008, **15**, 166.
- [42] A.G. Kraus, V. Gupta, M. Kohut, N. Singh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 5539.
- [43] G.-B. Liu, J.-L. Xu, C.-C. He, G. Chen, Q. Xu, H.-X. Xu, J.-X. Li, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 5433.
- [44] H. Zhao, D.R. Mootoo, *J. Org. Chem.*, 1996, **61**, 6762.
- [45] G.-L. Zhang, Ch. Chen, Y. Xiong, L.-H. Zhang, J. Ye, X.-S. Ye, *Carbohydr. Res.*, 2010, **345**, 780.
- [46] X.-S. Ye, F. Sun, M. Liu, Q. Li, Y. Wang, G. Zhang, L.-H. Zhang, X.-L. Zhang, *J. Med. Chem.* 2005, **48**, 3688.
- [47] J. Westermann, M. Schneider, J. Platzek, O. Petrov, *Org. Process Res. Dev.*, 2007, **11**, 200.
- [48] K. Casteels, R. Bouillon, M. Waer, Ch. Mathieu, *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 1995, **4**, 313.
- [49] M.J. Calverley, *Tetrahedron*, 1987, **43**, 4609.
- [50] C. Sabourin, J.-M. Robert, J. Enz. *Inhib. Med. Chem.*, 2008, **23**, 659.

- [51] S. Ryng, M. Zimecki, M. Mączyński, T. Głowiak, *Pol. J. Chem.*, 2009, **83**, 1967.
- [52] S. Ryng, T. Głowiak, *Synth. Commun.*, 1997, **27**, 1359.
- [53] S. Dhesi, B. Boland, S. Colquhoun, *Curr. Opin. Organ Trans.*, 2009, **14**, 245.
- [54] S.R. Mohan, M.J. Clemente, M. Afable, H.N. Cazzolli, N. Bejanyan, M.W. Wlodarski, A.E. Lichtin, J.P. Maciejewski, *Haematol.*, 2009, **94**, 1407.
- [55] P. Trzonkowski, M. Zilvetti, S. Chapman, J. Wieckiewicz, A. Sutherland, P. Friend, K.J. Wood, *Am. J. Transplant.*, 2008, **8**, 338.
- [56] J. Adrio, C. Cuevas, I. Manzanares, M. M. Joullié, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 5129.
- [57] K. Solez, R.B. Colvin, L.C. Racusen, M. Haas, B. Sis, M. Mengel, P.F. Halloran, W. Baldwin, G. Banfi, A.B. Collins, F. Cosio, D.S. David, C. Drachenberg, G. Einecke, A.B. Fogo, I.W. Gibson, D. Glotz, S.S. Iskandar, E. Kraus, E. Lerut, R.B. Mannon, M. Mihatsch, B.J. Nankivell, V. Nickleit, J.C. Papadimitriou, P. Randhawa, H. Regele, K. Renaudin, I. Roberts, D. Seron, R.N. Smith, M. Valente, *Am. J. Transplant.*, 2008, **8**, 753.
- [58] M.D. Denton, C.C. Magee, M.H. Sayegh, *Lancet*, 1999, **353**, 1083.

Praca wpłynęła do Redakcji 13 grudnia 2010

**BIOTRANSFORMACJE Z UDZIAŁEM
GENETYCZNIE MODYFIKOWANYCH DROŹDŹY
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**BIOTRANSFORMATIONS WITH GENETICALLY
MODIFIED BAKER'S YEAST
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Ewa Bialecka-Florjańczyk, Wanda Zamojska*,
Agata Kapturowska**

*Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 166, 02-776 Warszawa
e-mail: ewa_bialecka_florjanczyk@sggw.pl
*Międzywydziałowe Studium Biotechnologii,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa*

Abstract

Wstęp

1. Reakcje redukcji związków karbonylowych
2. Reakcje utleniania
3. Reakcje hydrolizy, estryfikacji i transestryfikacji
4. Reakcje addycji do wiązań podwójnych
5. Kierunki doskonalenia katalitycznych właściwości drożdzy piekarskich

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



dr hab. Ewa Bialecka-Florjańczyk prof. SGGW ukończyła studia (1970) i stopień naukowy doktora (1976) uzyskała na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej, a stopień naukowy doktora habilitowanego (2002) na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. Obecnie jest kierownikiem Katedry Chemii Wydziału Nauk o Żywności SGGW. Prowadzi wykłady z chemii organicznej i chemii związków naturalnych dla studentów Międzywydziałowego Studium Biotechnologii SGGW. Współautorka podręcznika „Chemia organiczna” WNT 2007. Zainteresowania naukowe – chemia organiczna,

biotransformacje z udziałem drożdży, fizykochemia ciekłych kryształów.



mgr inż. Agata Kapturowska, absolwentka Międzywydziałowego Studium Biotechnologii SGGW (2009), jest doktorantką w Katedrze Chemii Wydziału Nauk o Żywności SGGW. Zainteresowania naukowe biotransformacje z udziałem drożdży, degradacje mikotoksyn przez bakterie fermentacji mlekowej.



inż. Wanda Zamojska, absolwentka Międzywydziałowego Studium Biotechnologii SGGW (2010), wykonuje pracę magisterską w Katedrze Chemii Wydziału Nauk o Żywności SGGW.

ABSTRACT

Baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* is quite commonly applied as a whole-cell biocatalysts in biotransformations – reactions based on enzymatic transformations of chemical compounds. Yeast cells are easy in cultivation and use. They are usually used to catalyze such reactions as bioreduction or hydrolysis. The full sequencing of its genome accompanied with achievements of genetic engineering allowed to design new yeast strains characterized by high conversion yield and reaction selectivity. Genetically modified cells of *Saccharomyces cerevisiae* catalyze biotransformations, which lead to chiral building blocks important in pharmaceutical industry (especially those obtained by reduction of α - and β -oxoesters). „Designer yeast” is a new catalyst for Baeyer–Villiger oxidation. Recombinant yeast lipases have been discussed as useful means in biodiesel production because the microbiological method of producing of this kind of fuel has many advantages. There is a growing interest in application of modified yeast in biotransformation reactions. Modern directions to improve catalytic abilities of baker's yeast include: the use of surface display technology of enzymes, optimization or increase in availability of cofactor required for bioreduction reactions or gene knock-out, which eliminates the activity of enzymes with conflicting and unwanted stereoselectivities. Commonly used technique is also overexpression of the desired protein or expression of heterologous enzymes in yeast cells.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, biotransformations, whole-cell biocatalysts, genetic engineering

Słowa kluczowe: *Saccharomyces cerevisiae*, biotransformacje, biokatalizatory komórkowe, inżynieria genetyczna

WSTĘP

Przez biotransformacje rozumiemy reakcje przekształcania związków chemicznych przy katalitycznym udziale enzymów lub zawierających je komórek czy tkanek. Jest to dynamicznie rozwijająca się dziedzina chemii i biotechnologii ze względu na dużą selektywność reakcji enzymatycznych i ich proekologiczny charakter [1–4].

Wykorzystanie czystych preparatów enzymatycznych w syntezie organicznej jest ograniczone przez ich wysoki koszt. O wiele tańszym rozwiązaniem jest zastosowanie całych komórek mikroorganizmów produkujących odpowiednie enzymy. Szczególną uwagę zwraca się na zastosowanie drożdży piekarskich (*Saccharomyces cerevisiae*), które są organizmami bezpiecznymi (posiadającymi status GRAS – *generally recognized as safe*, nadany przez American Food and Drug Administration). Drożdże piekarskie są od stuleci wykorzystywane w tradycyjnych procesach biotechnologicznych stąd też ingerencja metodami inżynierii genetycznej w ich metabolizm, a co za tym idzie poszerzenie ich potencjalnego stosowania, cieszy się dużym zainteresowaniem. Dotyczy to nie tylko procesów fermentacyjnych przeprowadzanych w dużej skali lecz także wytwarzania przez komórki drożdży cennych produktów chemicznych takich jak kwasy organiczne, alkohole cukrowe, steroidy czy izoprenoidy [5].

Z punktu widzenia reakcji biotransformacji drożdże piekarskie stanowią tanie i ogólnie dostępne źródło różnorodnych enzymów oraz, co najważniejsze dla chemików, są łatwe w użyciu w laboratorium chemicznym nie dysponującym z reguły zapleczem mikrobiologicznym [6–8]. Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* można stosować w postaci prasowanej, suchej, liofilizowanej czy immobilizowanej, a reakcje z ich udziałem zachodzą zarówno w wodzie jak i w rozpuszczalnikach organicznych. Drożdże produkują enzymy należące praktycznie do wszystkich klas [9] i w związku z tym są przydatne w wielu dziedzinach syntezy.

Zdarza się jednak, że mikroorganizmy katalizują równolegle kilka reakcji, co prowadzi do obniżenia wydajności każdej z nich. Z tego powodu podejmuje się próby ingerencji w przebieg reakcji za pomocą inhibicji konkretnych enzymów lub przez zastosowanie odpowiednich modyfikacji genetycznych drożdży *S. cerevisiae*. W dalszym ciągu pracy zostaną omówione te grupy reakcji, w których zastosowanie modyfikacji genetycznych pozwoliło na poprawienie przebiegu poszczególnych biotransformacji.

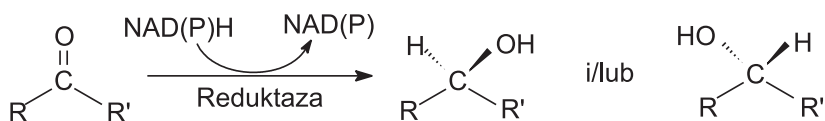
2. REAKCJE REDUKCJI ZWIĄZKÓW KARBONYLOWYCH

Drożdże piekarskie znalazły najszerze zastosowanie w stereoselektywnych reakcjach redukcji, przede wszystkim związków karbonylowych takich jak ketony, α - i β -diony, α - i β -oksoestry oraz aldehydy [10]. Powstające w ten sposób chiralne alkohole są ważnymi blokami budulcowymi w syntezie cennych półproduktów lub produktów farmaceutycznych takich jak karnityna, czy Taxol®.

Wykorzystanie drożdży piekarskich w przemianach oksydacyjnoredukcyjnych jest szczególnie interesujące ze względu na to, że komórki drożdży są w stanie syntetyzować nie tylko odpowiednie oksydoreduktazy, lecz także koenzymy niezbędne do przebiegu reakcji utleniania i redukcji [1], podczas gdy przy zastosowaniu wyizolowanych enzymów koenzymy muszą być dodatkowo dostarczane do środowiska reakcji.

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* wytwarzają enzymy, które należą do różnych rodzin, z czego największą liczbę stanowią: rodzina aldo-keto reduktaz (AKR) i rodzina dehydrogenaz/reduktaz (SDR) substratów krótkołańcuchowych. Reakcje z ich udziałem wymagają obecności kofaktorów nikotynoamidowych (zazwyczaj NADPH), produkowanych przez komórki drożdży [11].

Enancjoselektywność (lub diastereoselektywność) reakcji wiąże się z powstaniem nowego centrum asymetrii w cząsteczce alkoholu (Rys. 1).



Rysunek 1. Enancjoselektywność w reakcji redukcji ketonów [10]

Figure 1. Enantioselectivity in ketone reduction [10]

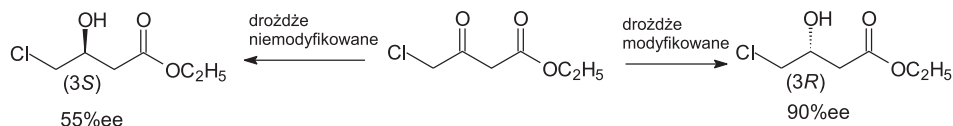
W systematycznie przeprowadzonych badaniach redukcji ketonów alifatycznych wykazano, że ketony metylowe są źródłem drugorzędowych alkoholi o konfiguracji (*S*) [6, 7]. Natomiast na stereochemiczny przebieg redukcji β -oksoestrów ma wpływ zarówno długość łańcucha węglowodorowego cząsteczki kwasu jak i alkoholu. Krótszy podstawnik (do czterech atomów węgla) powoduje redukcję do enancjomeru (*S*), a dłuższy, hydrofobowy, sprzyja powstawaniu enancjomeru (*R*) [10].

Drożdże piekarskie mogą produkować około dwudziestu reduktaz i z reguły każda z nich charakteryzuje się dużą stereoselektywnością. Jednak w praktyce w redukcji określonego substratu uczestniczy zazwyczaj większa ilość wzajemnie konkurencyjnych enzymów, stąd zazwyczaj otrzymuje się mieszaninę stereoisomerów [12].

Nakamura i współpracownicy wydzielili i scharakteryzowali cztery podstawowe oksydoreduktazy uczestniczące w reakcji redukcji estru acetylooctowego, różniące się masą cząsteczkową, aktywnością i specyficznością działania. Dwie z nich katalizowały powstawanie enancjomeru (*R*), dwie pozostałe (*S*), przy czym każda z osobna dawała enancjoselektywność ponad 99%. Sumaryczne konkurencyjne działanie tych enzymów obniża stereoselektywność reakcji katalizowanej przez komórki drożdży [13].

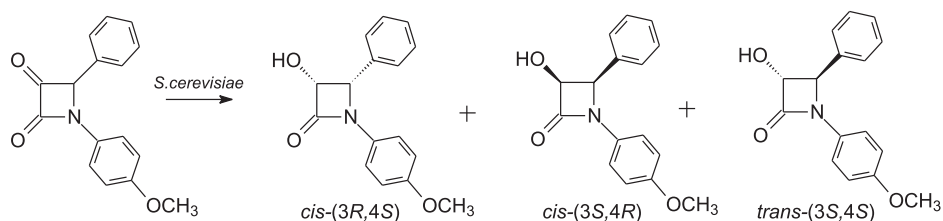
Stereoselektywność reakcji może być poprawiona między innymi przez dodatek inhibitorów konkretnej reduktazy (np. chlorek fenacylu, czy związki siarki [8]). Alternatywnym sposobem jest zastosowanie mutantów drożdży pozbawionych konkretnej reduktazy [10]. W ten sposób eliminowana jest aktywność jednego spośród

konkurencyjnych enzymów, co zwiększa stereoselektywność reakcji. Pierwszym przykładem wykorzystania takiej strategii (Rys. 2) była redukcja 4-chloroacetylooctanu etylu [14].



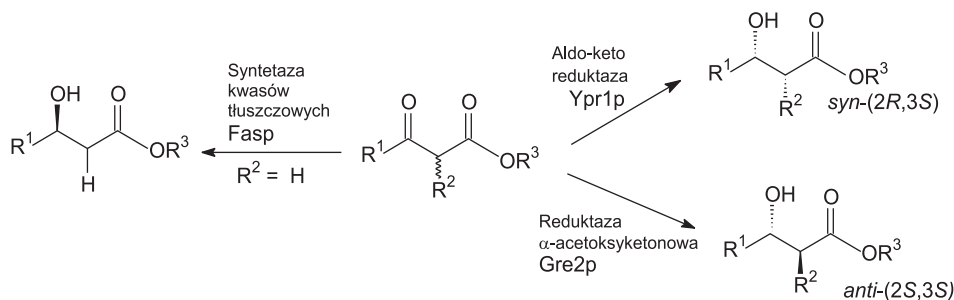
Rysunek 2. Redukcja 4-chloroacetylooctanu etylu przez drożdże *S. cerevisiae*
Figure 2. Bioreduction of ethyl 4-chloroacetylacetate with *S. cerevisiae* yeast

Powołując się na analogię strukturalną pomiędzy substratem i cząsteczkami β -oksooestrów uczestniczących w biosyntezie kwasów tłuszczowych, wykorzystano do redukcji szczep drożdży z punktową mutacją genu FAS-2 (syntazy kwasów tłuszczowych). Takie podejście z dobrym skutkiem zastosowano w chemoenzymatycznej syntezie taksolu, gdzie użycie szczepu FAS pozwoliło na wyeliminowanie produktu *trans*, który powstawał równoległe do dwóch pozostałych związków (Rys. 3) [15].



Rysunek 3. Redukcja α -keto- β -laktamu za pomocą drożdży piekarskich
Figure 3. Baker's yeast reduction of α -keto- β -lactam

Inną metodę stanowi poddanie nadekspresji określonej specyficznej reduktazy karbonylowej, przez co uzyskuje się szczepy drożdży wytwarzające w nadmiarze pożądany enzym. Rodriguez, Kayser i Stewart zmodyfikowali komórki drożdży, otrzymując szczepy różniące się stopniem ekspresji trzech enzymów odgrywających ważną rolę w reakcjach redukcji, a mianowicie: syntetazy kwasów tłuszczowych, reduktazy α -acetoksyketonowej i aldo-keto reduktazy [16]. Redukcja β -oksooestrów w obecności wyizolowanych enzymów prowadzi do różnych stereoisomerów (Rys. 4).



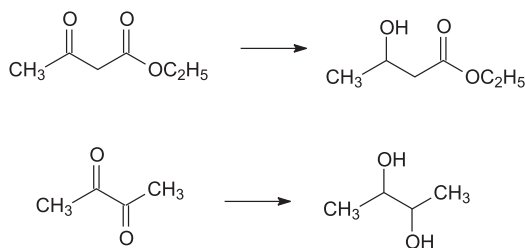
Rysunek 4. Redukcja β -oksoestrów w obecności enzymów (reduktaz i syntetazy)

Figure 4. β -Oxoesters reduction in the presence of the enzymes (reduktases and syntetazy)

Przeprowadzając reakcję w obecności drożdży modyfikowanych genetycznie, zaobserwowano zmiany w stereoselektywności reakcji. W przypadku redukcji katalizowanej szczepem z wyeliminowaną syntetazą kwasów tłuszczowych otrzymano izomery o konfiguracji (3*S*) z wysokim nadmiarem enancjomerycznym. Dobre wyniki uzyskano także dla reakcji z udziałem drożdży wytwarzających w nadmiarze aldo-ketoreduktazę (powstawał głównie produkt *syn*) i reduktazę α -acetoksyketonową (powstawał tylko produkt *anti*). Natomiast reakcje redukcji katalizowane przez szczepy pozbawione aldo-keto reduktazy oraz reduktazy α -acetoksyketonowej nie przyniosły widocznych zmian w stereoselektywności przemiany [16].

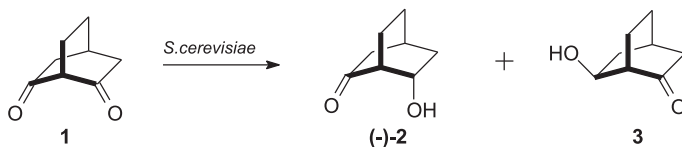
Z kolei Engelking i in. zastosowali szczep *Saccharomyces cerevisiae* z nadekspresją genu FAS oraz dehydrogenazy glukozy z *Bacillus subtilis* do redukcji 4-chloroacetylooctanu etylu i benzoiloctanu etylu osiągając nadmiar enancjomeryczny odpowiednio 90% lub 97% [17].

W badaniach nad identyfikacją NADPH zależnej reduktazy, która jest zaangażowana w specyficzną redukcję grup karbonylowych, jako związki modelowe wybrano biacetyl i acetyloctan etylu (Rys. 5). Stwierdzono, że białka kodowane przez YBR149w, YMR226c (NADP⁺-zależne dehydrogenazy) i YDR368w (NADPH-zależna aldo-keto reduktaza) są (*S*) specyficznymi reduktazami biacetylu, natomiast acetyloctan redukują enzymy kodowane przez geny YOL151w (NADPH-zależna reduktaza) YHR104w (Gre3p), YGL157w (NADPH-zależne aldoreduktazy), YOR120w (NADP⁺-zależna dehydrogenaza) (Gcy1p) i YDR368w (NADPH-zależna aldo-keto reduktaza)(Ypr1p). Ponadto stwierdzono, że białko Gcy1p jest katalizatorem redukcji obu substratów [12].



Rysunek 5. Redukcja β -oksoestru i biacetylu
Figure 5. Reduction of β -oxoester and biacetyl

Przykładem skutecznej ingerencji inżynierii genetycznej w reakcję otrzymywania chiralnych ketoalkoholi, wykorzystywanych jako substraty do syntezy chiralnych katalizatorów [18], mogą być prace nad syntezą optycznie czystego (1*R*, 4*S*, 6*S*)-6-hydroksybicyklo [2.2.2]oktan-2-onu (związek nr 2, Rys. 6) [19]. O ile pierwsze prace z zastosowaniem drożdży piekarskich pozwalały na otrzymanie diastereoizomeru (–)-(2) o czystości optycznej 92–97% z wydajnością 92% [20], to nadekspresja genu reduktazy YDR368w w komórkach szczepu TMB4110 drożdży *Saccharomyces cerevisiae* umożliwiła syntezę tego związku z 99% nadmiarem enancjometrycznym przy zachowaniu zbliżonej proporcji diastereoizomeru *egzo* (3) [21].

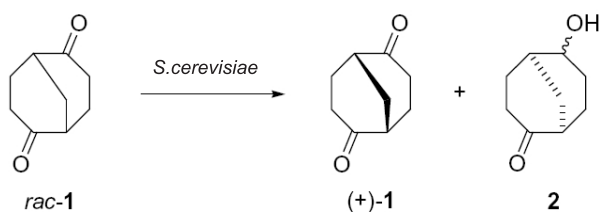


Rysunek 6. Redukcja bicyklo[2.2.2]oktano-2,6-dionu (1) [19, 21]
Figure 6. Reduction of bicyclo[2.2.2]octane-2,6-dione (1) [19, 21]

Odrębnym procesem, w który można ingerować metodami genetycznymi, jest regeneracja kofaktora nieodłącznie związanego z przebiegiem reakcji. Regeneracja ta odbywa się poprzez kataboliczny metabolizm kosubstratu, takiego jak glukoza, sacharoza bądź etanol. Glukoza może być wykorzystywana jako kosubstrat zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych. Wadą jej stosowania jest dość niska wydajność regeneracji NADPH, a dodatkowo w procesach jej przemiany powstaje wiele produktów ubocznych. Stosowanie etanolu jako kosubstratu w reakcjach biotransformacji jest korzystniejsze, jako że jedynym produktem ubocznym powstającym podczas jego katabolizmu jest dwutlenek węgla. Niestety regeneracja z jego udziałem zachodzi jedynie w warunkach anaerobowych, a sam etanol w wysokich stężeniach jest toksyczny dla komórki. Zadania stojące przed inżynierią genetyczną to między innymi: przekierowanie przepływu węgla w komórce w kierunku szlaków regeneracji NADPH, zwolnienie zużycia kosubstratu tak, aby zbalansować tempo redukcji oraz zwiększyć wydajność kosubstratu (stosunku ilości produktu powstałego do ilości zużytego kosubstratu). W tym celu skonstruowano mutanty drożdży piekarskich

o obniżonej aktywności enzymu izomerazy fosfoglukozowej (PGI) oraz szczep z delecją genu kodującego enzym dehydrogenazę alkoholową, powodując tym samym inhibicję niektórych funkcji komórki, w tym prawdopodobnie konsumpcji glukozy bez zmiany aktywności reduktaz [11].

Przekierowanie wykorzystania źródła węgla obecnego w pożywce do szlaku pentozofosforanowego poprzez częściowe wyciszenie genu izomerazy glukozy-6-fosforanowej (PGI) pozwoliło zwiększyć regenerację NADPH, a dodatkowa nadekspresja genu krótkołańcuchowej dehydrogenazy/reduktazy YMR226c w komórkach *S. cerevisiae* umożliwiła rozdział kinetyczny racemicznego bicyklo[3.3.1]nonano-2,6-dionu w reakcji stereospecyficznej redukcji jednego z izomerów wg schematu na Rysunku 7 [22].

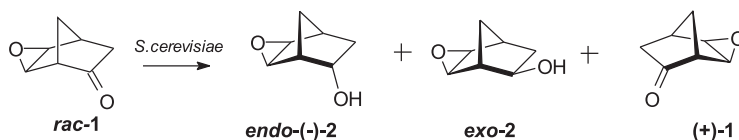


Rysunek 7. Kinetyczny rozdział racemicznego bicyklo[3.3.1]nonano-2,6-dionu z udziałem modyfikowanych genetycznie komórek drożdży piekarskich [22]

Figure 7. Kinetic resolution of bicyclo[3.3.1]nonane-2,6-dione by genetically modified baker's yeast [22]

Szkielet bicyklo[3,3,1]nonanu jest szeroko wykorzystywany w syntezie związków biologicznie czynnych (wykazujących właściwości cytostatyczne, antybakteryjne i hamujących aktywność acetylocholinesterazy) jak i w chiralnych kompleksach supramolekularnych [22].

Autorzy modyfikacji osiągnęli 100% wydajność enancjomeryczną dla izomeru (+)-1 przy 75% konwersji substratu [22]. Co więcej modyfikowane drożdże *S. cerevisiae* okazały się bardziej przydatne w reakcjach przeprowadzanych w sposób ciągły niż modyfikowany szczep *E. coli* [23]. Ten sam szczep modyfikowanych drożdży został skutecznie wykorzystany do kinetycznego rozdziału (\pm) 5,6-epoksybicyklo[2.2.1]heptan-2-onu (Rys. 8). W wyniku redukcji racematu otrzymano *endo*(-)-5,6-epoksybicyklo[2.2.1]heptan-2-ol – *endo*(-)-2 (80% nadmiaru diastereoizomerycznego i 74% enancjomerycznego) oraz (+)-5,6-epoksybicyklo[2.2.1]heptan-2-on – (+)-1 (95% ee) [23].



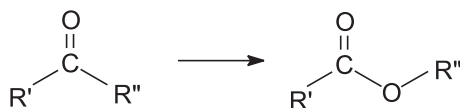
Rysunek 8. Rozdział kinetyczny 5,6-epoksy-bicyklo[2.2.1]heptan-2-onu [23]

Figure 8. Kinetic resolution of 5,6-epoxy-bicyclo[2.2.1]heptan-2-one [23]

Komplikacji wynikających z równoczesnego uczestnictwa kilku przeciwstawnie działających reduktaz można uniknąć dokonując ekspresji odpowiednich genów z *Saccharomyces cerevisiae* w organizmach, które nie mają własnych endogennych enzymów tej klasy. I tak ekspresja genów GCY1 i GRE3 z *S. cerevisiae* w komórkach *E. coli* pozwoliła na osiągnięcie nadmiaru diastereoizomerycznego powyżej 98% w przypadku α -podstawionych- β -oksoestrów [24, 25].

2. REAKCJE UTLENIANIA

Najbardziej interesującą reakcją utleniania, w której zastosowano drożdże piekarskie jest reakcja Baeyera-Villigera (Rys. 9).

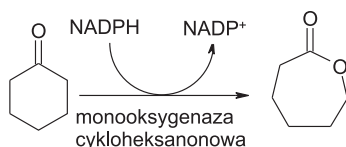


Rysunek 9. Reakcja Baeyera-Villigera

Figure 9. Baeyer-Villiger reaction

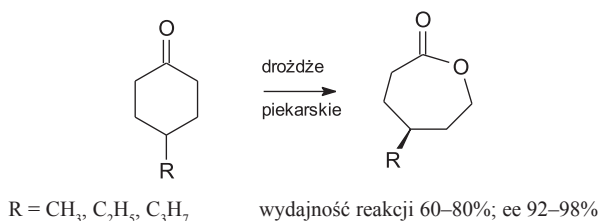
Reakcja Baeyera-Villigera, czyli utlenianie ketonów nadkwasami jest dogodną metodą syntezy estrów lub laktonów. Dzięki zastosowaniu w tej reakcji enzymów eliminuje się toksyczne bądź niestabilne nadkwasy, zyskując jednocześnie możliwość syntezy produktów chiralnych z wysoką enancjoselektywnością. Enzymy biorące udział w omawianych typach reakcji, należą do grupy flawoenzymów, w których koenzymami są nukleotydy flawinowe: FMN lub FAD i określane są mianem „monooksygenaz Baeyera-Villigera” (BVMOs). Przede wszystkim katalizują one nukleofilowe utlenianie ketonów, ale także elektrofilowe utlenianie różnych heteroatomów takich jak bor, siarka, selen, azot czy fosfor w związkach organicznych. W zależności od rodzaju kofaktora, niezbędnego do przebiegu reakcji, BVMO dzieli się na dwa typy: typ pierwszy – enzymy FAD- i NADPH- zależne oraz typ drugi- FMN i NADH- zależne. Monooksygenazy Baeyera-Villigera produkują między innymi bakterie (np. rodzaj *Acinetobacter*, *Pseudomonas*) i grzyby (np. rodzaj *Aspergillus*) [26].

NADPH-zależna monooksygenaza cykloheksanonowa (EC 1.14.13.22) katalizuje drugi etap w katabolicznym szlaku bakteryjnym (Rys. 10) umożliwiającym użycie cykloheksanonu jako jedyne źródła węgla i energii.



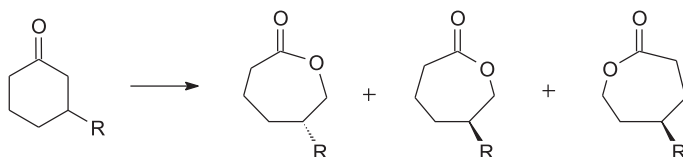
Rysunek 10. Reakcja Baeyera-Villigera z udziałem monooksygenazy cykloheksanonowej
 Figure 10. Baeyer-Villiger reaction with cyclohexanone monooxygenase

Gen kodujący wspomniany enzym, pochodzący z bakterii *Acinetobacter* sp. NCIB 9871, poddano ekspresji w komórkach drożdży piekarskich. Otrzymany metodami inżynierii genetycznej szczep utleniał enancjoselektywnie prochiralne 4-alkilcykloheksanony (Rys. 11) z dobrą wydajnością (także enancjomeryczną) do odpowiednich kaprolaktonów [11].



Rysunek 11. Utlenianie 4-alkilcykloheksanonu z udziałem komórek drożdży [11]
 Figure 11. 4-alkilcyclohexanone oxydation with baker's yeast [11]

Ten sam szczep zastosowano także w reakcji utleniania 2 i 3-podstawionych cykloheksanonów i cyklopentanonów otrzymując różne stereoizomery w zależności od rozmiaru pierścienia i rodzaju grupy alkilowej (Rys. 12). W wyniku tej modyfikacji została także zminimalizowana uboczna reakcja redukcji grupy karbonylowej [27–29].



Rysunek 12. Reakcja Baeyera-Villigera 3-podstawionych cykloheksanonów [27–29]
 Figure 12. Baeyer-Villiger reaction of 3-substituted cyclohexanones [27–29]

Powstałe laktony są atrakcyjnymi związkami dla przemysłu farmaceutycznego. Szczególną uwagę zwrócono na bi- i policykliczne gamma-laktony ze względu na ich działanie przeciwnowotworowe, możliwość aktywacji sercowej Ca^{2+} -ATP-azy oraz zastosowanie jako półproduktów w syntezie silnych leków przeciw jaskrze i nadciśnieniu [26].

3. REAKCJE HYDROLIZY, ESTRYFIKACJI I TRANSESTRYFIKACJI

Około dwóch trzecich opisanych w literaturze biotransformacji można skategoryzować jako hydrolityczne transformacje wiązań estrowych i amidowych z udziałem proteaz, esteraz bądź lipaz [4]. Zarówno esterazy (hydrolazy estrów kwasów karboksylowych) jak i lipazy (hydrolazy triacylogliceroli) zaliczane są do ogólnej grupy karboksyloesteraz, różniąc się preferencjami w stosunku do długości łańcucha substratu i kinetyką reakcji. Esterazy hydrolizują częściowo rozpuszczalne w wodzie cząsteczki estrów krótkołańcuchowych kwasów karboksylowych, podczas gdy lipazy hydrolizują długołańcuchowe triacyloglicerole nierozpuszczalne w wodzie. Centrum katalityczne lipaz zawiera triadę złożoną z trzech aminokwasów: seryny, histydyny i kwasu asparaginowego bądź glutaminowego. Ponadto większość lipaz posiada elastyczne wieczko chroniące centrum aktywne enzymu w wodzie w czasie spoczynku. Pokrywa zmienia konformację na wodno-lipidowej powierzchni międzyfazowej, aktywując lipazę [30].

Drożdże piekarskie produkują wprawdzie obydwaj rodzaje enzymów hydrolitycznych [31], ale w praktyce chemicznej wykorzystywane dotychczas były głównie esterazy np. do hydrolitycznego rozdzielania enancjomerycznych estrów (najczęściej octanów), podczas którego selektywnej reakcji ulega tylko jeden z enancjomerów [6].

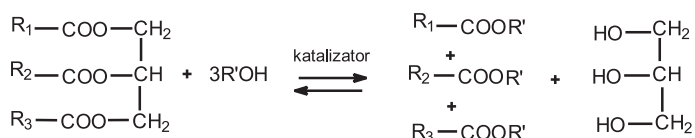
W porównaniu z esterazami zastosowanie lipaz w syntezie organicznej jest o wiele szersze, przede wszystkim ze względu na ich powinowactwo do substratów nierozpuszczalnych w wodzie; są one także aktywne w rozpuszczalnikach organicznych [32]. Lipazy są wykorzystywane zarówno w syntezach (także stereospecyficznych) estrów, w modyfikacjach acylogliceroli, a ostatnio w syntezie paliwa typu biodiesel. Konsekwencją tak szerokich zastosowań są próby ekspresji genów lipaz pochodzenia mikrobiologicznego w komórkach innych organizmów, w tym drożdży piekarskich.

Spośród wielu lipaz pochodzenia mikrobiologicznego lipaza B z *Candida antarctica* (Novozyme 435, CALB) znajduje duże zastosowanie w reakcjach chemicznych jak i w procesach restrukturyzacji triacylogliceroli [33]. Ekspresji tej lipazy dokonano w *Saccharomyces cerevisiae* MT8-1, po czym drożdże w postaci liofilizowanej użyto w reakcji syntezy adipinianu butylu. Autorzy zwracają uwagę na dość dużą stabilność termiczną preparatu, ponieważ synteza była przeprowadzona w temperaturze 60°C [34]. Podobny biokatalizator zastosowano także do syntezy związku zapachowego – kapronianu etylu estryfikując kwasu kapronowy etanolem w heptanie, z wydajnością 98%; był on również aktywny w reakcji hydrolizy maślanu *p*-nitrofenylu [35].

Ostatnio szczególne zainteresowanie budzi lipaza ROL produkowana przez pleśń z gatunku *Rhizopus oryzae*, która jest lipazą 1,3-specyficzną, wykorzystywaną w restrukturyzacji lipidów. Modyfikowane komórki *Saccharomyces cerevisiae* produkujące lipazę z *Rhizopus oryzae* zastosowano do rozdzielania enancjomerów 1-fenyletanolu: (*RS*)-1-fenyletanol poddano estryfikacji octanem winylu w rozpusz-

czalniku węglowodorowym (mieszanka heksan-oktan lub cykloheksan); estryfikacji ulegał enancjomer R (wydajność około 97%), a osiągnięta najwyższa wydajność enancjomeryczna wynosiła 94% [36].

Podejmowane są także próby wykorzystania lipazy ROL w przemyśle oleochemicznym w procesie produkcji biodiesla (Rys. 13). Nazwa biodiesel odnosi się do estrów metylowych i etylowych syntetyzowanych z naturalnych triglicerydów i metanolu bądź etanolu na drodze alkoholizy chemicznej lub enzymatycznej:



Rysunek 13. Reakcja syntezy paliwa typu biodiesel

Figure 13. Biodiesel synthesis

Proces mikrobiologiczny jest alternatywą dla transestryfikacji alkalicznej. Podobnie jak lipaza B z *Candida antarctica*, enzym produkowany przez *Rhizopus oryzae* może być wykorzystywany do produkcji i polepszenia jakości paliwa typu biodiesel, obniżając lepkość oraz poprawiając jego właściwości fizyczne. Efektywnej ekspresji lipazy ROL dokonano także w komórkach drożdży piekarskich [37]. Dzięki zastosowaniu komórek drożdży jako katalizatorów redukuje się liczbę operacji w procesie produkcji, a usuwanie produktu ubocznego – glicerolu jest stosunkowo łatwe [38–40]. Komórki *S. cerevisiae* szczepu MT8-1 produkowały wewnątrzkomórkowo lipazę ROL w podwyższonej ilości, a ich zastosowanie po uprzedniej permeabilizacji pozwoliło na syntezę estrów metylowych z 71% wydajnością po 165 h [42].

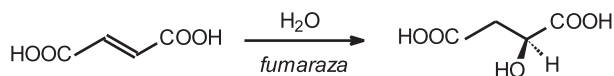
Aktywność lipaz w reakcjach biotransformacji zależy w decydującym stopniu od ich lokalizacji: mogą się one znajdować w cytozolu komórkowym oraz w ścianie komórkowej lub, podczas wzrostu komórki drożdży, mogą być także wydzielane na zewnątrz komórki [43, 44]. Stosując metody inżynierii genetycznej można sterować lokalizacją enzymu ważnego z punktu widzenia przeprowadzanej przez niego biotransformacji. Washida i in. [41] dokonali ekspozycji aktywnej lipazy z *Rhizopus oryzae* na powierzchni ściany komórkowej *Saccharomyces cerevisiae*. Takie białko było kowalencyjnie połączone ze ścianą komórkową poprzez glikozylofosfatydyloinozytolową lipidową kotwicę błonową (GPI), co umożliwiło swobodne kontaktowanie się enzymu z substratami znajdującymi się w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Zaobserwowano, że lipaza prezentowana na powierzchni ściany komórkowej wykazywała wyższą aktywność od lipazy wydzielanej zewnątrzkomórkowo. Dodatkowo zastosowano peptydy linkerowe (ang. *spacers*) składające się z powtórzonych sekwencji Gly/Ser, których obecność zwiększała odległość pomiędzy centrum aktywnym lipazy a powierzchnią komórki. Po wprowadzeniu linkera otrzymano szczególnie korzystne właściwości. Zmianom uległ metabolizm drożdży – o ile niemodyfikowane

komórki *Saccharomyces cerevisiae* nie zużywały trioleiny obecnej w podłożu, o tyle modyfikowany szczep mógł na niej wzrastać, wykorzystując ten substrat jako jedyne źródło węgla [30, 38, 41]. Łatwy dostęp do substratów podczas alkoholizy eliminuje konieczność dezintegracji komórki w celu uwolnienia enzymów [39] a zatem zastosowanie tego typu strategii eliminuje proces oczyszczania enzymów przyczyniając się do obniżenia kosztów biokatalizy.

Podejmowane są również podobne próby zwiększania efektywności produkcji lipaz przez drożdże przy wykorzystaniu innych drobnoustrojów. Na przykład dokonano ekspresji lipazy CaLIP4 (z *Candida albicans*) aktywnej w stosunku do triglicerydów [45], a także lipazy A z *Bacillus subtilis* na powierzchni komórek drożdży piekarskich; oba enzymy wykazywały dużą aktywność – 400 U/ml płynu pochodowlanego [46, 47]. Natomiast w hodowli modyfikowanego szczepu *S. cerevisiae* 2805 zaobserwowano siedmiokrotny wzrost sekrecji zewnątrzkomórkowej lipazy L1 z *Bacillus stearothermophilus* o właściwościach termoalkalicznych i posiadającej aktywność hydrolityczną w stosunku do substratów o średniej długości łańcucha węglowego [31, 45].

4. REAKCJE ADDYCJI DO WIĄZAŃ PODWÓJNYCH

Biotransformacje z udziałem genetycznie modyfikowanych drożdży piekarskich mogą znaleźć praktyczne zastosowania w syntezie kwasu L-jabłkowego. Kwas jabłkowy, będący produktem metabolizmu cukrów w komórce, jest wykorzystywany w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym jako regulator kwasowości (E 296). Enzymatyczna metoda produkcji kwasu L-jabłkowego polega na reakcji addycji wody do kwasu fumarowego katalizowanej przez fumarazę (EC 4.2.1.2). Do mikroorganizmów cechujących się wysoką aktywnością tego enzymu należą *Brevibacterium ammoniagenes* oraz *Brevibacterium flavum* [48].



Rysunek 14. Biotransformacja kwasu fumarowego w kwas L-jabłkowy
Figure 14. Biotransformation of fumaric acid to L-malic acid

Próby wykorzystania w tej reakcji szczepów drożdży piekarskich podejmowane były już od lat 90. ubiegłego stulecia, a prowadzona z udziałem tego biokatalizatora reakcja charakteryzowała się minimalną zawartością produktów ubocznych. W celu poprawy wydajności biotransformacji Peleg i in. zastosowali do produkcji kwasu L-jabłkowego modyfikowany szczep drożdży *S. cerevisiae*, który posiadał wiele kopii genu fumarazy, a tym samym cechował się nadprodukcją tego enzymu [49]. W syntezie kwasu L-jabłkowego zastosowano także szczep drożdży *Saccharomyces cerevisiae* DMM1-15A, w którym dokonano nadekspresji genu fumarazy FUM1.

Reakcję przeprowadzono w bioreaktorze, wykorzystując drożdże unieruchomione w matrycy alginianowo-krzemianowej. Zaletą procesu w porównaniu z dotychczas stosowanymi metodami była wyższa wydajność i czystość otrzymanego produktu (brak zanieczyszczeń innymi kwasami, a zwłaszcza kwasem bursztynowym), którą osiągnięto przy 100 % konwersji substratu [50].

6. KIERUNKI DOSKONALENIA KATALITYCZNYCH WŁAŚCIWOŚCI DROŻDŻY PIEKARSKICH

Przed erą inżynierii genetycznej naukowcy próbowali doskonalić szczepy drobnoustrojów metodą sterowania warunkami hodowli (temperaturą, źródłem węgla, szokiem osmotycznym bądź oksydacyjnym, czy też zastosowaniem inhibitorów) w celu wzrostu bądź osłabienia aktywności określonego enzymu. Współcześnie pożądane cechy reakcji przeprowadzanych przez mikroorganizmy uzyskuje się dzięki modyfikacjom ich genomu, polegającym najczęściej na metodzie mutagenizacji typu „knockout”, nadekspresji określonych genów, ekspresji heterologicznych białek enzymatycznych czy fuzji translacyjnej białek enzymatycznych z białkami ściany komórkowej w celu ich ekspozycji na powierzchni komórki.

Stosowanie modyfikowanych szczepów mikroorganizmów nie może eliminować etapu optymalizacji warunków ich hodowli. W celu uzyskania maksymalnej wydajności reakcji katalizowanej przez komórki drożdży produkujące enzymy rekombinowane lub też cechujące się zwiększoną sekrecją wybranych białek enzymatycznych, niezbędny jest obok prawidłowo przeprowadzonej modyfikacji genetycznej, także właściwy dobór składu pożywki hodowlanej, w tym źródła węgla, azotu, substancji indukujących czy soli mineralnych [36].

Na przykładzie doświadczeń związanych z nokautowaniem genów określonych reduktaz widać, że często niemożliwe jest całkowite wyeliminowanie aktywności enzymów o niepożądanych lub konkurujących selektywnościach. Można jednak zastosować metody alternatywne, polegające na klonowaniu genów reduktaz *Saccharomyces cerevisiae* i ich ekspresji w komórkach innego gospodarza np. bakterii *Escherichia coli* [10].

Pomimo postępującego rozwoju różnych metod prezentacji białek na powierzchni komórki, wiele problemów z nimi związanych nie zostało jeszcze do końca wyjaśnionych. Ważną kwestię stanowi redukcja aktywności enzymu na powierzchni komórki w porównaniu z jego wolną formą. Przyczyną tego zjawiska mogą być: przeszkody natury przestrzennej, niepełna ekspozycja białka, nieprawidłowe sfałdowanie białka lub brak jego sfałdowania, a także odpychanie substratu na skutek hydrofobowego oddziaływania ze ścianą komórkową. Strategią mającą zapobiec wyżej wymienionym wadom jest fuzja białka mającego ulec ekspresji z peptydami ściany komórkowej. Dodatkowe zastosowanie łącznika peptydowego określonej długości pomaga w właściwym sfałdowaniu obu białek oraz zapobiega ich funkcjonalnej interferencji między sobą oraz z elementami ściany komórkowej. Łącznik

może odgrywać także pozytywną rolę w modyfikacji właściwości katalitycznych rekombinowanych enzymów. Wyzwaniem stanowi ekspozycja białka składającego się z więcej niż jednej podjednostki. Należy jednak pamiętać, że prezentacja wielu białek na powierzchni ściany komórkowej może być dużym obciążeniem dla komórki, powodując osłabienie jej wzrostu, a nawet śmierć [51].

Wykorzystanie drożdży piekarskich jako katalizatorów w biotransformacjach stanowi przydatne rozwiązanie ze względu na brak konieczności wprowadzania kosztownych i pracochłonnych etapów oczyszczania enzymów. Zastosowanie całych komórek pozwala na samorzutny proces regeneracji kofaktora oraz sterowanie stopniem jego regeneracji. Strategie zwiększania wydajności i selektywności reakcji katalizowanych przez drożdże piekarskie wykorzystujące techniki rekombinowanego DNA, stanowią alternatywę dla strategii opierających się na zmianach warunków hodowli, czy stosowania selektywnej inaktywacji bądź inhibicji enzymów. Skonstruowanie i selekcja wybranego szczepu wymagają czasu i nakładów finansowych, jednak takie podejście daje w ostatecznym efekcie wymierne rezultaty i cechuje się łatwością zastosowania w praktyce [16].

Przyszłość wydajnych biotransformacji, a w szczególności bioredukcji z udziałem komórek drożdży wymaga połączenia różnych podejść – zastosowania zarówno inżynierii genetycznej obejmującej modyfikację szczepów, jak i optymalizacji dostępności kofaktora, a także optymalizacji warunków hodowlanych i składników podłoża [11]. Zagadnienia, nad którym skupią się naukowcy obejmować będą między innymi: usprawnienie transportu substratów do wnętrza komórki oraz procesu uwalniania z niej produktów, poprawienie czasu reakcji oraz zastosowanie immobilizacji w celu wielokrotnego użycia drożdży. Uwaga poświęcona zostanie enzymom, których ekstrakcja z komórek drożdży i otrzymywanie jest trudne i drogie, a znacznie łatwiej jest je otrzymać na powierzchni komórki. Ponadto odrębny problem stanowić będzie powiększenie skali procesu ze skali laboratoryjnej z użyciem laboratoryjnych szczepów, na warunki przemysłowe z użyciem szczepów przemysłowych [52].

Prowadzone badania nad ekspresją heterologicznych niespecyficzných lipaz z *Candida antarctica*, *Pseudomonas cepacia* bądź lipaz tolerancyjnych w stosunku do metanolu, mogą prowadzić do rozwoju rekombinowanych biokatalizatorów pozwalających na jeszcze wydajniejszą transestryfikację olejów roślinnych [38].

Rozwojem badań nad ekspresją białek (nie tylko enzymów) w różnych drożdżach, w tym *Saccharomyces cerevisiae* zainteresowany jest także przemysł farmaceutyczny, szczególnie w aspekcie otrzymywania preparatów takich jak albumina surowicy ludzkiej, oksydaza glukozowa, insulina, interferon beta, szczepionka przeciwko żółtacze [53, 54].

PODSUMOWANIE

Biotransformacje z udziałem drożdży piekarskich stosowane są coraz szerzej na skalę przemysłową, z uwagi na ich konkurencyjność pod względem ekonomicznym w stosunku do metod chemicznych. Ponadto spełniają one wszelkie wymagania ekologiczne. Procesy z ich zastosowaniem stanowią klasyczny przykład tzw. „zielonej chemii”, ponieważ wykorzystuje się w nich surowce odnawialne (drożdże oraz glukozę lub sacharozę), a reakcje najczęściej zachodzą w środowisku wodnym i w temperaturze pokojowej oraz nie przyczyniają się do produkcji toksycznych odpadów. Enzymy komórkowe nie zawsze jednak wykazują satysfakcjonującą aktywność, stabilność, a co najważniejsze selektywność reakcji. Obecny rozwój biotechnologii, a w szczególności inżynierii genetycznej, stwarza nowe perspektywy dla rozszerzenia zakresu zastosowań i poprawienia wydajności enancjomerycznych reakcji katalizowanych przez drożdże z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*. Za pomocą technologii rekombinowanego DNA ulepsza się cechy komórek drożdży, bądź konstruuje szczepy o nowych cechach, przydatnych z punktu widzenia przeprowadzanych przez nie biotransformacji. Przytoczone w pracy przykłady, dotyczące modyfikacji ekspresji lipaz i oksydoreduktaz, ilustrują możliwości projektowania szczepów drożdży piekarskich na drodze inżynierii szlaków metabolicznych i inżynierii białek.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] K. Faber, *Biotransformations in organic chemistry*, Springer Verlag 2000.
- [2] A. Niemiec, W. Szeja, *Biotechnologia*, 2001, **3**, 104.
- [3] S.M. Roberts, I. Trans, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2000, 611.
- [4] W.A. Loughlin, *Biosource Technol.*, 2000, **74**, 49.
- [5] E. Nevoigt, *Microb. Mol. Biol. Rev.*, 2008, 379.
- [6] R. Csuk, B.I. Glanzer, *Chem. Rev.*, 1991, 49.
- [7] S. Servi, *Synthesis*, 1990, 1.
- [8] E. Białecka-Florjańczyk, E. Majewska, *Biotechnologia*, 2006, **3**, 113.
- [9] G.M. Walker, *Yeast physiology and biotechnology*, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex 1998.
- [10] J.D. Stewart, *Curr. Op. Biotech.*, 2000, **11**, 363.
- [11] T. Johanson, M. Katz, M.F. Gorwa-Grauslund, *FEMS Yeast Res.*, 2005, **5**, 513.
- [12] M. Katz, B. Hahn-Hagerdal, M.F. Gorwa-Grauslund, *Enz. Microb. Technol.*, 2003, **33**, 163.
- [13] K. Nakamura, Y. Kawai, N. Nakajima, A. Ohno, *J. Org. Chem.*, 1999, **56**, 4778–4783.
- [14] W.R. Shieh, A.S. Gopalin, C.J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 2993.
- [15] M.M. Kayser, M.D. Mihovilovich, J. Kearns, A. Feicht, J.D. Stewart, *J. Org. Chem.*, 1999a, **64**, 6603.
- [16] S. Rodriguez, M.M. Kayser, J.D. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 1547.
- [17] H. Engelking, R. Pfaller, G. Wich, D. Weuster-Botz, *Enz. Microb. Technol.*, 2006, **38**, 536.
- [18] I. Sarvary, F. Almqvist, T. Frejd, *Chem. Eur. J.*, 2001, **10**, 2158–2166.
- [19] M. Katz, I. Sarvary, T. Frejd, B. Hahn-Hagerdal, B. Gorwa-Grauslund, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, **59**, 641.
- [20] F. Almqvist, L. Eklund, T. Frejd, *Synth Commun.*, 1993, **6**, 957–960.

- [21] Y. Johanson, M. Carlquist, C. Olsson, A. Rudolf, T. Frejd, M.F. Gorwa-Grauslund, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, **77**, 1111.
- [22] M. Carlquist, C. Wallentin, K. Warnmark, M.F. Gorwa-Grauslund, *Tetrahedron Asymm.*, 2008, **19**, 2293.
- [23] M. Carlquist, C. Olsson, B. Bergdahl, E.W.J. van Niel, M.F. Gorwa-Grauslund, T. Frejd, *J. Mol. Catal. B*, 2009, **58**, 98.
- [24] N.S. Parachin, M. Carlquist, M.F. Gorwa-Grauslund, *Appl. Microb. Biotechnol.*, 2009, **84**, 487–497.
- [25] S. Rodriguez, K.T. Schroeder, M.M. Kayser, J.D. Stewart, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 2586–2587.
- [26] V. Alphand, G. Carrea, R. Wohlgemuth, R. Furstoss, J.M. Woodley, *Trends Biotechnol.*, 2003, **21**, 318.
- [27] M.M. Kayser, G. Chen, J.D. Stewart, *Syntet.*, 1999, **1**, 153.
- [28] J.D. Stewart, K. Reed, M.M. Kayser, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1996**, 755.
- [29] J.D. Stewart, K.W. Reed, C.A. Martinez, J. Zhu, G. Chen, M.M. Kayser, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 3541.
- [30] M. Ueda, S. Takahashi, M. Washida, S. Shiraga, A. Tanaka, *J. Mol. Catal. B*, 2002, **17**, 113.
- [31] E. Białecka-Florjańczyk, J. Krzyczkowska, I. Stolarzewicz, *Biocatalysis and Biotransformation*, 2010, **28**, 288.
- [32] J.O. Ahn, E.S. Choi, H.W. Lee, S.H. Hwang, C.S. Kim, H.W. Jang, S.J. Haam, J.K. Jung, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, **64**, 833.
- [33] M. Adamczak, W. Bednarski, *Biotechnologia*, 1994, **4**, 140.
- [34] T. Tanino, T. Ohno, T. Aoki, H. Fukuda, A. Kondo, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, **75**, 1319.
- [35] S.Y. Han, Z.Y. Pan, D.F. Huang, M. Ueda, X.N. Wang, Y. Lin, *J. Mol. Catal. B*, 2009, **59**, 168.
- [36] T. Matsumoto, M. Ito, H. Fukuda, A. Kondo, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, **64**, 481.
- [37] T. Matsumoto, S. Takahashi, M. Ueda, A. Tanaka, H. Fukuda, A. Kondo, *J. Mol. Catal. B*, 2002, **17**, 143.
- [38] H. Fukuda, S. Hama, S. Tamalampudi, H. Noda, *Trends Biotechnol.*, 2008, **26**, 668.
- [39] S. Takahashi, M. Ueda, H. Atomi, H.D. Beer, U.T. Bornscheuer, R.D. Schmid, A. Tanaka, *J. Ferment. Bioeng.*, 1998, **86**, 164.
- [40] S. Takahashi, M. Ueda, A. Tanaka, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, **52**, 534.
- [41] M. Washida, S. Takahashi, M. Ueda, A. Tanaka, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **56**, 681.
- [42] T. Matsumoto, S. Takahashi, M. Kaieda, H. Fukuda, M. Ueda, A. Tanaka, A. Kondo, *Appl. Microb., Biotechnol.* 2001, **57**, 5175.
- [43] F.J. Deive, E. Carvalho, L. Pastrana, M.L. Rua, M.A. Longo, M.A. Sanroman, *Bioresource Technol.*, 2009, **100**, 3630.
- [44] J. Krzyczkowska, I. Stolarzewicz, D. Nowak, E. Białecka-Florjańczyk, 2010, artykuł w druku.
- [45] F. Breinig, M.J. Schmitt, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, **58**, 637.
- [46] M. Mormeneo, I. Andres, C. Bofill, P. Diaz, J. Zuezo, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, **80**, 437.
- [47] J.L. Roustan, A. Rascon Chu, G. Moulin, F. Bigey, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2005, **68**, 203.
- [48] A.V. Presečki, B. Zelić, D. Vasić-Rački, *Enzyme Microb. Techn.*, 2007, **41**, 605.
- [49] Y. Peleg, J.S. Rokem, I. Goldberg, O. Pines, *Appl. Environ. Microb.*, 1990, **56**, 2777.
- [50] E. Bressler, O. Pines, I. Goldberg, S. Braun, *Biotechnol. Prog.* 2002, **18**, 445.
- [51] S.Y. Lee, J.H. Choi, Z. Xu, *Trends Biotechnol.*, 2003, **21**, 45.
- [52] S. Dequin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **56**, 577.
- [53] R.F. Schmidt, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2004, **65**, 363–372.
- [54] R. Wohlgemuth, *Chimia*, 2005, **59**, 735.

CZY WKOŁO NAS WYROŚNIE NANORURKOWY LAS?

WILL A NANOTUBE FOREST GROW AROUND US?

Artur P. Terzyk*, Bartosz Kruszka, Marek Wiśniewski

*Wydział Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu,
Katedra Chemii Materiałów, Adsorpcji i Katalizy,
Zespół Fizykochemii Materiałów Węglowych,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń
e-mail: aterzyk@chem.uni.torun.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

1. Wprowadzenie
2. Metoda CVD oraz parametry opisujące lasy CNTs
3. Synteza lasów SWNTs, DWNTs i MWNTs a rola podłoża
4. Rola kierunku przepływu gazu oraz funkcja wody podczas syntezy lasów nanorurkowych
5. Wysoka czystość lasów CNTs i struktury ukształtowane
6. Selektywność procesu SGCVD. Inne metody otrzymywania lasów nanorurek węglowych

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

dr hab. Artur P. Terzyk, prof. UMK ukończył studia w roku 1991 na Wydziale Chemii UMK w Toruniu. Pracę doktorską (1995) pod tytułem *Kalorymetryczne badanie oddziaływań międzycząsteczkowych w układzie: adsorbat: mikroporowaty węgiel aktywny* wykonał pod kierunkiem prof. dr hab. G. Rychlickiego (rozprawa została wyróżniona). Jest stypendystą Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (1996 rok). Rozprawę habilitacyjną *Węgle aktywne – nowoczesne metody charakteryzacji oraz zastosowanie do adsorpcji substancji biologicznie czynnych* obronił (z wyróżnieniem) w roku 2005. Rozprawa została wyróżniona także nagrodą Prezesa Rady Ministrów. Jest współautorem dwóch monografii: P.A. Gauden, A.P. Terzyk, *Zarys teorii adsorpcji par gazów w mikroporach materiałów węglowych*, WICHiR, Warszawa, 2002; Artur P. Terzyk, Piotr A. Gauden i P. Kowalczyk (Eds.), *Carbon Materials Theory and Practice*, Research Signpost, 2008. Od 2008 roku pełni funkcję kierownika zespołu Fizykochemii Materiałów Węglowych. Jest członkiem komitetu naukowego konferencji ISSHAC, współautorem 160 publikacji w czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz 100 komunikatów konferencyjnych. Jest promotorem dwóch rozpraw doktorskich. Jego główne zainteresowania naukowe koncentrują się wokół zagadnień związanych z adsorpcją z roztworów, kalorymetrią adsorpcji oraz teoretycznym opisem procesów sorpcji zachodzących na materiałach węglowych z zastosowaniem modeli analitycznych i symulacji komputerowych.

Bartosz Kruszka jest studentem III roku na Wydziale Chemii UMK w Toruniu, gdzie od 2008 odbywa studia licencjackie. Pracę licencjacką pisze pod kierunkiem dr hab. A.P. Terzyka, prof. UMK. Jest współautorem jednej publikacji w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Jego główne zainteresowania naukowe koncentrują się wokół syntezy i własności adsorpcyjnych nanorurek węglowych.

dr Marek Wiśniewski ukończył studia w roku 1998 na Wydziale Chemii UMK w Toruniu. Pracę doktorską (2003) pod tytułem *Filmy węglowe jako materiały modelowe w badaniach mechanizmu katalitycznej redukcji tlenku azotu(II) za pomocą amoniaku* wykonał pod kierunkiem prof. dr hab. J. Zawadzkiego (rozprawa została wyróżniona). Jest współautorem ponad trzydziestu publikacji w czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz ponad czterdziestu komunikatów konferencyjnych. Jego główne zainteresowania naukowe koncentrują się wokół kalorymetrii adsorpcyjnej oraz syntezy nowych materiałów węglowych.

ABSTRACT

In this study we describe the methods of preparation of a new class of carbon nanotubes i.e. pure and highly organized materials: carbon nanotube forests [3, 5]. High yield of this new method is caused by an increase in catalytic activity and life of used catalysts mainly due to an addition of steam to the reaction. The assistance of steam during the synthesis (the method is called „Super Growth Chemical Vapor Deposition”[3, 5]) leads to SWNTs forests having the height up to 4.0 mm. Such result is 100 times better in terms of efficiency than the previously reported records. Such synthesized, aligned materials are extremely high, super-highly dense and vertical-standing [Figs 2–4]. Moreover, this method leads to the purest SWNT material (over 99.98%) ever made. SWNTs are very easily separable from the catalysts and could be used without further purification. Highly efficient growth of SWNTs and DWNTs forests on conducting metal foils is also discussed. It is shown that such foils made of Ni-based alloys with Cr or Fe are excellent materials for the synthesis [3, 5, Fig. 3]. Under conditions where steam is added predominantly SWNTs (having the diameter 2.8 nm) are formed. Synthesis with an addition of oxygen-containing aromatics as growth enhancers is also described [figs. 16,17]. These enhancers caused the grow of CNTs having different diameters and wall numbers under identical reaction conditions. Creation of double-walled carbon nanotubes with populations as high as 84% and with the average size of 5.4 nm is possible with an insertion of methyl-benzoate. The creation of multi-walled CNTs is possible with an addition of benzaldehyde [9, Fig. 16].

Keywords: carbon nanotube forest (SWNTs, DWNTs, MWNTs), water-assisted CVD method, „Super Growth CVD”, CNT

Słowa kluczowe: las nanorurek węglowych (jednościennych, dwuściennych, wielościennych), metoda CVD w obecności pary wodnej, Super Wzrost CVD, nanorurka węglowa

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

| | |
|----------------------|---|
| CVD | – metoda chemicznego osadzania par z fazy gazowej (ang. <i>Chemical Vapor Deposition</i>) |
| HRTEM | – wysokorozdzielcza transmisyjna mikroskopia elektronowa (ang. <i>High-Resolution Transmission Electron Microscopy</i>) |
| HRSEM | – wysokorozdzielcza elektronowa mikroskopia skaningowa (ang. <i>High-Resolution Scanning Electron Microscopy</i>) |
| TEM | – elektronowa mikroskopia transmisyjna (ang. <i>Transmission Electron Microscopy</i>) |
| SWNT | – jednościenna nanorurka węglowa (ang. <i>single-walled nanotube</i>) |
| DWNT | – dwuścienna nanorurka węglowa (ang. <i>double-walled nanotube</i>) |
| MWNT | – wielościenna nanorurka węglowa (ang. <i>mutli-walled nanotube</i>) |
| CNT | – nanorurka węglowa (ang. <i>carbon nanotube</i>) |
| TGA | – analiza termo-grawimetryczna (ang. <i>thermo-gravimetric analysis</i>) |
| STP | – warunki normalne (ang. <i>Standard Temperature and Pressure</i>) |
| SEM | – elektronowa mikroskopia skaningowa (ang. <i>Scanning Electron Microscopy</i>) |
| ρ | – gęstość lasów (g/cm^3) (ang. <i>forest mass density</i>) |
| $n(\text{SWNT})$ | – gęstość powierzchniowa SWNT (cm^{-2}) (ang. <i>area density SWNT</i>) |
| $\lambda(\text{av})$ | – gęstość (g/cm), określona jako średnia masa SWNT na jednostkę długości (ang. <i>average linear mass density</i>) |
| η | – aktywność katalizatora (ang. <i>catalyst activity</i>) |
| β | – początkowa szybkość wzrostu (IGR) (ang. <i>Initial Growth Rate</i>) |
| τ_0 | – długość życia katalizatora (ang. <i>catalyst lifetime</i>) |

1. WPROWADZENIE

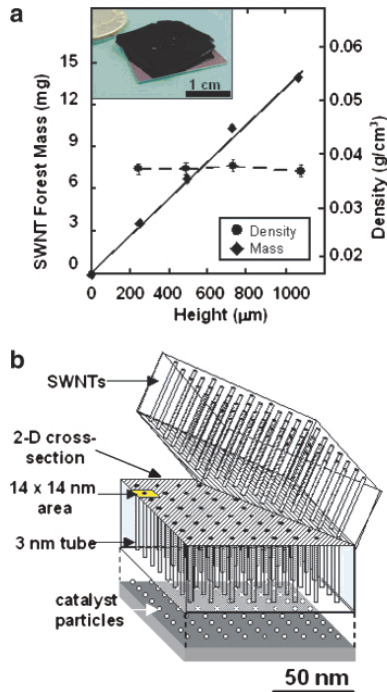
Jednym z głównych problemów związanych z zastosowaniem nanorurek węglowych w nanomedycynie jest niska czystość produktu co jest powodem konieczności dodatkowego oczyszczania, a zatem zwiększenia kosztów produkcji i ceny materiału. Z tego również powodu wynikało wiele sprzecznych doniesień literaturowych w kwestii toksyczności nanorurek węglowych [1]. Interesujące jest to, że ponad wszelką wątpliwość wykazano, iż nanorogi węglowe nie są toksyczne [2], zatem doniesienia o toksyczności nanorurek wzbudzają zdziwienie. Ponadto w przypadku nanorurek otrzymanie monolitycznego i zorganizowanego materiału przez rozproszenie w roztworze i uporządkowanie po odparowaniu rozpuszczalnika okazuje się być niezwykle trudne.

Najnowsze doniesienia literaturowe zdają się wskazywać na możliwość rozwiązania wspomnianych powyżej problemów, głównie poprzez poprawę aktywności oraz długości działania katalizatorów stosowanych podczas syntezy. Poprawę tę uzyskano dzięki dodawaniu pary wodnej do obszaru wzrostu nanorurek – metoda nazwana została SGCVD (ang. *Super Growth Chemical Vapor Deposition*). Przy zachowaniu odpowiednich warunków jako rezultat zastosowania klasycznej metody CVD lecz przeprowadzanej w obecności pary wodnej (SGCVD) otrzymuje się wysoki (o wysokości mogącej dochodzić nawet do kilku milimetrów), gęsty i pionowy las nanorurkowy. Dodatkową zaletą wynikającą z nowej metody preparatyki jest łatwość oddzielania otrzymanych lasów od podłoża. Pozyskany materiał charakteryzuje się bardzo wysoką czystością (ponad 99,98%) i nie wymaga dodatkowego oczyszczania. Warto wspomnieć, że metoda pozwala na kontrolowanie średnic oraz liczby ścian otrzymanych nanorurek i ich gęstości powierzchniowej. Znajomość ostatniego parametru umożliwia uniknięcie problemu związanego z trudną do wyznaczenia dystrybucją tzw. wtórnej porowatości powstającej pomiędzy zazwyczaj spletanymi nanorurkami.

Niniejsza praca skupia się na przedstawieniu podstawowych aspektów związanych z otrzymywaniem i charakteryzacją lasów nanorurkowych.

2. METODA CVD ORAZ PARAMETRY OPISUJĄCE LASY CNTs

Chociaż klasyczna CVD jest jedną z najpopularniejszych metod syntezy SWNTs, to nie jest wolna od wad. Jej mankamentem jest bardzo niska aktywność katalizatora co w praktyce oznacza, że tylko na kilku procentach jego powierzchni (która niezwykle szybko ulega zatruciu) następuje wzrost nanorurek. Również pozostałości katalizatora są obecne w materiale jako zanieczyszczenia i wymaga on dalszego chemicznego oczyszczania [3, 4] a taki stan może być jedną z głównych przyczyn toksyczności nanorurek [1].



Rysunek 1. Jednorodność gęstości lasu. (a) Wykres zależności gęstości lasu SWNT od wysokości (linia ciągła). Koła oznaczają obliczoną gęstość dla każdej z wysokości (linia przerywana). Wkładka: Fotografia próbki dla której otrzymano makroskopowej wielkości las SWNT (~1 mm wysokości) używany do badań (b) Schemat prezentujący las SWNT, powierzchnię przekroju i powierzchnię katalizatora. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [4]

Figure 1. Forest uniform mass density. (a) Plot of the SWNT forest mass as a function of height (solid line). Circles represent the calculated density for each height (dashed line). Inset: Photograph of the macroscopically large SWNT forest sample (2 × 2 cm, ~1 mm tall) used for this analysis (after several TEM samples had been removed). (b) Schematic representation of the SWNT forest illustrating the uniformity of the SWNT forest, the 2-D cross-sectional surface, and the catalyst coated substrate surface. Reprinted with permission from N. Futaba, K. Hata, T. Namai, T. Yamada, K. Mizuno, Y. Hayamizu, M. Yumura, S. Iijima, J. Phys. Chem. B, 2006, **110**, 8035–8038. Copyright 2006 American Chemical Society

Znaczący przełom niwelujący niską wydajność osiągnięty został przez dodanie do układu, w którym zachodzi synteza rurek z zastosowaniem klasycznej metody CVD – niewielkich i regulowanych ilości pary wodnej. Powoduje to intensywny wzrost na podłożu katalizatora bardzo gęstych, ułożonych pionowo wolnych od zanieczyszczeń lasów SWNT o wysokości rzędu milimetra. Przypuszcza się, że otrzymane struktury mogą otworzyć nieznanne dotąd możliwości zarówno w badaniach naukowych jak i w zastosowaniach nanorurek. Dla przykładu w konstrukcji polaryzatorów czy membran. Wiadomym jest, że aktywność katalizatora podczas procesu SGCVD jest bardzo wysoka, ale dokładne wyjaśnienie mechanizmu procesu pozostaje nieznanne. W związku ze wspomnianymi wcześniej właściwościami otrzymanych nanorurek jak i niskimi kosztami produkcji, metoda ta budzi ogromne nadzieje. Ponie-

waż autorzy niniejszej pracy przewidują w niedalekiej przyszłości stosowanie metody SGCVD na masową skalę, warto zatem przybliżyć procedury charakteryzacji otrzymanych nanolasów.

W dalszej części niniejszej pracy zdefiniowane zostaną wielkości charakteryzujące sam las oraz proces jego otrzymywania – aktywność katalizatora SGCVD, gęstość masy, gęstość rurek w lasach SWNT. Zaprezentowane zostaną także wyniki otrzymane przez autorów metody [4] polegające na badaniu warstwy o powierzchni $2 \times 2 \text{ cm}^2$ otrzymanej na podłożu krzemowym (warstwa utleniona miała grubość 600 nm), zawierającej las SWNT o wysokości $\sim 1 \text{ mm}$.

Typowy proces syntezy metodą SGCVD przeprowadza się napyłając na podłoże warstwy Al_2O_3 (10 nm) oraz Fe (1,2 nm) po czym całość umieszcza się w kwarcowym piecu rurowym. Synteza lasu SWNT odbywa się w temperaturze 750°C pod ciśnieniem jednej atmosfery. Źródłem węgla jest zwykle etylen. Podczas syntezy jako gaz nośny stosuje się hel z dodatkiem wodoru. Czas reakcji wynosi około dziesięciu minut. Otrzymywane lasy SWNT charakteryzują się jednorodnym rozkładem masy w kierunku wzrostu. Wykres zmiany masy lasów SWNT, dla różnych czasów wzrostu w zależności od wysokości, przedstawiony jest na Rysunku 1a. Wyznaczona dla różnych wysokości gęstość jest praktycznie stała i wynosi $0,037 \pm 0,002 \text{ g/cm}^3$ (kropkowana linia na Rysunku 1a). Z otrzymanych rezultatów ponadto wynika, że każdy przekrój poprzeczny lasów SWNT może być rozpatrywany jako taki sam i pozwala bezpośrednio porównać powierzchnię przekroju lasów SWNT z powierzchnią katalizatora (Rys. 1b).

Aktywność katalizatora (η) można obliczyć ze wzoru:

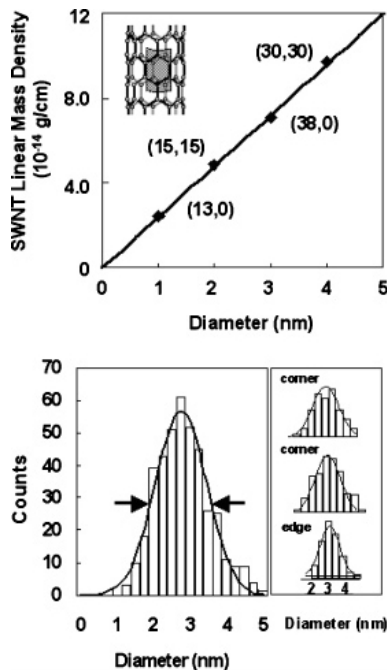
$$\eta = n(\text{SWNT})/n(\text{cat}) \quad (1)$$

gdzie $n(\text{SWNT})$ i $n(\text{cat})$ są gęstościami powierzchniowymi SWNT oraz katalizatora wyrażanymi w cm^{-2} . Gęstość powierzchniowa SWNT może być obliczona z gęstości lasów jako:

$$\rho = n(\text{SWNT})\lambda(av) \quad (2)$$

gdzie ρ (g/cm^3) jest gęstością lasów, zaś $\lambda(av)$ (g/cm) jest średnią gęstością liniową określoną jako średnia masa SWNT na jednostkę długości.

SWNTs o różnych średnicach przypuszczalnie mają także różną gęstość. Liniową gęstość SWNT o dowolnym indeksie chiralności można obliczyć rozważając jej model atomowy. Za pomocą modelu komórki elementarnej bardzo łatwo można obliczyć gęstość powierzchniową pojedynczej SWNT, a znając tą wartość można wyznaczyć gęstość linową (Rys. 2) [4].



Rysunek 2. Gęstość liniowa. (a) Obliczona gęstości pojedynczej SWNT w zależności od średnicy wyznaczonej z modelu atomowego (b) Histogram rozkładu średnicy SWNT z analizy TEM dla centralnej części lasu. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [4]

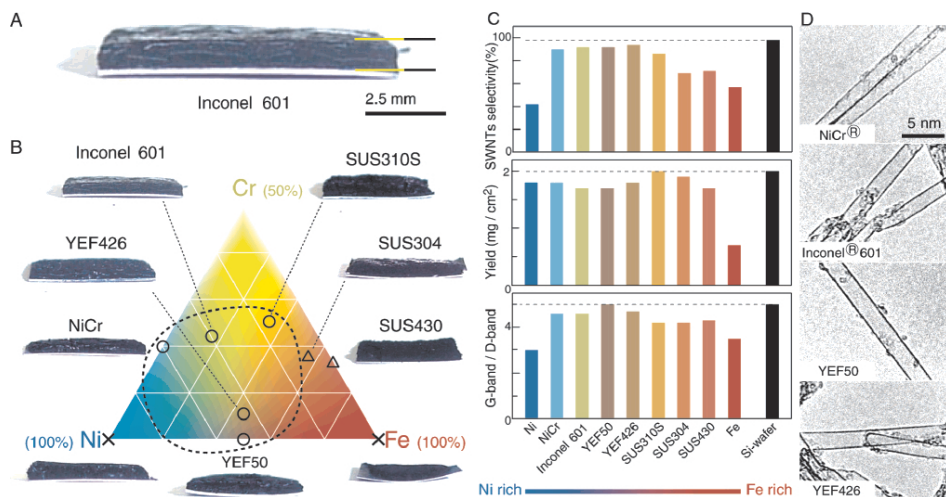
Figure 2. Linear mass density. (a) Plot of the calculated linear mass density for an individual SWNT as a function of diameter from an atomic model. (b) SWNT diameter distribution histogram from TEM analysis of the center of the forest. Reprinted with permission from N. Futaba, K. Hata, T. Namai, T. Yamada, K. Mizuno, Y. Hayamizu, M. Yumura, S. Iijima, *J. Phys. Chem.*, 2006, **110**, 8035–8038. Copyright 2006 American Chemical Society

Interesującym jest, że gęstość liniowa jest funkcją średnicy i prawie nie zależy od chiralności nanorurek (Rys. 2a). W związku z tym wyznaczenie średniej liniowej gęstości lasu wymaga znajomości średnicy powstających nanorurek. Metodą stosowaną w tym celu jest sporządzenie serii zdjęć TEM i wykreślenie histogramu (Rys. 2b), który po dopasowaniu za pomocą funkcji np. Gaussa pozwala na wyznaczenie najbardziej prawdopodobnej średnicy (w tym przypadku $3,0 \pm 0,3$ nm). Z danych zamieszczonych na Rysunku 2b wynika także, iż próbki analizowane w różnych miejscach lasu wskazują podobną wielkość średniej średnicy nanorurek.

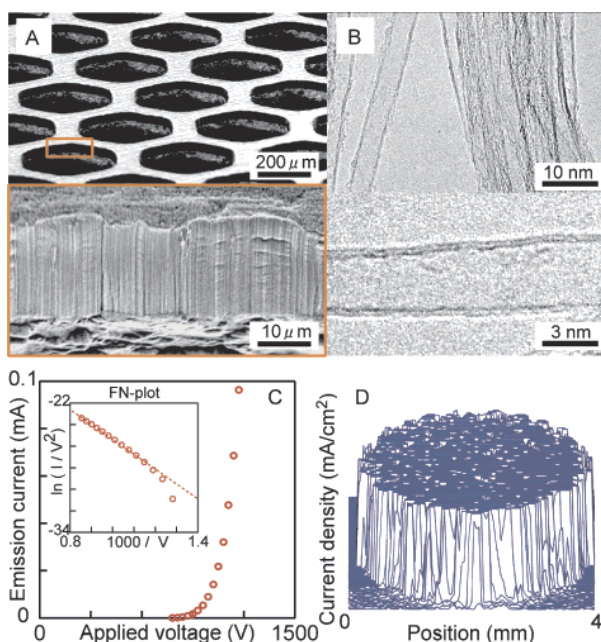
3. SYNTEZA LASÓW SWNTs, DWNTs I MWNTs A ROLA PODŁOŻA

Ponieważ ogromne znaczenie w syntezie nanolasów, odgrywa podłoże pełniące rolę katalizatora, autorzy metody SGCVD podjęli szereg prób mających na celu dobór jego optymalnego składu. Tak też początkowo syntezę SWNT próbowano

przeprowadzać na płytkach krzemowych czy kwarcowych. Jednakże doprowadzało to do występowania niepożądanych efektów, w wielu przypadkach powstawały rurki wielościennie a dodatkowo tworzył się grafit. Wysoce wydajny wzrost lasów SWNT i DWNT zaobserwowano na metalowych foliach. Okazało się, że płytki wykonane ze stopów na bazie Ni i Cr lub Fe są doskonałymi podłożami dla syntezy SWNT. Autorzy metody SGCVD podjęli także próby otrzymywania lasów SWNT na foliach wykonanych z innych metali jak np. Al czy Mo. Jednakże w wielu przypadkach napotkano na trudności, na przykład Al topił się w wyższej temperaturze, a nanorurki otrzymane na podłożu Mo, Ta i Nb charakteryzowała mała odporność mechaniczna. Z kolei podłoża składające się ze Ag i Cu w ogóle nie katalizowały wzrostu CNT. Okazało się, że stopy na bazie Ni z dodatkiem Cr lub Fe posiadają zarówno wysoką odporność na warunki metody SGCVD, jak również wydajnie katalizują syntezę lasów SWNT i DWNT. Sukcesem zakończyła się także synteza lasów SWNT na podłożach wykonanych z różnych stopów komercyjnych (Ni-Fe-Cr) takich jak: Inconel 601, YEF 426, NiCr, YEF 50, SUS 310S [3, 5].



Wyniki badań metodą TEM potwierdzają, że otrzymane lasy nanorurkowe wykazują podobny poziom wzrostu jak nanorurki wyhodowane na płytkach krzemowych (Rys. 3d). Również wydajność wzrostu na płytkach wykonanych ze stopów była bardzo wysoka i prawie równa tej otrzymanej dla płytek krzemowych (diagram obrazujący wydajność zamieszczony jest na Rysunku 3c). Wyniki eksperymentu pokazały, że stop na bazie Ni z Fe/Cr jest doskonałym podłożem dla syntezy SWNT. Szczegółowa analiza za pomocą TEM ujawniła, że CNT hodowane na Ni, Fe i stopach Fe-Cr (SUS 430, SUS 304) zawierały nie tylko SWNT, ale także MWNT. Stosunek pasma G/D dla CNT, które urosły na tych płytkach był niższy. Powstawanie MWNT autorzy publikacji [5] tłumaczą jako rezultat efektu katalitycznego Fe i Ni zawartego w podłożu. Wzrost na cieńszej katalitycznej warstwie żelaza doprowadza wyłącznie do zmniejszenia wydajności, podczas gdy produkt zachował ten sam skład SWNT/MWNT.



Rysunek 4. DWNT/YEF 426 jako źródło promieniowania elektronowego. (A) Zdjęcia SEM przedstawiające las DWNT, który wyrósł na YEF 426. (B) Zdjęcia TEM dwuciennych nanorurek węglowych. (C) Emisja prądu w zależności do przyłożonego napięcia. (D) Widmo emisji gęstości natężenia prądu dla źródła promieniowania elektronowego w przedziale 0,00–1,00 mA/cm². Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [5]

Figure 4. DWNT/YEF 426 as an electron field emitter. (A) Scanning electron microscopy images of a DWNT forest directly grown on a YEF 426 grid. (B) TEM images of the DWNTs. (C) Emission current versus applied voltage profile. (D) Emission distribution profile of an electron emitter at a display range of 0.00–1.00 mA/cm². Reprinted with permission from T. Hiraoka, T. Yamada, K. Hata, N. Futaba, H. Kurachi, S. Uemura, M. Yumura, S. Iijima, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 13339. Copyright 2006 American Chemical Society

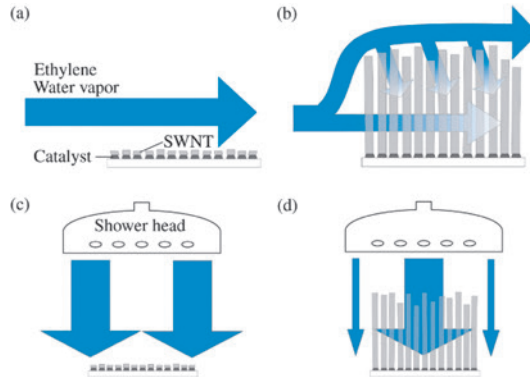
Aby zaprezentować możliwość stosowania lasów CNT jako elektrod oraz udowodnić występowanie bezpośredniego kontaktu elektrycznego lasów CNT z podłożem, zmierzono emisję elektronową CNT/folia z katody do anody. W tym celu wyhodowano małe lasy DWNT na metalowej katodzie wykonanej z YEF 426 o średnicy 1 cm (Rys. 4a).

Zdjęcia TEM potwierdziły, że większość otrzymanych opisywaną metodą CNT była dwuścienna. Zgodnie z równaniem Fowlera-Nordheima emisja prądu wzrastała wykładniczo wraz ze wzrostem pola elektrycznego (Rys. 4c). Emisja prądu w zakresie 0,00–1,00 mA/cm² wskazywała na doskonałą jednorodność (Rys. 4d), a jak wiadomo jednorodna emisja DWNT jest dowodem na dobrą styczność pomiędzy DWNT a podłożem.

Podstawowy wniosek opisywanych badań to stwierdzenie, że folie metalowe jako podłoża w procesie SGCVD są o wiele bardziej ekonomiczne oraz łatwiejsze do obróbki w porównaniu z płytkami krzemowymi lub podłożami z kwarcu [3, 5]. Zatem stanowią najbardziej obiecujące podłoża stosowane do syntezy lasów rurkowych. Z przytoczonych powyżej obserwacji wynika, że wzrost lasu nanorurek węglowych metodą SGCVD obserwowano na szerokiej gamie różnorodnych podłoży: nanocząstki żelaza, cienkie filmy, płytki krzemowe, kwarc, folie metalowe itd. – pozwala to stwierdzić, że opisywana metoda nie należy do zbyt skomplikowanych.

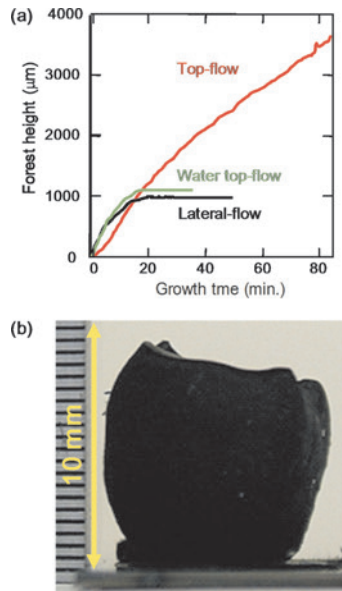
4. ROLA KIERUNKU PRZEPLYWU GAZU ORAZ FUNKCJA WODY PODCZAS SYNTEZY LASÓW NANORURKOWYCH

Badania wpływu kierunku przepływu gazu na jakość i wydajność syntezy lasów (Rys. 5) świadczą, że najbardziej korzystny jest przepływ odgórny (Rys. 5 c i d) co z kolei związane jest z dostępem mieszaniny gazowej do katalizatora [6]. Wniosek ten potwierdzają dane zamieszczone na Rysunku 6. Z kolei Rysunek 7, wskazuje, że nie widać znacznych różnic w strukturze nanorurek z powodu zmian kierunku przepływu, który zdaje się jedynie kontrolować kinetykę procesu wzrostu.



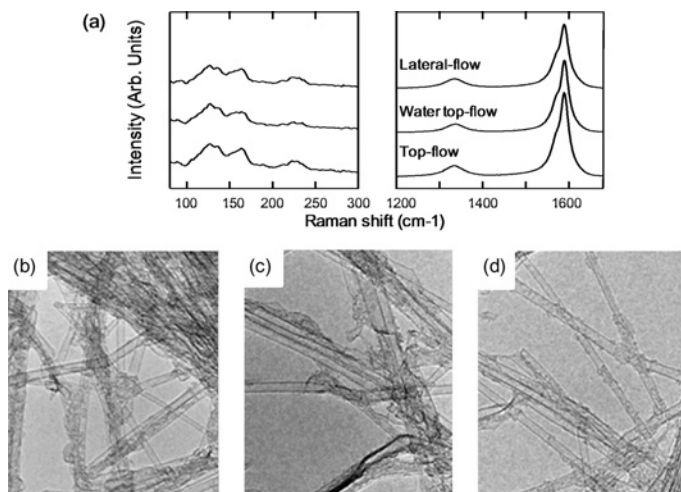
Rysunek 5. Kierunki przepływu gazu do katalizatora w trakcie początkowego etapu wzrostu oraz podczas obecności lasu. Przepływ boczny (a i b), przepływ z góry (c i d). Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [6]

Figure 5. Schematics of gas flow direction to catalysts at initial stage of the growth and with the presence of a forest for (a and b) conventional lateral-flow and (c and d) top-flow growth, respectively. Reprinted with permission from S. Yasuda, N. Futaba, T. Yamada, J. Satou, A. Shibuya, H. Takai, K. Arakawa, M. Yumura, K. Hata, ACS Nano, 2009, 3, 4164–4170. Copyright 2009 American Chemical Society



Rysunek 6. (a) Wysokość wzrostu lasu nanorurek węglowych obserwowany dla trzech różnych typów przepływu gazu, w funkcji czasu. (b) Zdjęcie przedstawia wyhodowany las CNTs o wysokości 1 cm, syntezowany podczas wzrostu z przepływem „od góry”. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [6]

Figure 6. (a) Time evolution of the forest growth observed for the three different growths. (b) Photograph of CNT forest with a height of 1 cm synthesized by top-flow growth. Reprinted with permission from S. Yasuda, N. Futaba, T. Yamada, J. Satou, A. Shibuya, H. Takai, K. Arakawa, M. Yumura, K. Hata, ACS Nano, 2009, 3, 4164–4170. Copyright 2009 American Chemical Society

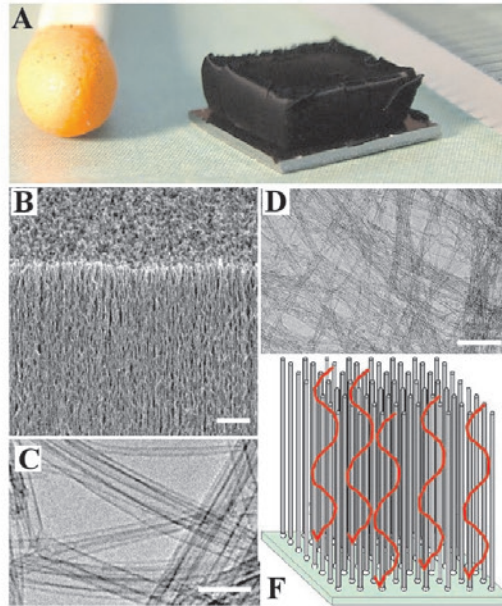


Rysunek 7. Charakterystyka lasu SWNTs: a) widma Ramana wyhodowanych lasów SWNT; przez tradycyjny, boczny przepływ zarówno prekursora jak i pary wodnej – para wodna „od góry” a C_2H_4 w przepływie bocznym oraz oba gazy „od góry”. Zdjęcia TEM: b) tradycyjny, boczny przepływ gazu, c) para wodna „od góry” a C_2H_4 w przepływie bocznym, d) oba gazy „od góry”. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [6]

Figure 7. Characterization of SWNT forests. (a) Raman spectra of SWNT forests grown by conventional lateral-flow, water top-flow, and top-flow growths. TEM images of SWNTs grown by (b) conventional lateral-flow, (c) water top-flow, and (d) top-flow growths, respectively. Reprinted with permission from S. Yasuda, N. Futaba, T. Yamada, J. Satou, A. Shibuya, H. Takai, K. Arakawa, M. Yumura, K. Hata, ACS Nano, 2009, 3, 4164–4170. Copyright 2009 American Chemical Society

Jak stwierdzono powyżej sukces w otrzymywaniu lasów był możliwy dzięki dodawaniu pary wodnej do obszaru wzrostu nanorurek (SGCVD). Rysunek 8a pokazuje zdjęcie lasu SWNTs o wysokości 2,5 mm, który otrzymano w roku 2004. W przeciwieństwie do typowej metody wzrostu lasu, przy udziale etylenu metodą CVD gdy katalizatory aktywne są przez czas około jednej minuty, w tym przypadku obserwuje się wzrost lasu nawet po upływie trzydziestu minut. Powodowane jest to obecnością wody, co wyraźnie wskazuje na jej rolę jako czynnika „podtrzymującego” aktywność katalizatora. Stosunek wagowy SWNT/katalizator jest ponad 100-krotnie wyższy niż dla innych procesów otrzymywania rurek, co podkreśla wyjątkową wydajność syntezy nanolasów w obecności wody.

Rysunek 8b pokazuje gęste pionowe rozmieszczenie rurek.

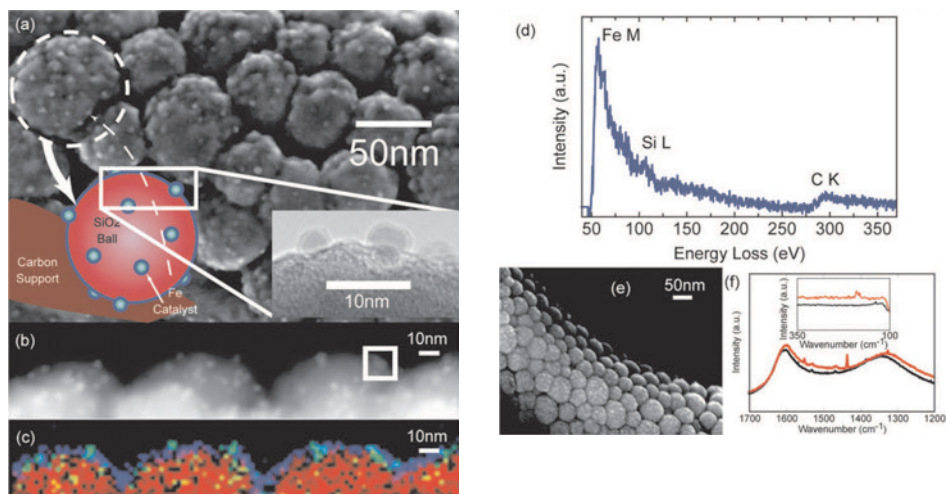


Rysunek 8. (A) Las jednościennej nanorurek węglowych w odniesieniu do lęka zapalki, (B) obraz lasu SWNT ze skaningowego mikroskopu elektronowego SEM, (C) obraz SWNT z wysoko rozdzielczego transmisyjnego mikroskopu elektronowego TEM, (D) zdjęcie dużego obszaru lasu SWNT wykonane za pomocą TEM, (F) schemat struktury lasu SWNT – katalizatory umieszczono na podłożu, SWNTs wyrastają pionowo z katalizatora. Rysunek opublikowany za zgodą SPIE oraz Kenji Hata z pracy [3]

Figure 8. A picture of an single-walled carbon nanotube forest (SWNT). B Scanning electron microscopy (SEM) image of the SWNT forest ledge. C High resolution transmission electron microscopy (TEM) image of SNWTs. D A large area TEM image. F Schematic presentation of the structure of the forest. The catalysts are fixed on the substrate. SWNTs grow out from the catalysts and stand vertically. Carbon sources have to diffuse through the nanotubes to reach the catalyst. Reprinted with permission from SPIE and Kenji Hata, From Highly Efficient Impurity-Free CNT Synthesis to DWNT forests, CNT solids and Super-Capacitors, SPIE, 2007, **6479**, 64791L

Badania TEM (Rys. 8c) pokazują niezwykłą czystość nanorurek węglowych, które są pozbawione amorficznego węgla i cząstek metali. Wyniki badań za pomocą niskorozdzielczego TEM (Rys. 8d) wskazują jedynie na obecność cienkich nanorurek oraz potwierdzają czystość otrzymanego produktu, czyli brak cząstek metali jak i innych cząstek nośnika, a niestety ich obecność często obserwuje się dla nanorurek otrzymywanych innymi metodami. Badania metodą Ramana potwierdzają rozmiar nanorurek i dobrze korespondują z wynikami otrzymanymi metodą TEM. Analiza termogravimetryczna (TGA) na czystym materiale SWNT prowadzona w atmosferze pary wodnej w azocie (o stężeniu identycznym jak podczas prowadzenia eksperymentu SGCVD), wykazała, że utlenianie SWNT rozpoczyna się dopiero przy około 950°C. Można więc stwierdzić, że para woda nie utlenia ani nie niszczy nanorurek w temperaturach ich wzrostu. Gęstość powierzchniowa SWNTs wynosiła $5,2 \cdot 10^{11}$ rurek/cm², a objętościowa 0,037 g/cm³, zaś średni rozmiar to 3,0 nm. Aktywność katalizatora szacowana była na $84 \pm 6\%$. Jest ona bardzo duża w porównaniu

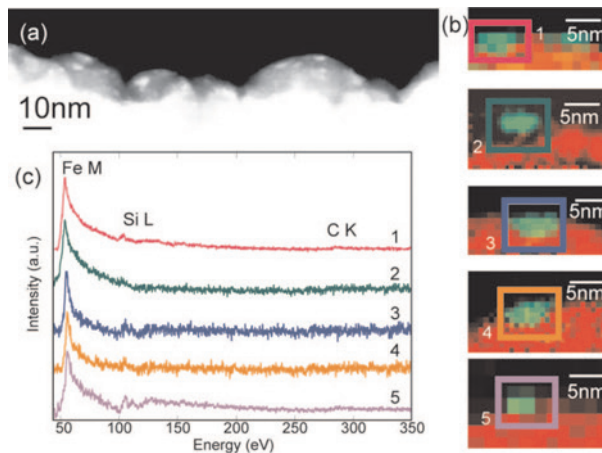
z kilkoma procentami aktywności w tradycyjnym procesie CVD. Średnia odległość pomiędzy nanorurkami wynosiła 14 nm. W konsekwencji las SWNTs jest bardzo rozrzedzonym materiałem, w którym SWNTs zajmują jedynie 3,6% całkowitej objętości. To oznacza, że ponad 96% zajmuje wolna przestrzeń, co pokazuje Rysunek 8f. Niska gęstość lasu jest bardzo istotnym czynnikiem podczas wzrostu metodą CVD, gdyż decyduje o tym że katalizator pozostaje w podłożu podczas syntezy. Nadmiernie wysoka gęstość hamuje dyfuzję prekursora węglowego do katalizatora. Jednakże zbyt niska gęstość powoduje uszkodzenie SWNTs a rurki w trakcie wzrostu przestają zachowywać orientację pionową, co prowadzi do zakrywania powierzchni katalizatora (obserwowanej również podczas tradycyjnego procesu CVD).



Rysunek 9. (a) Zdjęcia HRSEM przedstawiające dezaktywowany katalizator na powierzchni nanokulek – wycinek po prawej pokazuje obraz TEM. (b) Zdjęcie TEM dezaktywowanego katalizatora. (c) Mapowania pierwiastków dla powierzchni nanokulek: Fe – kolor zielony, Si – kolor czerwony, C – kolor niebieski. (d) Widmo EELS niewielkiego regionu otaczającego nanocząstkę. (e) Obraz HRSEM przedstawiający dezaktywowane cząsteczki katalizatora używanego w typowej procedurze CVD. (f) Widmo Ramana: kolor czarny – dezaktywowany katalizator, kolor czerwony – dezaktywowany katalizator po typowym procesie CVD. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [7] (kolory widoczne są w wersji elektronicznej pracy)

Figure 9. (a) HRSEM image of deactivated catalysts on the periphery surface of nanoballs. Left inset: the illustration. Right inset: bright field TEM image. (b) Dark field image of the deactivated catalysts. (c) Element mapping of the nanoball surface from EELS spectra of each pixel of panel b Fe (green), Si (red), and C (blue)). (d) EELS spectrum taken from a small region surrounding a nanoparticle. (e) HRSEM image deactivated catalysts exposed to normal hydrocarbon CVD. (f) Raman spectra and radial breathing mode (inset) of deactivated catalysts (black) and deactivated catalysts after normal hydrocarbon CVD (red). Reprinted with permission from T. Yamada, A. Maigne, M. Yudasaka, K. Mizuno, N. Futaba, M. Yumura, S. Iijima, K. Hata, *Nano Lett.*, 2008, **8**, 12. Copyright 2008 American Chemical Society

Rolę pary wodnej i jej wpływ na aktywność katalizatora autorzy metody SGCVD wyjaśnili szczegółowo w pracy [7] wykorzystując osadzanie katalizatora na podłożu SiO_2 . W pierwszym eksperymencie badano zachowanie katalizatora stosując typową metodykę CVD. Wyniki pokazano na Rysunku 9. Rysunek 9a wskazuje, że dezaktywowany katalizator pokryty jest warstwą węgla. Badania TEM (Rys. 9b) i EELS (Rys. 9d) świadczą o obecności małych skupisk „wystających” z powierzchni nanokulek. Skupiska te zawierały głównie Fe, Si i C (Rys. 9c). Zatem można wnioskować, że zbyt duże pokrycie powierzchni katalizatora węglem hamuje wzrost lasów nanorurek. Aby określić rolę wody podczas procesu wzrostu tak dezaktywowane cząstki katalizatora poddano działaniu pary wodnej. Rysunek 10 pokazuje, że w tym przypadku granule znowu pokryte były jasnymi, wystającymi na powierzchnię nanokrystalitami, jednak w przeciwieństwie do katalizatora z typowej metody CVD w tym przypadku krystality te były płaskie i nie zakrzywione. Wyniki zamieszczone na Rysunku 10 wskazują, że na powierzchni obecne było Fe jednakże, co ważniejsze, nie zaobserwowano węgla.

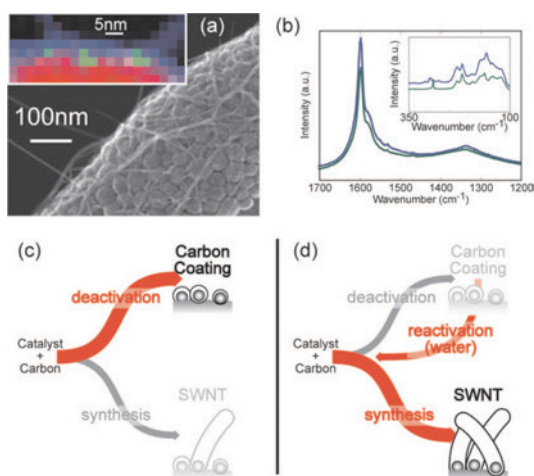


Rysunek 10. (a) Obraz TEM dezaktywowanego katalizatora po dodaniu 100 ppm wody (5min.) w temperaturze wzrostu 750°C . (b) Mapowanie pierwiastków: Fe – zielony, Si – czerwony, C – niebieski. (c) Analiza spektralna EELS przedstawiająca każdą cząstkę katalizatora z Rysunku (b). Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [7] (kolory widoczne są w wersji elektronicznej pracy)

Figure 10. (a) Dark-field image of the deactivated catalyst after being exposed to 100 ppm water level (5 min) at the growth temperature (750°C). (b) Elemental mappings of five arbitrarily chosen particles (Fe (green), Si (red), and C (blue)). (c) EELS spectra of each catalyst of panel b as indicated by the squares. Reprinted with permission from T. Yamada, A. Maigne, M. Yudasaka, K. Mizuno, N. Futaba, M. Yumura, S. Iijima, K. Hata, *Nano Lett.*, 2008, **8**, 12. Copyright 2008 American Chemical Society

Zatem można powiedzieć, że woda „oczyszcza” powierzchnię katalizatora czyniąc ją dostępną dla reagentów. Potwierdzeniem tej hipotezy był eksperyment, w którym przeprowadzono proces katalitycznego wzrostu lasów nanorurkowych w obecności

wody na omawianych powyżej nanokulkach. Zdjęcia HRSEM (Rys. 11a) wskazują na sieć nanorurek oplatających kulki, co potwierdzają także zawarte na Rysunku 11b wyniki uzyskane metodą Ramana. Jednakże w tym przypadku nanocząstki Fe pokryte zostały węglem tworzącym rurki (co stanowi zasadniczą różnicę por. w stosunku do Rysunku 9). Mimo pozytywnego działania wody wydajność procesu w tym przypadku była podobna do tej uzyskiwanej „typową” metodą CVD. Wyniki badań metodą Ramana prowadzą do wniosku o podobieństwie nanorurek uzyskiwanych w obu przypadkach. Jeśli dezaktywowany katalizator poddany zostanie procesowi CVD biegnącemu bez pary wodnej, nie obserwuje się wzrostu nanorurek. Świadczą o tym niezmiennione widma uzyskiwane metodą Ramana (Rys. 11f) czy HRSEM (Rys. 11e). Potwierdza to podstawową hipotezę, że para wodna reaktywuje powierzchnię katalizatora.

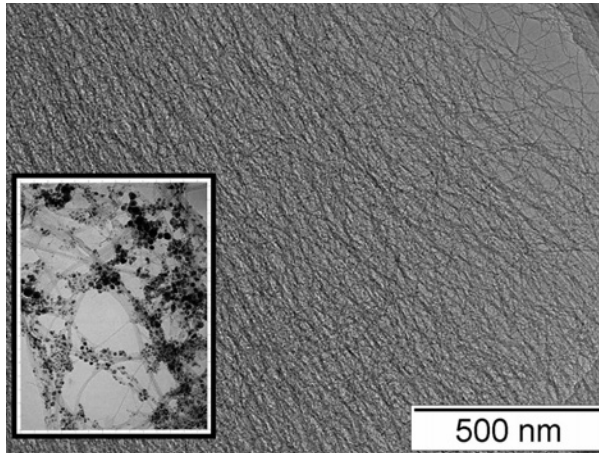


Rysunek 11. (a) Zdjęcie HRSEM nanorurek pokrywających nanokulki, podczas wzrostu przy udziale wody w metodzie CVD oraz mapowanie pierwiastków dla cząstek katalizatora: Fe – zielony, Si – czerwony, C – niebieski. (b) Analiza ramanowska wzrostu z reaktywowanego katalizatora (niebieski) i katalizatora kontrolnego (zielony) w metodzie CVD. (c) Schemat dla dwóch konkurencyjnych reakcji: dla normalnej metody wzrostu CVD SWNTs (ścieżka syntezy) i pokrywania warstwą węglową (cykl dezaktywacji). (d) Schemat metody CVD z obecnością wody – reaktywacja zmniejsza proces dezaktywacji w celu zwiększenia wydajności syntezy. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [7] (kolory widoczne są w wersji elektronicznej pracy)

Figure 11. (a) HRSEM image of numerous entangled nanotubes covering the nanoballs grown by water-assisted CVD from water exposed deactivated catalysts. Inset: elemental mapping of catalyst particles (Fe (green), Si (red), and C (blue)). (b) Raman spectra and radial breathing mode (inset) of growth from reactivated catalysts (blue) and control catalyst (green) that went directly to the CVD. (c) Scheme of the two competing reaction pathways for normal hydrocarbon CVD-SWNT growth (synthesis pathway) and carbon coating (deactivation pathway). (d) Scheme of the water assisted CVD – reactivation pathway reducing the deactivation pathway to enhance the synthesis pathway. Reprinted with permission from T. Yamada, A. Maigne, M. Yudasaka, K. Mizuno, N. Futaba, M. Yumura, S. Iijima, K. Hata, *Nano Lett.*, 2008, **8**, 12. Copyright 2008 American Chemical Society

5. WYSOKA CZYSTOŚĆ LASÓW CNTs I STRUKTURY UKSZTAŁTOWANE

Las SWNTs może być nadzwyczaj łatwo usunięty z podłoża, dla przykładu poprzez mechaniczne ścięcie żyłką. Po usunięciu podłoże zachowuje swoją aktywność katalityczną.

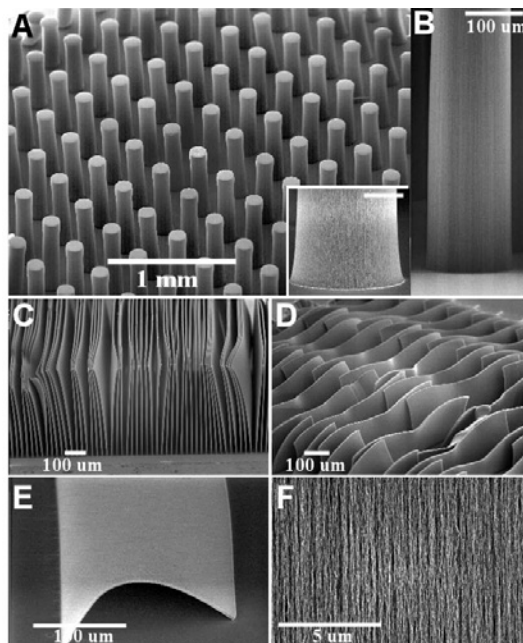


Rysunek 12. Obraz TEM przedstawiający las SWNTs. Mniejsze zdjęcie przedstawia syntezowane „tradycyjną” metodą CVD SWNTs. Rysunek opublikowany za zgodą SPIE oraz Kenji Hata z pracy [3]
Figure 12. A transmission electron microscopy (TEM) image showing the as-grown SWNTs of the forest. Inset: a TEM image of the as-grown SWNTs synthesized from normal chemical vapor deposition (CVD). Reprinted with permission from SPIE and Kenji Hata, from Highly Efficient Impurity-Free CNT Synthesis to DWNT forests, CNT solids and Super-Capacitors, SPIE, 2007, **6479**, 64791L

Jak wspomniano wcześniej nanorurki otrzymane metodą SGCVD charakteryzują się bardzo dużą czystością i nie zawierają pozostałości katalizatora czy też amorficznego węgla (Rys. 12). Temperatura spalania (w powietrzu) waha się w granicach 550–750°C, zaś temperatura maksymalnego ubytku masy wynosi 700°C, podawane wartości są podobne do uzyskiwanych dla bardzo czystych nanorurek syntezowanych metodą laserową. Wyniki ilościowej analizy elementarnej pokazują, że jedynym zanieczyszczeniem jest Fe, zaledwie 0,013 %, co oznacza że zawartość węgla wynosi ponad 99,98 %. Zatem, jest to najczystszy materiał jaki kiedykolwiek wytworzono. Wyjątkowo czyste SWNTs otwierają niezliczone nowe możliwości zastosowań m.in. w nanomedycynie [3].

Tworzenie dużych ukształtowanych struktur nanorurek jest ważne z punktu widzenia perspektywicznego zastosowania w różnorodnych urządzeniach. Struktury takie można otrzymywać na litograficznie ukształtowanych „wyspach” na powierzchni katalizatora. Rysunek 13 a, prezentuje otrzymane w ten sposób makroskopijne układy kolumn o średnicy 150 μm z odstępem pomiędzy kolumnami wynoszącym

250 μm i wysokością zbliżającą się do 1 mm. Kolumny są ustawione pionowo na powierzchni podłoża (Rys. 13 b). Dopuszczalne jest wytwarzanie zorganizowanych struktur o dowolnych kształtach na litograficznie kształtowanym podłożu (Rys. 13 c i d). Podczas syntezy wysokość lasu jest kontrolowana. Jednocześnie SWNTs są wysoce uporządkowane (Rys. 13 f). Jeśli na powierzchni wytworzyć zakrzywioną linię to arkusze są zakrzywione w podobny sposób, a to wskazuje na ich giętkość (Rys. 13 e). Układy takie mogą znaleźć swoje zastosowanie np. jako polaryzatory optyczne lub anizotropowe materiały przewodzące [3].

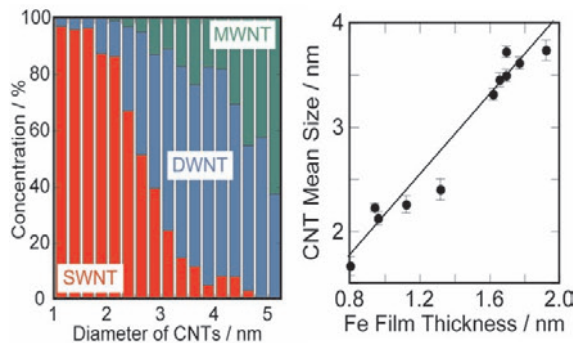


Rysunek 13. Zdjęcia SEM przedstawiające ukształtowane lasy SWNTs, (A) cylindryczne kolumny o promieniu 150 μm i wysokości 1 mm – mniejsze wklejone zdjęcie przedstawia podstawę kolumny, (B) boczny widok kolumny, (C) i (D) arkusze SWNTs (E) jedna warstwa arkusza SWNT, (F) zdjęcie SEM przedstawiające powierzchnie arkusza. Rysunek opublikowany za zgodą SPIE i Kenji Hata z pracy [3]

Figure 13. A set of SEM images showing patterned SWNT forests. A SEM image of SWNT cylindrical pillars with 150 μm radius, 250- μm pitch, and 1-mm height. Inset, SEM image of a root of a pillar. Scale bar, 50 μm . B side view of a pillar. C and D SWM images of SWNT sheets. E SWM image of an isolated SWNT sheet. F SEM image of the sheet face. Reprinted with permission from K. Hata, and SPIE from Highly Efficient Impurity-Free CNT Synthesis to DWNT forests, CNT solids and Super-Capacitors, SPIE, 2007, **6479**, 64791L

6. SELEKTYWNOŚĆ PROCESU SGCVD. INNE METODY OTRZYMYWANIA LASÓW NANORUREK WĘGLOWYCH

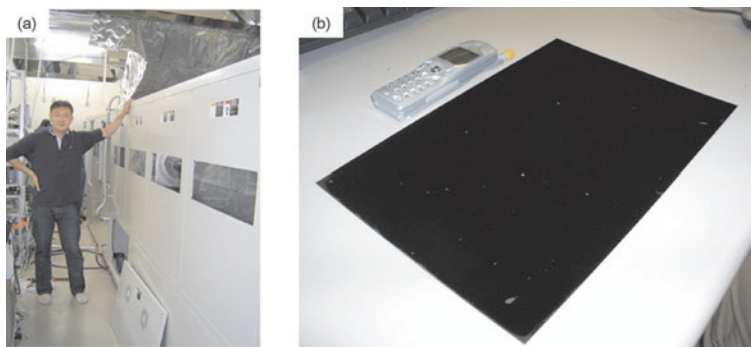
Kluczowym punktem w selektywnej syntezie lasów DWNTs okazał się dobór odpowiedniej grubości katalizatora. Kontrola procesu syntezy nanorurek węglowych jest możliwa dzięki poznaniu zależności pomiędzy rodzajem rurki a jej średnicą, co zaprezentowano na diagramie (Rys. 14 a) [3] pokazującym związek, pomiędzy populacją SWNTs, DWNTs, MWNTs, a średnicą z analizy 1432 nanorurek węglowych metodą TEM.



Rysunek 14. Prawidłowości obserwowane podczas syntezy. (a) Diagram fazowych zależności względnego stężenia SWNTs (czerwony), DWNTs (niebieski) i MWNTs (zielony) od średnicy CNT. (b) Wykres zależności średnicy CNT od grubości warstwy Fe. Rysunek opublikowany za zgodą SPIE i Kenji Hata z pracy [3] (kolory widoczne są w wersji elektronicznej pracy)

Figure 14. Trends in CNT type and diameter. (a) Phase diagram of the relative concentration of SWNTs (red), double-walled carbon nanotubes (DWNTs) (blue) and multi-walled carbon nanotubes (green) as a function of the CNT diameter. (b) Plot of CNT mean diameter as a function of Fe film thickness. Reprinted with permission from SPIE and Kenji Hata from K. Hata, From Highly Efficient Impurity-Free CNT Synthesis to DWNT forests, CNT solids and Super-Capacitors, SPIE, 2007, **6479**, 64791L

Diagram pokazuje, że DWNT stanowią większość populacji otrzymanych nanorurek, a ich średnica zawarta jest w granicach 3,0 do 4,5 nm, zaś maksymalna selektywność występuje dla średnicy 3,75 nm. Wartość średnicy CNT może być dokładnie kontrolowana za pomocą grubości filmu katalizatora. Średnica CNT w przybliżeniu liniowo wzrasta z grubością podłoża, co przedstawiają dane zebrane na Rysunku 14 b. Maksymalna selektywność DWNT wynosiła 85%. W tym przypadku warstewka żelaza miała grubość 1,7, a otrzymane nanorurki średnicę około 3,7 nm. Zdjęcia wykonane techniką TEM świadczą o obecności nanorurek wysokiej czystości, w których w większości przeważają DWNT. TGA dla wyhodowanego materiału wskazuje na niemierzalny poziom zanieczyszczeń. Dodatkowo, analiza elementarna wykazała obecność 0,053% żelaza jako głównego zanieczyszczenia. Tak więc, średnia czystość otrzymanych nanorurek węglowych sięgała 99,95% [3].



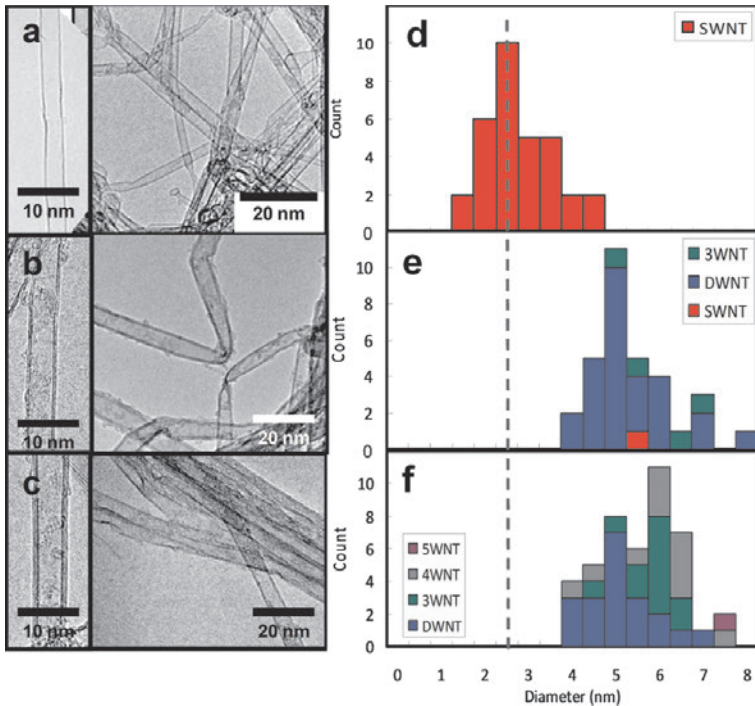
Rysunek 15. (a) Na zdjęciu Kenji Hata przy piecu ($6\text{ m} \times 1,5\text{ m}$) zbudowanym dla stosowania metody CVD. (b) Las wyhodowanych CNTs o powierzchni kartki formatu A4. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [6]

Figure 15. Photographs of (a) constructed $6\text{ m} \times 1.5\text{ m}$ lateral batch CVD furnace and (b) grown A4. Reprinted with permission from S. Yasuda, N. Futaba, T. Yamada, J. Satou, A. Shibuya, H. Takai, K. Arakawa, M. Yumura, K. Hata, *ACS Nano*, 2009, 3, 4164–4170. Copyright 2009 American Chemical Society

Autorzy metody SGCVD (Rys.15) nie zaprzestali jej rozwijania. Niezwykle interesującymi okazują się rezultaty wskazujące, że poprzez wprowadzenie związków aromatycznych (zawierających tlen) w etapie wzrostu nanorurek węglowych można zmieniać rozmiar i liczbę ścian CNT. Stosując te same warunki wzrostu i identyczny katalizator jak podczas syntezy w środowisku pary wodnej lecz zastępując wodę utlenionymi związkami aromatycznymi pobudzającymi wzrost; jest możliwe wyhodowanie CNTs o różnych średnicach i liczbach ścian. Tak jak we wcześniejszych syntezach metodą CVD z udziałem wody podczas których wytwarzane były głównie SWNTs (2,8 nm), obecnie można już syntetyzować DWNTs, które osiągają 84% całej populacji otrzymanych nanorurek (w obecności benzoenu metylu, średni rozmiar rurek wynosi 5,4 nm) oraz lasy nanorurek węglowych wielościennych CNTs (synteza z dodatkiem benzaldehydu). Efekty te są zaskakujące i pozwalają na stworzenie zupełnie nowej i innej od wcześniejszych, metody regulacji liczby ścian CNT na etapie ich syntezy. Wszystkie syntezy CNTs, opisywane przez autorów były przeprowadzane z zastosowaniem tych samych katalizatorów, Al_2O_3 (40 nm) / Fe (1 nm) nanoszonych na krzemowe płytki i syntetyzowane przy udziale C_2H_4 z wykorzystaniem różnych czynników pobudzających wzrost. Tak jak zazwyczaj, wykonano syntezy wykorzystując He i H_2 jako gazy nośne (1 atm), kontrolowaną ilość substancji pobudzającej wzrost (100–200 ppm) oraz stosując całkowicie zautomatyzowaną metodę CVD. Lasy były hodowane z różnymi substancjami pobudzającymi wzrost na identycznych katalizatorach i przy jednakowych warunkach wzrostu.

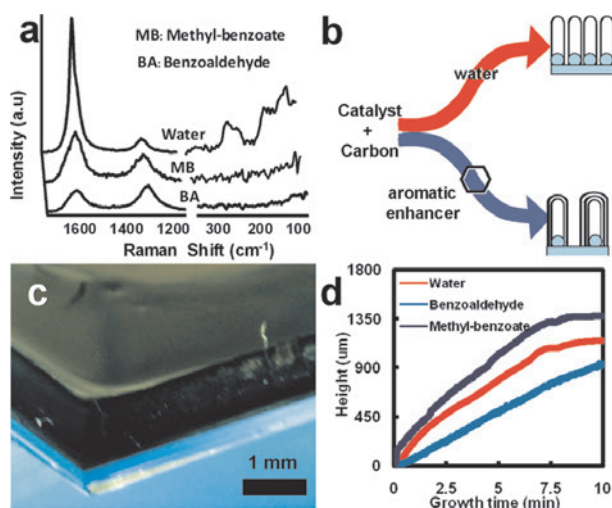
Po pierwsze, wyniki uzyskane metodą spektroskopii Ramana wskazały na różnice (w stosunku do rurek otrzymywanych w środowisku pary wodnej) zwłaszcza, jeśli chodzi o intensywność pików „grafitowego” oraz zanik tzw. pików RBM (ang. *radial breathing mode*). To zachowanie jest charakterystyczne dla MWNTs

(Rys. 16a). Po drugie, obserwacje TEM wskazują wyłącznie na obecność SWNTs podczas wzrostu przy udziale wody oraz dużo większe nanorurki z powiększoną liczbą ścian dla syntezy przy współudziale benzoesu metylu, czy benzaldehydu (Rys. 16 a–c). Stosowanie benzoesu metylu doprowadziło do dominacji DWNTs z przeciętną średnicą 5,4 nm (synteza w obecności wody – 100% SWNT; średnica 2,8 nm). W obecności benzaldehydu liczba ścian (DW/3W/4W: 1,8:1:1) oraz rozmiar (5,7 nm) dodatkowo wzrasta. W przeciwieństwie do wcześniejszych metod, gdzie rozmiar katalizatora był regulowany, ten sposób zapewnia łatwy i dogodny wzrost różnego rodzaju nanorurek wykorzystując ten sam katalizator i jednakowe warunki wzrostu (Rys. 16b) [9].



Rysunek 16. Zdjęcia TEM przedstawiające CNTs, które wyhodowano z użyciem różnych stymulatorów wzrostu: (a) woda (b) benzoesan metylu (c) benzaldehyd. Histogramy średnicy i ilości ścian dla (d) wody, (e) benzoesu metylu, (f) benzaldehydu. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [9]

Figure 16. TEM images of CNTs using (a) water, (b) methyl-benzoate, and (c) benzaldehyde growth enhancers. Histograms of the diameter and wall number for (d) water, (e) methyl-benzoate, and (f) benzaldehyde growth enhancers. Reprinted with permission from N. Futaba, J. Goto, S. Yasuda, T. Yamada, M. Yumura, K. Hata, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 15992–15993. Copyright 2009 American Chemical Society



Rysunek 17. Wzrost SWNTs do MWNTs. (a) Ramanowskie widmo lasu podczas wzrostu którego stosowano wodę, benzoesan metylu i benzaldehyd. (b) Schemat różnic we wzrastaniu CNT. (c) Fotografia przedstawiająca las DWNT. (d) Krzywe wzrostu dla stosowanych stymulatorów. Rysunek opublikowany za zgodą American Chemical Society z pracy [9]

Figure 17. Growth of SWNTs to MWNTs. (a) Raman spectra of forest grown using water, methyl-benzoate, and benzaldehyde. (b) Scheme of different CNT growth. (c) A photograph of the DWNT forest. (d) Growth curves for each growth enhancer. Reprinted with permission from N. Futaba, J. Goto, S. Yasuda, T. Yamada, M. Yumura, K. Hata, J. Am. Chem. Soc., 2009, **131**, 15992–15993. Copyright 2009 American Chemical Society

Selektywność 84% jedną z najwyższych jakie dotychczas odnotowano w tworzeniu DWNT bez wykorzystania żadnych dodatkowych procesów ulepszających. Aromatyczne stymulatory wzrostu nie tylko wywołują modyfikacje średnic CNTs, ale także zmieniają zależności między średnicą i liczbą ścian CNT. Pobudzacze wzrostu zawierające benzoesan metylu i benzaldehyd wpływają zarówno na strukturę CNT, jak i na wydajność wzrostu porównywalną do tej jaką obserwuje się w przypadku udziału wody w syntezie lasów. Rosnące stężenie benzoesanu metylu lub benzaldehydu, powoduje początkowo zwiększenie wydajności wzrostu, który po osiągnięciu szczytowej wartości obniża się. Podobnie jak w przypadku wody, wymagana ilość benzoesanu metylu i benzaldehydu jest niewielka w celu osiągnięcia bardzo dużych wzrostów. Rysunki 17c i 17d przedstawiające las i jego zoptymalizowaną krzywą wzrostu pokazują, że lasy wyhodowane z udziałem wody, benzoesanu metylu i benzaldehydu, w okresie dziesięciu minut mają możliwość wzrostu do 1174, 1380, 929 µm. Lasy DWNT i MWNT, które otrzymano w obecności benzoesanu metylu i benzaldehydu posiadają (podobnie jak te otrzymane w obecności wody) zadawalające właściwości takie jak: duża czystość, znaczne pole powierzchni oraz spora wysokość. Najbardziej zadziwiającym jest fakt, że tak olbrzymi wpływ jest powodowany nieznaczną ilością stymulatora wzrostu, którego mechanizm działania wymaga dalszych badań zarówno teoretycznych jak i eksperymentalnych.

PODSUMOWANIE

Nowa metoda syntezy lasów nanorurek węglowych (SGCVD) z udziałem pary wodnej daje bardzo obiecujące wyniki. Produktem jest zwarty, posiadający dużą gęstość, uporządkowany las CNTs. Para wodna w warunkach reakcji pełni rolę czynnika regenerującego powierzchnię katalizatora. Niezwykle wysoka aktywność katalizatora, szacowana na około 84% jest bardzo duża w porównaniu z kilkuprocentową obserwowaną w tradycyjnym procesie CVD. Optymalizacja warunków metody pozwala na wytwarzanie zorganizowanych struktur o dowolnych kształtach na litograficznym podłożu, co ma niebagatelne znaczenie w praktycznym zastosowaniu nanorurek. Ilościowa analiza elementarna wskazuje na obecność zaledwie 0,013–0,053% Fe, które stanowi jedyne zanieczyszczenie. Oznacza to, że czystość lasu węglowego wynosi około 99,98%, zatem jest to najczystszy z dotychczas otrzymanych materiałów. Wysoce czyste CNTs otwierają niezliczone nowe możliwości. Brak w materiale toksycznych cząstek metalu i amorficznego węgla, kładzie kres jakimkolwiek kontrowersjom, które narodziły się wokół toksyczności nanorurek węglowych, dzięki czemu można wykorzystywać wyhodowane CNTs w badaniach na szerszą skalę [3]. Opracowano również całkowicie inny sposób kontrolowania rozmiarów oraz liczby ścian CNT, poprzez wprowadzenie związków aromatycznych w trakcie wzrostu nanorurek węglowych, co umożliwi otrzymywanie DWNTs i MWNTs.

SGCVD to z pewnością metoda mająca przyszłość, gdyż niezwykle czyste struktury węglowe mogą znaleźć szerokie zastosowanie chociażby w nanomedycynie, gdzie dotychczas obawiano się dużych zanieczyszczeń nanorurek.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A.M. Pacholczyk, A.P. Terzyk, M. Wiśniewski, *Wiad. Chem.*, 2010, **1–2**, 64.
- [2] J. Miyawaki, M. Yudasaka, T. Azami, Y. Kubo, S. Iijima, *ACS Nano*, 2008, **2**, 213.
- [3] K. Hata, *SPIE*, 2007, **6479**, 64791L.
- [4] N. Futaba, K. Hata, T. Namai, T. Yamada, K. Mizuno, Y. Hayamizu, M. Yumura, S. Iijima, *J. Phys. Chem.*, 2006, **110**, 8035.
- [5] T. Hiraoka, T. Yamada, K. Hata, N. Futaba, H. Kurachi, S. Uemura, M. Yumura, S. Iijima, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 13339.
- [6] S. Yasuda, N. Futaba, T. Yamada, J. Satou, A. Shibuya, H. Takai, K. Arakawa, M. Yumura, K. Hata, *ACS Nano*, 2009, **3**, 4164.
- [7] B. Zhao, N. Futaba, S. Yasuda, M. Akoshima, T. Yamada, K. Hata, *ACS Nano*, 2009, **3**, 108.
- [8] T. Yamada, A. Maigne, M. Yudasaka, K. Mizuno, N. Futaba, M. Yumura, S. Iijima, K. Hata, *Nano Lett.*, 2008, **8**, 12.
- [9] N. Futaba, J. Goto, S. Yasuda, T. Yamada, M. Yumura, K. Hata, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 15992.

**NATURALNE I SYNTETYCZNE LAKTONY
O AKTYWNOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWEJ
I PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ**

**NATURAL AND SYNTHETIC LACTONES
WITH ANTICANCER AND ANTIMICROBIAL
ACTIVITY**

Mazur Marcelina

*Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław
e-mail: bakmarcelina@gmail.com*

Abstract

Wprowadzenie

1. Laktony wykazujące aktywność przeciwnowotworową
2. Laktony o aktywności przeciwdrobnoustrojowej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



mgr inż. Marcelina Mazur urodzona w 1983 r. Studiowała Biotechnologię na Wydziale Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W pracy dyplomowej podjęła temat mikrobiologicznych transformacji jodolaktonów.

W roku 2007 rozpoczęła studia doktoranckie na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu pod opieką naukową prof. dr hab. Czesława Wawrzeńczyka. W swojej pracy naukowej zajmuje się problemem biotransformacji związków chlorowcoorganicznych.

ABSTRACT

Medicine is one of the most developing branches of knowledge. But even now there are still some diseases which are impossible to cure. Different cancers, antibiotic resistant bacterial infections and fungal pathogenesis infections are still everlasting problems. Thus, two ways of solutions are proposed. First is the return to natural medicines. From the ancient times plants have been used in medicine and the natural products have been an important source of drugs. Nowadays isolation and identification of these compounds, together with the determination of their biological activity, also play an important role.

Lactones are the cyclic esters with a wide range of carbon atoms in a lactone ring. They are a very interesting group of compounds which reveal a wide spectrum of biological activity. Terpenoid, especially sesquiterpene lactones and coumarin derivatives, are found in plants of the Asteraceae and Apiaceae families as well as in many others organisms. The naturally occurring lactones often possess anti-inflammatory [1, 2], phytotoxic [3, 4], antiprotozoal [5], and antiviral activities [6]. They are also well known for their anticancer [7, 8] and antimicrobial activities [9, 10].

The second way of obtaining new biologically active lactones is the chemical synthesis of new potent structural analogs of natural bioactive compounds. However, the complexity of natural products and their derivatives may lead to limited supplies, especially when they have the chiral centers which are one of the most important factors influencing their biological activity. It also causes difficulties to determine the mechanism of action. For those reasons, structural simplification plays an important role in the development of analog design.

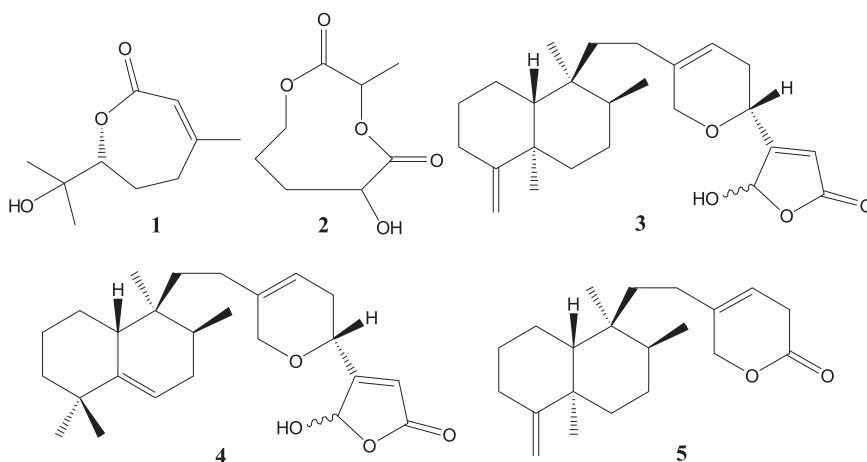
This review is focused on novel literature data about synthetic and natural lactones which reveal anticancer, antibacterial and antifungal activities. Presented compounds show potent biological activity and high selectivity with holding promises for further applications.

Keywords: biologically active lactones, sesquiterpene lactones, anticancer activity, antimicrobial activity

Słowa kluczowe: laktony aktywne biologicznie, laktony seskwiterpenowe, aktywność przeciwnowotworowa, aktywność przeciwdrobnoustrojowa

WPROWADZENIE

Laktony to cykliczne, wewnątrzcząsteczkowe estry o różnej wielkości pierścienia laktonowego - od rzadko spotykanych α - i β -laktonów o pierścieniach trój- i czteroczłonowych, przez liczną grupę pięcio- i sześcioczłonowych γ - i δ -laktonów oraz siedmioczłonowych ϵ -laktonów, których przedstawicielem jest wykorzystywany w przemyśle tworzyw sztucznych kaprolakton. W medycynie znalazły zastosowanie między innymi laktony o pierścieniu zawierającym od dwunastu do szesnastu atomów węgla, tzw. antybiotyki makrolidowe, do których zaliczamy erytromycynę i azytromycynę. Laktony występują naturalnie głównie, jako metabolity wtórne roślin, lecz izolowane są także z grzybów oraz gąbek. Siedmioczłonowy hydroksylakton **1** (Rys. 1), pochodna kwasu geraniowego, został wyizolowany z *Ascospheera apis*, atakującego stadia larwalne pszczół i wywołującego, u tych owadów, grzybicę otorbialakową [11]. Podobnie dziewięcioczłonowy lakton **2** – cladospolid E (Rys. 1) wydzielono z kultury morskiego grzyba *Cladospirium* sp. F14 [12]. Gąbka (*Fasciospongia cavernosa*), pochodząca z północnego obszaru Adriatyku, jest naturalnym źródłem związków zawierających w swej strukturze pierścień laktonowy w tym nienasyconego δ -laktonu **5** oraz kakospongiolidu B i F (**3**, **4**) (Rys. 1) [13].



Rysunek 1
Figure 1

Cenne właściwości biologiczne laktonów izolowanych z naturalnych źródeł, są inspiracją dla prac badawczych prowadzonych zarówno nad izolowaniem kolejnych naturalnych laktonów występujących w przyrodzie jak i nad syntezą nowych połączeń zawierających w swej cząsteczce ugrupowanie laktonowe. Na tle stale rosnącej liczby osób chorych na choroby nowotworowe oraz ciągłych mutacji drobnoustrojów chorobotwórczych zrozumiałe jest, iż wiele ośrodków badawczych podjęło pracę nad poszukiwaniem naturalnych i syntetycznych związków aktywnych biologicznie, które

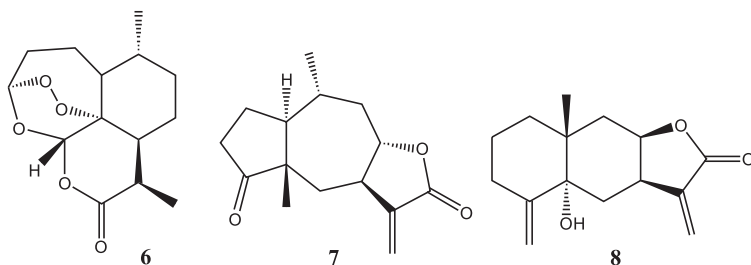
w przyszłości mogą stać się dopuszczonymi do użycia lekami. Niezależnie od sposobu pozyskiwania tych związków, istotne jest, aby ich działanie było skuteczne, selektywne i miało możliwie jak najmniej skutków ubocznych. Wiele inspiracji do pracy można czerpać z natury. Dlatego też obecnie renesans przeżywa medycyna ludowa, a rośliny w niej stosowane cieszą się coraz większym zainteresowaniem badaczy [14, 15].

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie najnowszych doniesień naukowych na temat laktonów izolowanych zarówno ze źródeł naturalnych jak i otrzymywanych w wyniku syntezy chemicznej, które wykazują aktywność przeciwnowotworową i przeciwdrobnoustrojową, i mogą znaleźć zastosowanie w medycynie.

1. LAKTONY WYKAZUJĄCE AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWĄ

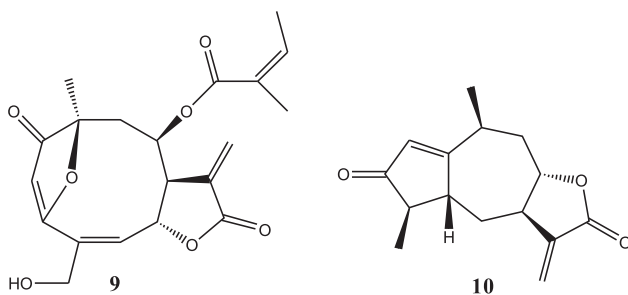
Duża grupa laktonów seskwiterpenowych wykazuje aktywność przeciw wybranym liniom komórek nowotworowych. To właśnie wśród tych związków poszukiwany jest lek o podobnej aktywności do taksolu czy cisplatyny. Laktony izolowane są głównie z roślin z rodziny *Asteraceae* (Złożone), która jest jedną z najliczniejszych rodzin roślin naczyniowych. Rośliny te oraz ich ekstrakty od wieków stosowane były w medycynie ludowej. Obecnie nowoczesne techniki badawcze pozwalają na określenie różnych aktywności biologicznych tych ekstraktów oraz izolowanych z nich związków odpowiedzialnych za te właściwości. Jednym z wielu przykładów jest artemisymina (**6**) (Rys. 2), otrzymywana z *Artemisia annua*. Lakton ten stosowany jest, jako lek przeciwmalaryczny. Jednak artemisymina może okazać się również skutecznym środkiem w zapobieganiu chorobom nowotworowych. Przeprowadzono badania *in vivo* na szczurach, u których nowotwór gruczołu mlekowego indukowano pojedynczą doustną dawką (50 mg/kg) 7,12-dimetylobenzantracenu. W grupie zwierząt, której podawano 0,02% artemisyniny w pożywieniu, odsetek szczurów wykazujących zmiany nowotworowe był znacznie niższy i wynosił 57% w porównaniu do 96% w grupie kontrolnej [16].

Rośliny należące do rodzaju *Carpesium* są bogatym źródłem laktonów terpenoidowych. *Carpesium faberi* stosowana jest w chińskiej medycynie ludowej i znana jest z właściwości przeciwzapalnych czy detoksykujących. Najnowsze badania pozwoliły na wydzielenie i pełne scharakteryzowanie czterech nowych oraz trzynastu znanych już laktonów seskwiterpenowych pochodzących z tej rośliny. Przeprowadzono również badania *in vitro* aktywności, wydzielonych związków na linii nowotworowej ludzkiego raka piersi MCF-7. Praktycznie wszystkie laktony wykazywały aktywność antyproliferacyjną. Najbardziej aktywne okazały się pseudogwajanolid (**7**) oraz eudesmanolid (**8**) (Rys. 2). Stężenie hamujące w pięćdziesięciu procentach proliferację tych komórek nowotworowych (IC_{50}) wynosiło odpowiednio 3,9 mg/mL dla laktonu **7** i 3,0 mg/mL dla eudesmanolidu (**8**) [17].



Rysunek 2
Figure 2

Kolejnymi przeciwrakowymi laktonami seskwiterpenowymi są wydzielone z *Viguiera sylvatica* i *Decachaeta thieleana* millerenolid (**9**) i tieleanina (**10**) (Rys. 3). Oba wykazywały aktywność cytotoksyczną w testach *in vitro* w stosunku do linii komórkowych ludzkiego raka płuc A549. Wartość IC_{50} dla obu laktonów była podobna i wynosiła odpowiednio 15 i 8 mg/mL. Badano, również cytotoksyczność laktonów **9** i **10** na liniach komórkowych mysich fibroblastów 3T3, oraz mysich fibroblastów 3T3 transfekowanych czynnikiem onkogennym HER2. Cytotoksyczność obu badanych związków była wyższa w stosunku do komórek 3T3/HER2 niż w stosunku do macierzystych fibroblastów mysich. IC_{50} dla linii 3T3/HER2 wynosiło odpowiednio 6 mg/mL dla millerenolidu (**9**) i 7 mg/mL dla tieleaniny (**10**). Przeprowadzono również badania cytotoksyczności obu tych związków na linii komórkowej czerniaka myszy B16/BL6; nie zaobserwowano jednak znaczącej aktywności. Tym niemniej w badaniach prowadzonych na myszach *in vivo* wykazano, iż millerenolid hamuje wzrost indukowanego podskórnie czerniaka oraz spowalnia pojawianie się guzów nowotworowych [18].

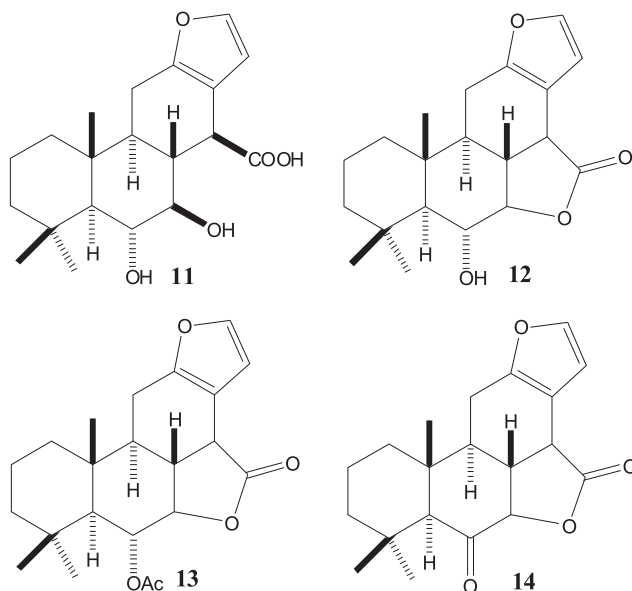


Rysunek 3
Figure 3

Zgodnie z wcześniejszymi badaniami [19] oraz przedstawionymi powyżej doniesieniami literaturowymi w grupie laktonów seskwiterpenowych niezwykle częste jest, iż aktywność przeciwnowotworowa powiązana jest z obecnością podstawnika metylenowego przy węglu α pierścienia laktonowego. Podstawnik α -mety-

leno- γ -laktonowy reaguje, bowiem, z biologicznymi nukleofilami w reakcji addycji typu Michaela, tworząc stabilne addukty. Szczególnie reaktywne są zawierające grupy tiolowe reszty cysteinyl w białkach [20].

Nie tylko laktony seskwiterpenowe posiadają aktywność przeciwnowotworową. Kwas furanoditerpenowy (**11**) (Rys. 4), został wydzielony z owoców *Pterodon polygalaeiflorus*, rośliny znanej w brazylijskiej medycynie ludowej ze swoich właściwości antyreumatycznych, przeciwzapalnych oraz przeciwbólowych. Następnie związek ten został substratem wyjściowym dla syntezy trzech pochodnych laktonowych **12**, **13**, **14** (Rys. 4). Sprawdzone wpływ wszystkich czterech substancji na proliferację komórek nowotworowych o różnym pochodzeniu histologicznym.

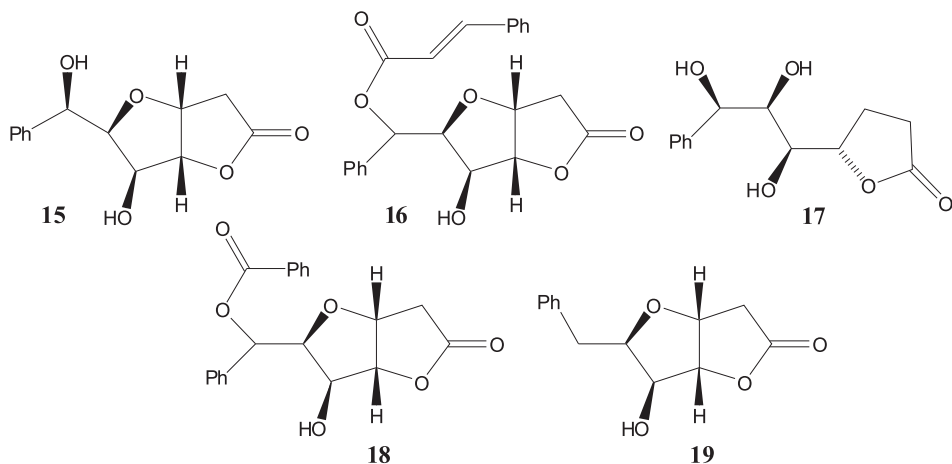


Rysunek 4
Figure 4

W większości przypadków pochodne laktonowe wykazywały wyższą aktywność od wyjściowego kwasu. Linia komórkowa białaczki K562 okazała się wyjątkowo wrażliwa na γ -lakton **14**. Już przy stężeniu 0,4 mg/mL obserwowano 50% zahamowanie wzrostu komórek. Linie komórkowe nowotworów jajnika NCI-ADR\RES i OVCAR-03 były z kolei wysoce wrażliwe na hydroksylakton **12**, który wykazywał dużą selektywność działania, i przy stężeniach odpowiednio 0,3 i 0,5 mg/mL obserwowano pięćdziesięcioprocentowe zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych tych linii [21].

Obecnie prowadzone są również próby otrzymania za pomocą klasycznej syntezy chemicznej związków naturalnych o określonej aktywności biologicznej jak i ich różnego typu pochodnych. (+)-Goniofufuron (**15**) (Rys. 5) wyizolowany z roślin

z rodzaju *Goniothalamus* używanej w tradycyjnej medycynie Indyjskiej oraz w Malezji i na Tajwanie wykazuje aktywność przeciwnowotworową w badaniach prowadzonych *in vitro* [22]. Najnowsze doniesienia literaturowe przedstawiają wieloetapową syntezę chemiczną (+)-goniofufuronu (**15**) oraz (+)-krassalaktonu C (**16**), występującego w liściach i łodygach *Polyalthia crassa*, oraz ich pochodnych **17**, **18**, **19** (Rys. 5).

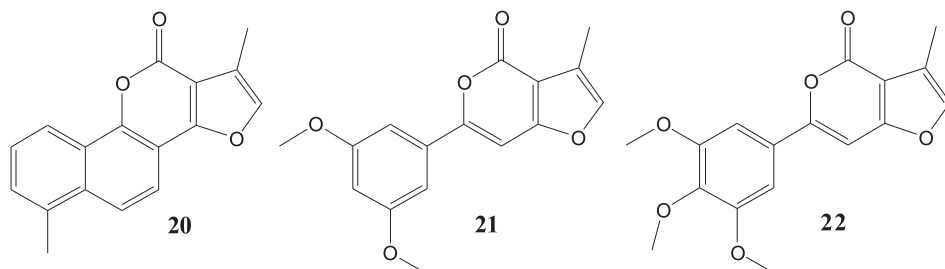


Rysunek 5
Figure 5

Zbadano aktywność powyższych związków wobec komórek nowotworowych białaczki ludzkiej K562, HL-60, Jurkat oraz ludzkiego chłoniaka (Reji) i raka szyjki macicy (HeLa). Dodatkowo sprawdzano cytotoksyczność względem normalnych komórek fibroblastów (MRC-5). Wszystkie trzy analogi związków naturalnych wykazywały ciekawe właściwości przeciwnowotworowe, choć żaden z nich nie miał silnych właściwości cytotoksycznych względem linii ludzkiej białaczki Jurkat. Dawka IC_{50} γ -hydroksylaktonu **17** była o dziesięć razy mniejsza niż IC_{50} stosowanej, jako związek referencyjny doksorubicyny. Ponadto badane związki nie wykazywały aktywności cytotoksycznej względem normalnych komórek fibroblastów MRC-5, co pozwala mieć nadzieję na ich selektywne hamowanie rozwoju komórek nowotworowych w testach *in vivo* [23].

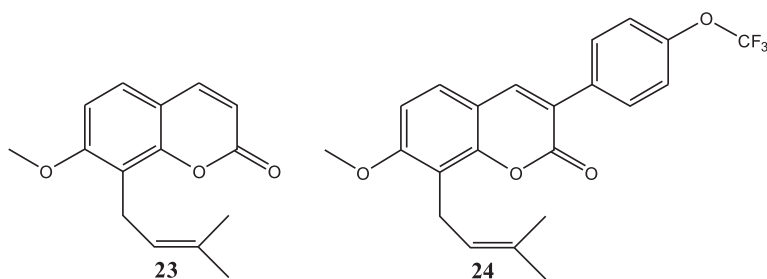
Na podstawie struktury znanych związków wykazujących obiecującą aktywność przeciwnowotworową konstruuje się też pochodne o uproszczonej budowie. Takie zabiegi mają na celu poznanie, które fragmenty cząsteczki są kluczowe dla określonej aktywności oraz jaki jest mechanizm działania danego związku. Taką też strategię przyjęto syntezując dwadzieścia dwa analogi *neo*-tanshinlaktonu (**20**) (Rys. 6), który wysoce selektywnie hamuje wzrost komórek linii nowotworowych ludzkiego raka piersi. Zarówno nowe pochodne jak i *neo*-tanshinlakton zostały poddane badaniu aktywności przeciwnowotworowej na linii SK-BR-3 ludzkiego guza piersi. Badania

potwierdziły, że w zależności od podstawienia pierścienia benzenowego związki te wykazują różną aktywność. Dwa syntetyczne analogi **21** i **22** (Rys. 6) zasługują na szczególną uwagę, ponieważ działają wysoce selektywnie na linię SK-BR-3 w porównaniu do pozostałych testowanych linii komórek nowotworowych. Dodatkowo dimektoksylowa pochodna **21** wykazuje stosunkowo niewielką toksyczność względem kontrolnych linii komórkowych 184A1 i MCF10A [24].



Rysunek 6
Figure 6

Pochodne kumaryny wykazują szerokie spektrum właściwości biologicznych takich jak aktywność przeciwnowotworowa i przeciwwirusowa, w tym również przeciw wirusowi HIV [25, 26]. Osthol (**23**) (Rys. 7) i jego syntetyczne analogi wykazują aktywność przeciwko liniom komórkowym ludzkiego raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231. Szczególnie interesująca wydaje się fluoropochodna **24** (Rys. 7), której aktywność jest niemal 100 razy większa niż aktywność wyjściowego związku jak również stosowanego, jako pozytywna kontrola, Temoxifenu. Związek ten nie wykazywał również cytotoksyczności względem ludzkich embrionalnych komórek nerek linii (HEK)-293 a jego badania *in vivo* są w toku [27].

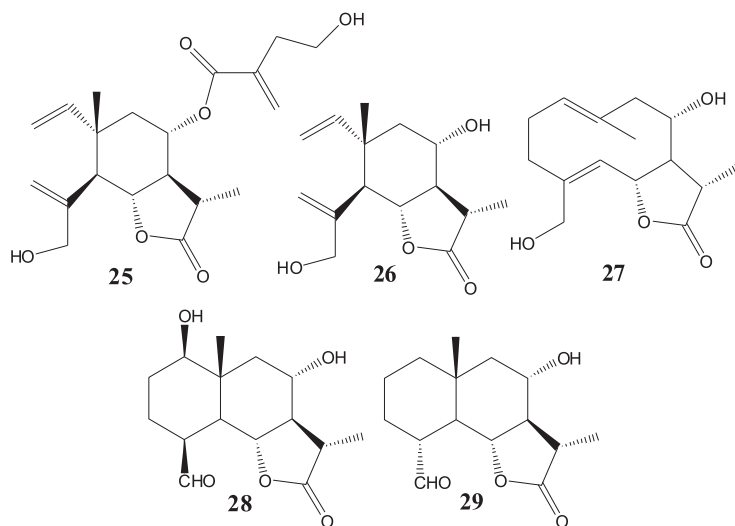


Rysunek 7
Figure 7

2. LAKTONY O AKTYWNOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ

Wzrost oporności drobnoustrojów na znane środki farmakologiczne oraz pojawianie się nowych szczepów, nie występujących powszechnie, bakterii i grzybów jest uzasadnieniem prac badawczych, mających na celu izolowanie substancji aktywnych z naturalnych źródeł lub syntezę nowych w nadziei, że wykażą one określoną aktywność przeciwdrobnoustrojową. Syntezowane są też pochodne znanych wykazujących aktywność substancji oraz prowadzone są badania nad określeniem ich właściwości przeciwbakteryjnych lub przeciwgrzybiczych.

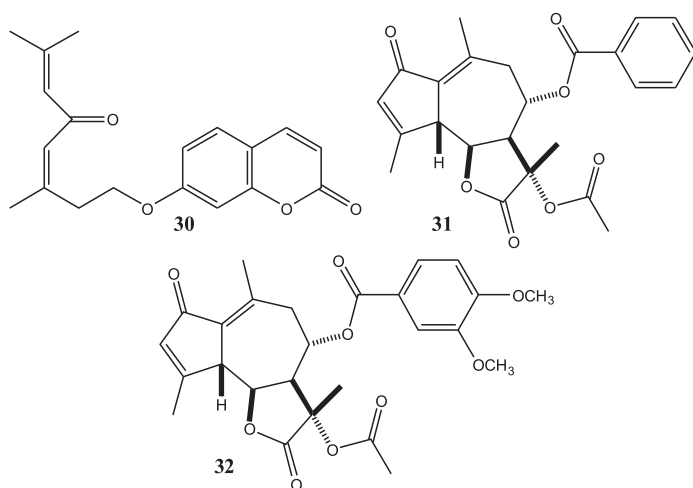
Laktony seskwiterpenowe (**25–29**) (Rys. 8) o wysokiej aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej zostały wyizolowane z chabra *Centaurea pullata*.



Rysunek 8
Figure 8

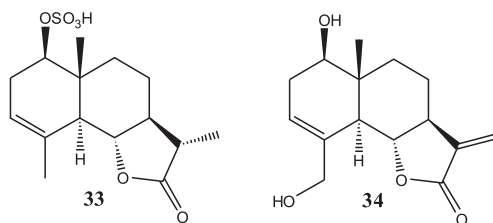
Wszystkie przedstawione związki, z wyjątkiem α -metylo- γ -laktону **28** wykazywały wyższą aktywność przeciwbakteryjną w stosunku do szczepów *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas tolaasii* i *Salmonella enteritidis* niż stosowany, jako pozytywna kontrola, antybiotyk Streptomycyna. Podobnie w przypadku badań aktywności przeciwgrzybiczej względem szczepów *Alternaria alternate*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium tricinctum*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrachloron* i *Trichoderma viride*. Wszystkie badane laktony okazały się aktywniejsze od mikonazolu, komercyjnego fungicydu, który stanowił w tym przypadku kontrolę [28]. Opierając się na swoich wcześniejszych badaniach [29–32], autorzy dowodzą, że podobnie jak w przypadku właściwości przeciwnowotworowych, tak samo dla właściwości antydnobnoustrojowych istotne jest występowanie w cząsteczce ugrupowania α -metyleno- γ -laktonowego lub α -metylo- γ -laktonowego.

Pochodna kumaryny (**30**) oraz estrowe pochodne gwajanolidów (**31**, **32**) (Rys. 9) zostały wyizolowane z korzeni rośliny *Ferula diversittata* należącej do rodziny *Apiaceae* (baldaszkowate) oraz poddane badaniom ich właściwości przeciwbakteryjnych oraz przeciwgrzybiczych. Dla gwajanolidowej pochodnej zestryfikowanej kwasem benzoesowym (**31**) minimalne stężenie hamujące wzrost (MIC) bakterii *Staphylococcus aureus* wynosiło 40 mg/mL. Pozytywną kontrolą była w tym przypadku gentamycyna (MIC-16 mg/mL). Związek **32** okazał się aktywny przeciwko grzybowi strzępkowemu *Aspergillus niger* z minimalną dawką hamującą 40 mg/mL. Kontrolny środek grzybobójczy – flukonazol wykazywał tą samą aktywność przy dawce 8 mg/mL. Właściwości przeciwgrzybiczne względem *Aspergillus niger* wykazała także pochodna kumaryny (**30**) jednak w tym przypadku minimalne stężenie hamujące było wyższe i wynosiło 80 mg/mL [33].



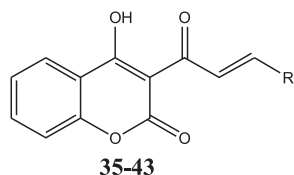
Rysunek 9
Figure 9

Mlecz Polny (*Sonchus arvensis*) należący do rodziny *Asteraceae* zwany w chińskiej medycynie ludowej „Ju Mai Cai” znany jest ze swoich właściwości przeciwzapalnych oraz detoksykujących. Z rośliny tej wyizolowano dwa nowe i osiem znanych już wcześniej laktonów seskwiterpenowych i sprawdzono ich aktywność w stosunku do bakterii gram-dodatnich *Streptococcus mutans*. Dwa spośród badanych związków wykazały aktywność przeciwbakteryjną. Minimalne stężenie hamujące względem badanego szczepu gronkowca dla nowego α -metylolaktonu **33** wynosi 15,6 mg/mL, natomiast dla α -metylenolaktonu **34** 62,5 mg/mL (Rys. 10) [34].



Rysunek 10
Figure 10

Nie tylko laktony seskwiterpenowe mają silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, również nowe syntetyczne chalkonowe pochodne kumaryny (**35–43**) (Rys. 11) wykazują właściwości przeciwbakteryjne. Otrzymano je w wyniku trzyetapowej syntezy chemicznej, której substratem była 4-hydroksykumaryna. Następnie określono ich aktywność względem bakterii *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* i *Pseudomonas aeruginosa*. Wyniki badań wskazują na silną aktywność przeciwbakteryjną testowanych pochodnych względem badanych szczepów bakterii. Strefa zahamowania wzrostu w teście płytkowym była, dla wszystkich badanych związków, większa niż w próbie kontrolnej, którą stanowił antybiotyk gentamycyna [35].

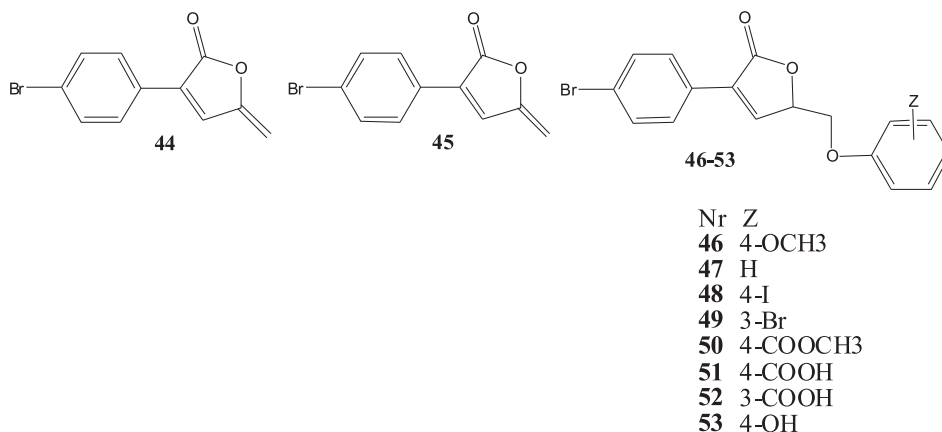


| Nr | R |
|-----------|--|
| 35 | C ₆ H ₅ |
| 36 | pF-C ₆ H ₄ |
| 37 | pOCH ₃ C ₆ H ₄ |
| 38 | pMe C ₆ H ₄ |
| 39 | pBr C ₆ H ₄ |
| 40 | pNO ₂ C ₆ H ₄ |
| 41 | 3,4,5 OCH ₃ C ₆ H ₂ |
| 42 | C ₁₀ H ₇ |
| 43 | pN(Me) ₂ C ₆ H ₄ |

Rysunek 11
Figure 11

Naturalnym związkiem o aktywności przeciwgrzybiczej jest (–)-incrustoporyna (**44**) (Rys. 12) wyizolowana z grzybów *Incrustoporia carneola* należących do *Basidiomycetes*. Natomiast pochodne tego związku wykazują właściwości przeciwbakteryjne [36]. Najnowsze badania czeskiego zespołu dotyczą syntezy nowych pochodnych (–)-incrustoporyny. Określono aktywność przeciwdrobnoustrojową otrzymanych produktów syntezy względem grzybów z rodzaju *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusi*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*), *Trichosporon*, *Aspergillus*, *Absidia* oraz *Trichophyton*. Wiele spośród uzyskanych 5-metyloaryloksy pochodnych (**46–53**) (Rys. 12) wykazuje szerokie spektrum aktywności przeciwgrzybiczej. Za właściwości te odpowiedzialny jest jednak nienasycony metylenolakton

45, który powstaje w wyniku reakcji eliminacji tych pochodnych w podłożu mikrobiologicznym z dodatkiem DMSO w trakcie oznaczania aktywności przeciwgrzybiczej. Wykazano również, iż uwalniane równocześnie do podłoża fenole nie wykazują właściwości przeciwgrzybiczych względem badanych szczepów grzybów strzępkowych oraz drożdży i nie są odpowiedzialne za pozytywne wyniki przeprowadzonych doświadczeń [37].



Rysunek 12
Figure 12

PODSUMOWANIE

Mimo ogromnego postępu, jaki dokonuje się na naszych oczach w medycynie lekarze wciąż zmagają się ze znanymi od lat problemami. Coraz dokładniej poznajemy przyczyny i mechanizmy rozwoju poszczególnych chorób, ale w dalszym ciągu sprawą kluczową jest znalezienie odpowiedniej dla nich specyfików terapeutycznych. Wyróżnione w niniejszej pracy związki zawierające w swojej strukturze pierścień laktonowy nie są jedyną grupą substancji, które mogą być potencjalnie wykorzystane jako leki. Lecz niewątpliwie wiele z tych związków wykazuje na tyle silne działanie biologiczne, że kwestią czasu jest wprowadzenie ich do terapii chorób nowotworowych lub leczenia infekcji bakteryjnych i grzybowych.

PODZIĘKOWANIA

Serdecznie dziękuję mojemu promotorowi profesorowi Czesławowi Wawrzeńczykowi za wszelką pomoc, cierpliwość oraz cenne rady i uwagi.

Praca współfinansowana z ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] D.A.R. Valério, T.M. Cunha, N.S. Arakawa, H.P. Lemos, F.B. Da Costa, C.A. Parada, S.H. Ferreira, F.Q. Cunha, W.A. Verri Jr., *Eur. J. Pharmacol.*, 2007, **562**, 155.
- [2] B.H.B. Kwok, B. Koh, M.I. Ndubuisi, M. Elofsson, C.M. Crews, *Chem. Biol.*, 2001, **8**, 759.
- [3] C.H. Liu, A.K. Mishra, R.X. Tan, *Crop Prot.*, 2006, **25**, 508.
- [4] T. Flijkushima, M. Tanaka, M. Gohbara, T. Fujimori, *Phytochemistry*, 1998, **48**, 625.
- [5] B. Akendengue, F. Roblot, P.M. Loiseau, C. Bories, E. Ngou-Milama, A. Laurens, R. Hocquemiller, *Phytochemistry* 2002, **59**, 885.
- [6] B. Ozcelik, I. Gurbuz, T. Karaoglu, E. Yesilada, *Microbiol. Res.*, 2009, **164**, 545.
- [7] A. Robinson, T. Vijay Kumar, E. Sreedhar, V.G.M. Naidu, S. Rama Krishna, K. Suresh Babu, P.V. Srinivas, J. Madhusudana Rao, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 4015.
- [8] H. Ding, C. Zhang, X. Wu, C. Yang, X. Zhang, J. Ding, Y. Xie, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 4799.
- [9] S. Rozenblat, S. Grossman, M. Bergman, H. Gottlieb, Y. Cohen, S. Dovrat, *Biochem. Pharmacol.*, 2008, **75**, 369.
- [10] S. Barluenga, P.Y. Dakas, M. Boulifa, E. Moulin, N. Winssinger, *C.R. Chimie*, 2008, **11**, 1306.
- [11] G.L. Gallardo, N.I. Pena, G.M. Cabrera, *Phytochem. Lett.*, 2008, **1**, 155.
- [12] C.H. Gao, X.H. Nong, S.H. Qi, X.M. Luo, S. Zhang, H.R. Xiong, *Chinese Chem. Lett.*, 2010, **21**, 1355.
- [13] S. De Rosa, A. Crispino, A. De Giulio, C. Iodice, G. Tommonaro, R. Pronzato, M. Sidri, *Tetrahedron*, 1999, **55**, 13805.
- [14] M.J. Balunas, A.D. Kinghorn, *Life Sci.*, 2005, **78**, 431.
- [15] G. Fouche, G.M. Cragg, P. Pillay, N. Kolesnikova, V.J. Maharaj, J. Senabe, *J. Ethnopharmacol.*, 2008, **119**, 455.
- [16] H. Lai, N.P. Singh, *Cancer Lett.*, 2006, **231**, 43.
- [17] X.W. Li, L. Weng, X. Gao, Y. Zhao, F. Pang, J.H. Liu, H.F. Zhang, J.F. Hu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2011, **21**, 366.
- [18] P.G. Taylor, O.A. Dupuy Loo, J.A. Bonilla, R. Murillo, *Fitoterapia* 2008, **79**, 428.
- [19] E. Rodriguez, G.H.N. Towers, J.C. Mitchell, *Phytochemistry*, 1976, **15**, 1573.
- [20] A. Ghantous, H. Gali-Muhtasib, H. Vuorela, N.A. Saliba, N. Darwiche, *Drug Discov. Today*, 2010, **15**, 668.
- [21] F.P.G. Euzébio, F.J.L. dos Santos, D. Piló-Veloso, A.L.T.G. Ruiz, J.E. de Carvalho, D.L. Ferreira-Alves, Â. de Fátima, *Bioorg. Chem.*, 2009, **37**, 96.

- [22] A. de Fátima, L.V. Modolo, L.S. Conegero, R.A. Pilli, C.V. Ferreira, L.K. Kohn, J.E. de Carvalho, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 3371.
- [23] V. Popsavin, B. Sreco, G. Benedekovic, J. Francuz, M. Popsavin, V. Kojic, G. Bogdanovic, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 2876.
- [24] Y. Dong, Q. Shi, K. Nakagawa-Goto, P.C. Wu, S.L. Morris-Natschke, A. Brossi, K.F. Bastow, J.Y. Lang, M.C. Hung, K.H. Lee, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 803.
- [25] T. Okamoto, T. Kobayashi, S. Yoshida, *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents*, 2005, **5**, 47.
- [26] I. Kostova, S. Raleva, P. Genova, R. Argirova, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2006, **1**, 25651.
- [27] L. You, R. An, X. Wang, Y. Li, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 7426.
- [28] S. Djeddi, A. Karioti, M. Sokovic, C. Koukoulitsa, H. Skalts, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 3725.
- [29] S. Djeddi, A. Karioti, M. Sokovic, D. Stojkovic, R. Serid, H. Skaltsa, *J. Nat. Prod.*, 2007, **70**, 1796.
- [30] H. Skaltsa, D. Lazari, C. Panagouleas, E. Georgiadou, B. Garcia, M. Sokovic, *Phytochemistry*, 2000, **55**, 903.
- [31] H. Skaltsa, D. Lazari, B. Garcia, J.R. Pedro, M. Sokovic, T. Constantinidis, *Naturforsch. C*, 2000, **55c**, 534.
- [32] A. Karioti, H. Skaltsa, D. Lazari, M. Sokovic, B. Garcia, C. Harvala: *Naturforsch. C*, 2002, **57c**, 75.
- [33] M. Iranshahi, S.T. Hosseini, A.R. Shahverdi, K. Molazade, S.S. Khan, V.U. Ahmad, *Phytochemistry*, 2008, **69**, 2753.
- [34] Z. Xia, W. Qu, H. Lu, J. Fu, Y. Ren, J. Liang, *Fitoterapia*, 2010, **81**, 424–428.
- [35] N. Hamdi, F. Bouabdallah, A. Romerosa, R. Benhassen, *C. R. Chimie.*, 2010, **13**, 1261.
- [36] M. Pour, M. Spulak, V. Balsanek, J. Kunes, V. Buchta, K. Waisser, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2000, **10**, 1893.
- [37] P. Šenel, L. Tichotová, I. Votruba, V. Buchta, M. Špulák, J. Kuneš, M. Nobilis, O. Krenk, M. Pour, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 1988.

Praca wpłynęła do Redakcji 25 stycznia 2011

SYLWETKI UCZONYCH

**JĘDRZEJ ŚNIADECKI I JEGO SPOTKANIE
Z GWIAZDAMI PIERWIASTKAMI**

Roman Edmund Sioda

*Institut Chemii,
Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie*

Jak wynika z wcześniejszych przekazów literaturowych, Jędrzej Śniadecki (1768–1838) był wszechstronnie wykształconym erudytą znającym wiele języków obcych [1]. Około roku 1806, mając prawie czterdzieści lat rozpoczął prace, które doprowadziły go do odkrycia nowego pierwiastka nazwanego przez niego Westem. Poszukiwania Westu prowadził w minerale surowej platyny pochodzącym najprawdopodobniej z Ameryki Południowej – najprawdopodobniej, ponieważ minerał ten mógł pochodzić z pozornie nie odkrytych złóż na syberyjskich stokach Uralu (okręg i miasto Niżnyj Tagil) [2]. Jędrzej Śniadecki, wyniki prowadzonych przez siebie badań, wygłosił w referacie na Uniwersytecie Wileńskim [3] i opublikował w języku polskim w Wilnie. Te same badania zostały wydrukowane w języku rosyjskim w znanym na owe czasy czasopiśmie *Tekhnologicheskii Zhurnal* [4] – czasopismo to w latach 1804–1815 było wydawane w St. Petersburgu przez znanego mineraloga i chemika Wasyla Michajłowicza Sewergina (1765–1826).

Śniadecki dodatkowo opisy swoich eksperymentów i najprawdopodobniej przygotowany przez siebie materiał badawczy przesłał do Akademii Nauk w Paryżu celem ogłoszenia i uznania badań [5] – materiały przekazał za pośrednictwem brata Jana Śniadeckiego (1756–1830), matematyka i astronoma. Odkrycie nowego pierwiastka zostało zgłoszone na posiedzeniu Akademii Nauk w Paryżu w dniu 11 lipca 1808 r. przez sekretarza Akademii dla Nauk Matematycznych, wybitnego matematyka i astronoma oraz dyrektora Obserwatorium Paryskiego Jean Baptiste Joseph Delambre (1749–1822). Profesor Delambre przedstawiał: – *un Mémorial de M. Zwiadecki, frère de l'Astronome polonais de ce nom, sur l'analyse du mineral de platine, où il a découvert encore un nouveau metal qu'il nomme Vestium, d'après la planète Vesta*, co w tłumaczeniu brzmi – *Memoriał Pana Zwiadeckiego, brata astronoma polskiego o tym samym nazwisku, na temat analizy minerału platyny, gdzie on odkrył jeszcze nowy metal, który nazywa Vestium, w następstwie odkrycia planety Vesta* – rzeczywiście, asteroidea Vesta została odkryta w marcu 1807 r. przez znanego astronoma i fizyka niemieckiego Heinricha Wilhelma Olbersa (1758–1840).

Na tym samym posiedzeniu kolejny komunikat wygłosił wspomniany wcześniej brat Jędrzeja, Jan Śniadecki, wymieniony w sprawozdaniu Akademii jako *Monsieur Zwiadecki*, jego wystąpienie dotyczyło: *diverses observations astronomiques* w tł. *różnych obserwacji astronomicznych*.

Tydzień później w dniu 18 lipca 1808 r. kolejne doniesienie Akademii dla Nauk Matematycznych w Paryżu dotyczyło posiedzenia na którym to odczytano memoriał Jędrzeja Śniadeckiego: *On lit le Mémorial de M. Sniadecki [Sziadecki] sur le Nouveau métal vestium qu'il a trouvé dans le platine*. Członkami specjalnie wyznaczonej komisji oceniającej raport Jędrzeja Śniadeckiego tzw. *Commissaires* byli wybitni chemicy paryscy: Claude Louis Berthollet (1748–1822), Louis-Bernard Guyton de Morveau (1737–1816), Antoine Francois, hrabia de Fourcroy (1755–1809) oraz Louis Nicolas Vauquelin (1763–1829) odkrywca chromu (1797) i berylu (1798). W posiedzeniu wzięło udział czterdziestu dziewięciu wybitnych uczonych, w tym m.in. matematyko-fizyko-astronom Pierre Simon Laplace (1749–1827), fizyko-chemik Joseph Louis Gay-Lussac (1778–1850) – ich obecność świadczyła o wysokiej

randze posiedzenia. Niestety, jak wynika z dalszych sprawozdań Akademii do sprawy badań Jędrzeja Śniadeckiego nie powrócono. Ówczesny Uniwersytet Wileński był zbyt mało znany w świecie, aby odkrycie Śniadeckiego zostało uznane przez środowisko naukowe paryskich chemików. Przypuszczalnie Śniadecki rozczarowany reakcją Paryża, postanowił ponownie wydać pracę w języku rosyjskim dając tym samym szansę późniejszym odkrywcom tego pierwiastka – dowodem na to jest druk skróconej pracy Jędrzeja Śniadeckiego w *Tekhnologicheskim Zhurnale* pod koniec 1809 roku.

Zatem Jędrzej Śniadecki sprawdził się nie tylko jako odkrywca, ale przede wszystkim jako naukowiec, któremu przyszło ponieść wysokie koszty zaangażowania intelektualnego, ale również materialne. Śniadecki zgromadził około 800 g minerału surowej platyny, a także zorganizował pomieszczenia chemii na Uniwersytecie Wileńskim tj. audytorium wykładowe oraz laboratorium, w którym prowadził swoje badania [1]. Nie mógł jednak konkurować z bardzo nowoczesnym laboratorium w Paryżu, w którym to posiadano najlepiej rozwiniętą technikę chemicznej pracy laboratoryjnej. Paryskie laboratorium było utworzone ogromnym nakładem finansowym przez Antoine Laurenta de Lavoisiera (1743–1794), któremu we współdziałaniu z własną żoną oraz współpracownikami udało się dokonać rewolucji naukowej w chemii m.in. poprzez opublikowanie swojego wiekopomnego dzieła [6]. Jędrzejowi Śniadeckiemu mimo zamiaru dalszych studiów chemicznych w Paryżu nie udało się poznać laboratoriów chemików paryskich – po zakończeniu studiów medycznych w Pawii [1] zmienił swoje początkowe plany i zamiast do Paryża pojechał do Szkocji na Uniwersytet w Edynburgu, gdzie studiował przez dwa lata pod kierunkiem znanego lekarza i chemika Josepha Blacka (1728–1799) [1]. Powodem tej zmiany były niepokoje rewolucyjne we Francji. W dzisiejszych czasach, opierając się jedynie na podstawie dotychczasowej literatury, trudno ocenić zakres i poziom badań chemicznych prowadzonych w Edynburgu. Joseph Black był odkrywcą dwutlenku węgla, wynalazł wagę analityczną, ale największą sławę osiągnął przez badania fizykochemiczne specjalizując się w kalorymetrii: m.in. rozróżnił ciepło od temperatury, wprowadził pojęcie ciepła właściwego i utajonego, wynalazł kalorymetr. Mimo tego wydaje się, że poziom technicznego zaawansowania laboratorium chemicznego w Paryżu był wyższy. Stąd, kiedy wybitni chemicy francuscy nie potwierdzili odkrycia Westu, Śniadecki zaprzestał kontynuowania pracy w tym kierunku [1].

Nie mniej jednak należy podkreślić doskonale wyrobione umiejętności analityczne Jędrzeja Śniadeckiego, który słusznie doszukał się jeszcze jednego piątego pierwiastka obecnego w minerale surowej platyny w którym to parę lat wcześniej znaleziono cztery nowe pierwiastki (pallad, rod, iryd i osm) [2, 3]. Po wielu latach odkrycie Śniadeckiego doczekało się potwierdzenia dokonanego przez dwóch badaczy – niemieckiego chemika Osanna (Dorpat, 1828) oraz chemika rosyjskiego Klause (Kazan, 1844) którzy to badali odpady przerobu surowej platyny pochodzącej z osadów aluwialnych rzek syberyjskich Miass i Isjeć wypływających po wschodniej stronie gór Uralu. Uznaje się, że badany przez nich minerał surowej platyny został

odkryty tamże dopiero w roku 1819, jako dodatek do złóż aluwialnego złota. Było to bardzo bogate źródło platyny, której produkcja dobrze rozwijała się a metal ten był używany do wyrobu monet, medali i biżuterii [7]. Dla nowego pierwiastka, Gottfried Osann (1796–1866) wprowadził nazwę ruten (ruthenium), która to nazwa funkcjonuje do dziś. Karl Karlovitch Klaus (także: Carl Ernst Claus, 1796–1864) rozszerzył i połączył swoje odkrycie z badaniami dokonanymi w roku 1808 przez Śniadeckiego oraz z skojarzył je z nazwą wprowadzoną przez Osanna – niestety był to okres w którym Śniadecki już nie żył i nie mógł cieszyć się oczekiwanym potwierdzeniem swojego odkrycia nowego pierwiastka nazwanego przez siebie Westem (*Vestium*). Nie jest wiadome by Śniadecki brał udział w późniejszych badaniach minerału surowej platyny z Uralu i odpadów po przerobie, być może nie miał do nich dostępu. W późniejszym okresie w sprawę poszukiwania rutenu zaangażował się największy autorytet chemiczny Europy, Baron Jön Jacob Berzelius (1779–1848) w Sztokholmie, który potwierdził prawidłowość odkrycia rutenu przez Klause [8].

Podsumowując, należy bezsprzecznie uznać Jędrzeja Śniadeckiego za współodkrywcę rutenu, chociaż nie mógł on dostarczyć niewątpliwych dowodów swojego odkrycia, zwłaszcza przy braku poparcia wybitnej szkoły chemików francuskich [9]. Jednakże dalszy rozwój sytuacji pokazał, że minerał platyny zawierał rzeczywiście nowy pierwiastek, którego nazwa uległa zmianie z *Vestium* na Ruthenium.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Baliński, *Życie Jędrzeja Śniadeckiego*, wyd. Ernesta Günthera, Leszno i Gniezno, 1840 r.; <http://bcpw.bg.pw.edu.pl/dlibra/doccontent?id=283&from=&dirids=1&>.
- [2] Mary Elvira Weeks, *Discovery of the elements*, (7-me wydanie), Journal of Chemical Education, Washington D.C., 1968.
- [3] J. Śniadecki, *Rosprawa o nowym metallu w surowej platynie odkrytym*, wyd. Józefa Zawadzkiego, Wilno, 1808, 27 stron.
- [4] A. Snjadeckij, *O nowom metalle, najdenom w zjernach Platiny*, Tekhnologicheskii Zhurnal, tom 6, część 4, str. 81–98 (1809).
- [5] Institut de France, Académie des sciences, Procès-verbaux des Séances de l'academie tenues depuis la fondation de l'Institut jusqu'au mois d'août 1835, Tome IV, an 1808–1811, Hendaye (Basses-Pyrénées), 1913; <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k3297q.r=.langFR>.
- [6] A.L. de Lavoisier, *Traité élémentaire de chimie présenté dans un ordre nouveau et d'après les découvertes modernes*, Paryż, 1789; *Traktat podstawowy chemii w tłumaczeniu R. Mierzeckiego*, Warszawa, 2001.
- [7] O.E. Zvyagintsev, „Istoria uralskoi platiny”, *Trudy Instituta Istorii Estestvoznaniya i Tekhniki*, tom 6, str. 160–204 (1955).
- [8] V.N. Pitchkov, „The discovery of ruthenium”, *Platinum Metals Rev.*, tom 40, część 4, str. 181–188 (1996).
- [9] R.E. Sioda, „Jędrzeja Śniadeckiego ‘romans’ z gwiazdami i pierwiastkami”, *Przemysł Chemiczny*, tom 89, zeszyt 9, str. 1158 (2010).

Szanowny Panie Redaktorze,

W recenzowanym piśmie springerowskim *Naturwissenschaften* (IF = 2,1) ukazał się niedawno artykuł przeglądowy Edmunda Stormsa [1] o najświeższych postępach prac nad tzw. zimną fuzją (*cold fusion*). Dla przypomnienia: 30 lat temu chemicy M. Fleischman i S. Pons (dalej F&P) zauważyli, że w czasie elektrolizy ciężkiej wody, część wytworzonych cząsteczek D_2 łączy się na elektrodzie palladowej tworząc 4He przy czym wydzielane jest ciepło. Ponieważ fuzja następuje z udziałem jedynie niektórych spośród powstałych deuterów, wydajność cieplna opisywanej reakcji jest niewielka, a zatem nie grozi wybuchem lecz raczej przedstawia intrygujący przypadek taniego pozyskiwania energii. Dziedzina ta nieustannie pochłania uwagę wielu laboratoriów. Autor omawianej w tym liście publikacji twierdzi, że są tysiące artykułów na temat zimnej fuzji z czego cytuje jedynie 163 w tym 73 z ostatniego dziesięciolecia.

Institut którego jestem pracownikiem, statutowo interesował się zagadnieniem zimnej fuzji i jako pierwszy w Polsce [2] przedstawił próby sprawdzenia rewelacji F&P z wynikiem negatywnym.

W roku 2007 *Wiadomości Chemiczne* udzieliły swoich łamów dla mojego artykułu [3] na temat zimnej fuzji a ponieważ dziedzina nie zamiera kontynuuję śledzenie dalszych postępów zagadnienia. Gdybym pisał artykuł to w naszej byłej sferze dałbym mu tytuł „Zimna fuzja wiecznie żywa” – jako że starsze i średnie pokolenie obywateli naszej części Europy zrozumie co mam na myśli.

Prace nad zimną fuzją są nadal prowadzone m.in. przez koła wojskowe które widzą w tych badaniach zastosowanie przy modernizacji broni jądrowych, zwłaszcza neutronowych; a także w nadziei na energetyczne zastosowanie – chociaż jak dotychczas można mówić jedynie o dyskusyjnych rezultatach prac nad reaktorami termojądrowymi; a wreszcie roli jaką odgrywa naturalna tendencja do prowadzenia prac poznawczych, co więcej prac nie wymagających dużych nakładów finansowych.

Z tych powodów uważam za celowe poinformowanie ogółu społeczności chemicznej zanim dalsze „rewelacje” będą mogły zniekształcić lub zagmatwać sprawę.

Przed omówieniem informacji zamieszczonych we wspomnianym artykule Edmunda Stormsa, a których nie było w moim obszernym przeglądzie [3], należy wyjaśnić kim jest autor omawianej tutaj publikacji [1]. Dr Edmund Storms jest emerytowanym radiochemikiem, który przez 34 lata pracował w Los Alamos National Laboratory (dalej LANL) zajmując się głównie dziedziną chemii wysokotemperaturowej z uwzględnieniem, jak on sam podkreśla w swojej autobiografii, efektu *cold fusion*. Obecnie mieszka w Santa Fe, gdzie we własnym laboratorium *KivaLabs* bada ten efekt (kiva to osobliwe mieszkanko Indian, pokazywane w rezerwach stanu New Mexico). W czasie moich bytności w LANL (ostatnio w lipcu 2010) nie stwierdziłem zainteresowania sprawą, a kiedyś zainteresowanie rządowe w USA jego badaniami było na tyle duże, że w roku 1993 Storms zeznawał przed jedną z komisji Kongresu na ten temat. Wówczas istniało duże zainteresowanie – czy i jakie znaczenie ma zjawisko zimnej fuzji dla militarnego oraz dla energetycznego bezpieczeństwa USA.

Nie ma potrzeby informowania, że na wydźwięk przeglądu Stormsa wpływa – choć nie powinna z punktu widzenia czystości Nauki jego wiara, że zimna fuzja istnieje – z tego powodu ton artykułu przypomina wypowiedzi głowy jakiejś sekty. W moich natomiast wypowiedziach, zwłaszcza w przeglądzie [3] nie taję z kolei sceptycznego stosunku do sprawy, stając po stronie takich autorów jak Robert Park, który prowokacyjnie zatytułował cytowaną przez mnie książkę „Voodoo Science” [4].

Nie będę wymieniał innych książek o podobnym charakterze stojących na półkach własnej biblioteki. W mojej wypowiedzi w ówczesnych „Problemach” [5] krytycznie wyraziłem się o programie nadawanym w TVP1 na temat „naukowej” interpretacji eksperymentu F&P, czym narobiłem sobie wrogów pośród entuzjastów czystego lecz żalostnie słabego źródła energii w Polsce. Przypuszczam, że również dzisiaj są zwolennicy odmiennego spojrzenia na tę sprawę. Dziś mogę ujawnić – jak mnie później informowano – kolegium redakcyjne „Problemów” długo dyskutowało na temat czy drukować Zagórskiego czy nie, w końcu drukowano dzięki niewielkiej przewadze głosów „za”.

Już we wstępie swojego artykułu, Storms popełnia nieścisłości, pisząc że elektroliza ciężkiej wody na palladowej elektrodzie wyzwala „niezwykle wysokiego rzędu ilości energii”. Powinien pamiętać, że współautor odkrycia Pons oświadczył w chwili szczerości, że energia z dużego nawet elektrolizera ciężkiej wody wystarcza do przygotowania po szklance herbaty dla niewielkiej rodziny. Analogia ta przyszła mu z łatwością, bo zanim zaczął prace w laboratorium prowadził niewielką rodzinną restaurację. Istotnie, wyzwalana energia jest znikoma, choć osobiście się manifestuje co zacytuję dalej. Druga nieścisłość jest poważniejsza, bo jest tendencyjnym kłamstwem, w które chyba nikt nie uwierzy: Storms pisze, że „energia gorącej fuzji jest obecnie wytwarzana na skalę przemysłową w płazmie lub poprzez laser”. Czyżby nie wiedział, że *the Nature* trzymająca rękę na pulsie istotnych dla ludzkości projektów donosi co rusz o praktycznym załamaniu się inwestycji ITERa (ang. *International Thermonuclear Energy Reactor*) w Francji i ostatnio przewiduje pierwszy eksperyment (jeszcze nie elektrownię) na rok 2026? Poważni naukowcy poddają nawet w wątpliwość podstawową celowość projektu [6]. Tu muszę się wtrącić – uważam że trzeba te miliardy euro wpuścić w błoto, bo inaczej następne pokolenia będą miały pretensje, że nie podjęliśmy tematu i nie spróbowaliśmy

Nieuczciwe traktowanie faktów przez Stormsa zwalnia właściwie od poważnego traktowania całego jego artykułu, jednak z uwagi na zacność czasopisma, które to wydrukowało a redaktor chyba czytał, kontynuujemy uwagi (manuskrypt wpłynął 11 czerwca, po poprawkach 4 sierpnia i po tygodniu poszedł do drukarni, a 14 września 2010 znalazł się *on line*).

Jak już wspomniano, ilości energii wydzielonej jako ciepło są znikome i stąd wiele wątpliwości co do jej istotnego, być może różnorodnego pochodzenia. By przyznać, że są w tej dziedzinie pewne zagadki, a nie być posądzonym o generalne odrzucenie całej dziedziny, przytoczmy przypadek niewielkiej generacji ciepła

w czasie elektrolizy ciężkiej wody z użyciem elektrod palladowych, obserwowany w kuriozalnych warunkach. Prawdopodobnie przez przypadek, czyli pozostawienie w zapomnieniu biegnącej elektrolizy, zauważono (Rys. 5 w publikacji Stormsa, z niewystarczającym komentarzem o szczegółach eksperymentu) dopiero w dwudziestym (!) dniu trwania eksperymentu anormalne wydzielanie ciepła, które w sześćdziesiątym (!) dniu elektrolizy przybrało stromy charakter i nie ma informacji czym to się skończyło, prawdopodobnie po prostu wyłączeniem prądu. Koronnym dowodem, że coś się dzieje jest drugi wykres eksperymentu, w którym elektroda z proszku Pd jest ta sama, ale D_2O jest zastąpione H_2O i nic się nie dzieje nawet po sześćdziesięciu dniach. Zwolennicy przyczyny zjawiska zimnej fuzji tłumaczą to nanowielkością ziaren palladu. Odnośniki do publikacji w języku japońskim nie pozwalają analizować eksperymentu i jego interpretacji. Dziś „nano” jest dobre na wszystko.

Częstym jest przypadek, gdy jakieś laboratorium nie jest w stanie powtórzyć przez konkurencję ich opublikowanych wyników, to autorzy odkrycia replikują na przykład, że skład stopu palladu lub jego struktura były inne i koniec dyskusji. Gdyby wyzwolona energia fuzji była znaczna, aparatura zostałaby rozsadzona i dyskusji by nie było. Kapłani zimnej fuzji wraz ze Stormsem stworzyli pojęcie osobliwego bytu NAE (ang. *nuclear active environment*), które decyduje o tym czy atomy deuteru połączą się lub nie. Skrót przewija się przez cały artykuł nie wyjaśniając niczego.

Kluczowym eksperymentem dla rozstrzygnięcia czy reakcja fuzji następuje czy nie, byłoby dokładne oznaczenie helu 4, jednak Storms narzeka, że wobec niewiele różniących się mas 4He (4,002603) i D_2 (4,028203) oraz śladowego stężenia ewentualnie powstającego helu, oznaczenie jest niemożliwe. Inni autorzy nie podzielają tego poglądu i eksperymentują, poruszając się w granicach statystycznej niepewności, podobnie jak to ma miejsce w przypadku generowania ciepła.

Do najbardziej osobliwego działu zimnej fuzji należą koncepcje transformacji gdy „jeden lub więcej deutronów lub protonów wnika do jądra pierwiastka, proces jest nazywany transmutacją” (str. 869) [1]. Storms zauważa że transmutacja może przebiegać w różnych strefach energetycznych. Najwyższe (bombowe) pomija, bo są znane i zajmuje się najniższymi, bo te mogą mieć coś wspólnego z zimną fuzją. Tu znów dominuje technika wielotygodniowej elektrolizy, po której znajduje się podobno nowe śladowe domieszki pierwiastków, no i znów pojawia się specyficzne i tajemnicze NAE, które decyduje o zjawisku! Sprawa szczytuje w propozycji, że „żyjące organizmy mogą stwarzać same potrzebne im pierwiastki przez transmutację dostępnych, obecnych w nich pierwiastków” (str. 871) [1]. W tym miejscu moje pokolenie przypomina sobie Łysenkę, który popierany przez Stalina stwarzał teorie, których odrzucenie groziło łagrem. Koncepcja zimnej transformacji przebija Łysenkę zdecydowanie, na szczęście nie ma Stalina, a stalinopodobne i hitleropodobne reżimy są zbyt słabe by stwarzać „nową” naukę. Ciekawe, że sieroty po Stalinie/Łysence jeszcze żyją i to aktywnie, w Kijowskim Uniwersytecie Szewczenki gdzie głoszą wyniki transmutacji pierwiastków, gdy bakterie hodowane są w ciężkiej, zamiast zwykłej wodzie! To już wydaje się Stormsowi trochę podejrzaną, ale zaleca „debatę w kontekście zimnej fuzji”. No i raczej w to wierzy, bo przez cały artykuł poszukuje

natury NAE, co nazywa wyzwaniem (str. 875). NAE musi być niewielkie, skoro ma być obecne w żywej komórce (str. 877).

Stormsowi i rzeszy wyznawców zimnej fuzji brakuje wielokrotnie konceptu zjawisk, więc wymyślają nowe cząstki elementarne i pochodne. Na schemacie klasterów (Rys. 12), które biorą udział w tajemniczych reakcjach pojawiają się deuterony z ukrytym ładunkiem (ang. *deuterons with hidden charge*), a w treści di- i polineutrony, jakieś hydrio, dalej ciężkie elektrony zwane Itonem (str. 876) itd.

Jako chemika nuklearnego najbardziej zadziwia uporczywe podkreślanie, że zimna fuzja ma zapewnić niewyczerpalne (oceany), bezpieczne (brak produktów radioaktywnych), tanie i proste (generator w każdym mieszkaniu) źródło energii. Naprawdę ta demonstrowana produkcja energii jest znikoma. Gdyby elektroliza dawała przewidywalne ilości energii, to szereg laboratoriów zostałoby rozniesionych pod koniec eksperymentu, np. z powodu trwającej tygodnie elektrolizy! Tymczasem żadnych takich zdarzeń nie odnotowano. Jedyne śmiertelny wypadek to przepołowiona czaszka eksperymentującego z zimną fuzją kanadyjskiego fizyka, który nie wiedział, że mieszanina deuteru z powietrzem jest chemicznie wybuchowa od najmniejszej iskry.

Nie opisywałbym ponownie całej historii gdyby nie publikacja w szacownym piśmie naukowym, którego pierwszy numer ukazał się w 1913 roku i w zamyśle miał być niemieckojęzycznym odpowiednikiem *the Nature* (obecny IF = 31,4). W niezrozumiały sposób, czasopismo należące obecnie do solidnego Springer'a upadło niewiarygodnie nisko. Nie jest to przypadek, *Naturwissenschaften* od dawna publikuje prace w dziedzinie zimnej fuzji dla przykładu świeża praca z 2010 roku P.L. Hagelsteina, „Constraints on energetic particles in the Fleischman-Pons effect” [7].

Większość artykułów w tym czasopiśmie dotyczy biologii. Cóż w takim razie robi w nim zimna fuzja? Jest to zagadką na miarę mechanizmów samej zimnej fuzji. Skłonienie recenzowanego pisma do stawania się organem podejranej nauki nobilituje badania zimnej fuzji. A nie powinno, bo najlepszym medium dla złej nauki (*bad science*) jest Internet. Kto chce pogłębić wiedzę o zimnej fuzji może tam sięgnąć, np. po paranaukowe wydawnictwo *Infinite Energy*, które w najnowszym numerze, kolejnej numeracji 93 przedstawia na czternastu stronach kolokwium poświęconego tematyce LANR (ang. *Lattice Assisted Nuclear Reactions*) – kolokwium to odbyło się w MIT (Massachusetts Institute of Technology), który przypadkowo użyczył swojej sali dla trzydziestu pięciu uczestników. Impreza zwróciła moją uwagę jedynie dlatego, że w kontekście wodoru cytowano, zresztą bez większej potrzeby, znakomitą publikację Kołosa i Wolniewicza z roku 1965 [8].

Przegląd dokonany przez Stormsa wykazuje, że trzydzieści lat badań nie przyczyniło się do rozwiązania najbardziej istotnej sprawy, czyli zwiększenia ilości ciepła wydzielanego w czasie elektrolizy ciężkiej wody. Gdyby tak się stało, dziedzina mogłaby liczyć na znaczne dofinansowanie w nadziei na produkcję energii. Na razie produktem badań są spekulacje pseudo-teoretyczne, które w dużej mierze podważają udokumentowany stan wiedzy i często kłócą się ze zdrowym rozsądkiem.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] E. Storms, Status of cold fusion (2010), *Naturwissenschaften* 2010, **97**, 861–881.
- [2] W. Dembiński, L. Fuks, P.P. Pańta, W. Smulek, A. Chmielewski, Z.P. Zagórski, *Search for the cold nuclear fusion of deuterium using heavy water electrolysis on palladium electrode*, Raport INCT-2109/IChTJ/C/A, Warsaw 1990, 21 str.
- [3] Z.P. Zagórski, *Wiad. Chem.*, 2007, **61**, (11–12) 963.
- [4] R. Park, *Voodoo Science*, Oxford University Press, 2000, 211 str.
- [5] Z.P. Zagórski, *Problemy*, 1989, **1–3**, 55.
- [6] G.J. Linhart, *Nukleonika*, 2009, **54**, 305.
- [7] P.L. Hagelstein, *Naturwissenschaften*, 2010, **97**, 345.
- [8] W. Kołos, L. Wolniewicz, *J. Chem. Phys.*, 1965, **43**, 2429.

Z poważaniem

Prof. dr hab. Z.P. Zagórski,
Centrum Badań i Technologii Radiacyjnych,
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
03-195 Warszawa

Warszawa, 3 października 2010

FELIETON NAUKOWY



**OKRUCHY XX.
WCZESNE KŁOPOTY
Z WIĄZANIEM WODOROWYM**

Ignacy Z. Siemion

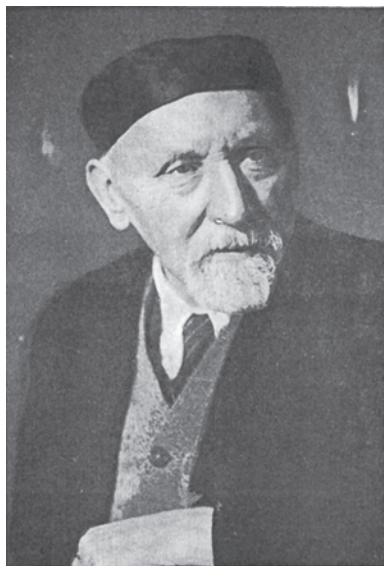
*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*



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

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

Problem wiązania wodorowego pojawił się w chemii na przełomie XIX i XX wieku. Jak podnosił M.I. Batujew, najwcześniej wypowiedział się w tej sprawie rosyjski chemik, M.A. Iljnskij (1856–1941) [1].



M.A. Iljnskij

Figure 1. M.A. Iljnskij (1856–1941)

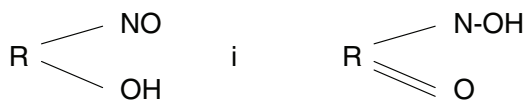
Iljnskij młodość spędził w Warszawie, gdzie jego ojciec był ordynatorem w wojskowym Szpitalu Ujazdowskim. W roku 1878 rozpoczął studia chemiczne na Politechnice Berlińskiej. Chemii nauczali tam wtedy wybitni chemicy: C. Rammeisberg, K. Liebermann, A. Vogel. Iljnskij ukończył studia w roku 1882, a w dwa lata później został prywatnym asystentem wsławionego chemiczną syntezą alizaryny K. Liebermanna. Praca w tym laboratorium na całe życie określiła badawcze zainteresowania Iljnskiego. Został on wybitnym znawcą i badaczem w obrębie chemii barwników.

W roku 1884 w laboratorium Liebermanna pracowało, prócz Iljnskiego, czterech asystentów. Byli to: Kleemann, Stanisław Kostanecki, Adolf Bistrzycki i Tessmer. Jak wspominał Iljnskij, tamtejszy docent prywatny, Otto Witt, uważał Kostaneckiego za geniusza [2]. Tak więc, zrzędzeniem losu Iljnskij z bliska patrzył na pracę dwóch wybitnych polskich chemików, którym przyszło się zrealizować za granicą. W swoich

wspomnieniach zawarł Iljnskij zwięzłe charakterystyki obydwu. „Powiedzieć cokolwiek o Bistrzyckim nie umiem: materialnie zabezpieczony, dobry i obowiązkowy pracownik, spokojnie przygotowywał się do kariery akademickiej. Chemiczną intuicją wyróżniał się spośród nas pięciu bezsprzecznie Kostanecki (Niemcy nazywali go Kostaneki). Odwiedzałem go często w Bernie. Był kawalerem, mieszkał w pokoju przy laboratorium, pracował dniem i nocą, odżywił lada jako, w ogóle nie szczędził sobie. Kochał muzykę – sam dobrze grał na fortepianie” [3].

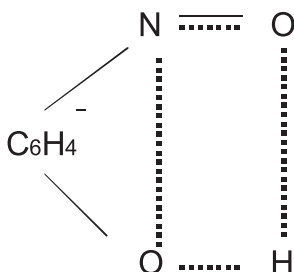
Warto tu odnotować ten przejaw przyjaźni, łączącej Iljnskiego z naszym bardzo wybitnym chemikiem, którego udziałem stało się stworzenie całego nowego rozdziału chemii organicznej, w postaci chemii flawonoidów.

W pracowni Liebermanna mógł Iljnskij, w godzinach pozasłużbowych zajmować się własną tematyką. Poszukiwania te dotyczyły chemii nitrozonafoli. Iljnskij zauważył, że związki te cechują dwojakie możliwości reakcji, odpowiadające współlistnieniu struktury fenolowej i chinoidowej, co wyrażał wzorami:



Stąd wynikało przypuszczenie Iljnskiego, że atom wodoru w takich związkach jest równocześnie związany z dwoma elektroujemnymi atomami.

„Jeszcze w 1885 roku – wspominał później Iljnski – w związku z pracami w dziedzinie nitrozonafoli, przyszedłem do przekonania, dotyczącego kwestii istoty powinowactwa chemicznego, że ortodoksyjne odrzucanie możliwości podzielności poszczególnych jednostek wartościowości, z absolutną czterowartościowością węgla i pojedynczą wartościowością wodoru, wymaga jakiegoś rozszerzenia” [4]. Tym rozszerzeniem stała się dla Iljnskiego teza o podzielności wartościowości chemicznej. Własności nitrozofenu wyrażać miał, według niego, następujący wzór:



Wykropkowane wartościowości miały mieć, według Iljnskiego, wartość połówkową, to znaczy odpowiadać $\frac{1}{2}$ normalnego wiązania. Podzielność wartościowości wynikać miała, zdaniem Iljnskiego, ze złożonej budowy atomów pierwiastków chemicznych i proponował nawet pewne schematy wyjaśniające tę tezę. Swoje poglądy prezentował w wystąpieniach na zjazdach chemików w Niemczech i w Rosji. Nie udawało się mu jednak tekstów tych wystąpień przedstawić w druku. Redakcje odrzucały je. Jednak w roku 1897 udało mu się poglądy te przedstawić, w zwięzłej formie, na łamach rosyjskiego czasopisma chemicznego [5].

Ten opór redakcji czasopism wydaje się w pełni zrozumiały. Dopiero niedawno ukuto teorię wartościowości chemicznej, a tu ktoś chce to podstawowe prawo stosunków chemicznych zakwestionować. W dodatku swoje propozycje podpira całkowicie spekulatywnymi pomysłami o złożonej budowie atomów, a nawet proponuje hipotezy, jak by to mogło wyglądać. Trudno przypuścić, by jakiś redaktor mógł przystać na druk tez Iljnskiego.

Sam Iljnski przez całe lata bronił swoich poglądów. Najlepiej zresztą opowiada o tym on sam, w referacie jaki wygłosił na Zjeździe Mendelejewowskim w 1925 roku [6]:

„Lata 1887/88. Na posiedzeniu Niemieckiego Towarzystwa Chemicznego w Berlinie, 12 grudnia 1887 roku, przedstawiłem mój pierwszy referat o rozszerzeniu pojęcia atomowości. Wywołał skrajnie gwałtowną opozycję ze strony większości

obecnych (w tej liczbie i ze strony mojego wysoce czcigodnego nauczyciela, K. Liebermanna). Wyjątek stanowił prof. A. Pinner, dość zgodny z moimi poglądami. Artykuł, posłany do redakcji *Berichte*, (noszący tytuł *Neue Auffassung der sogenannten Tautomerie auf Grund einer Erwarterung der Valenzlehre*) został odesłany z powrotem 17 stycznia 1888 r. z wiadomością, że jego treści nie odpowiadają czasopismu. Przekład rosyjski, przesłałem do czasopisma Rosyjskiego Towarzystwa Fizyczno-Chemicznego, na ręce N. Mienszutkina. Też został odesłany z powrotem z zawiadomieniem, że dla zestawu moich nowych wzorów typografia czasopisma nie ma klisz. Poradziłem się profesorów, Otto Fischera i Witta, a oni obydwaj uważali, że aktualne dane nie są wystarczające dla pomyślnej krytyki mojej teorii wartościowości związków organicznych i lepiej takich zagadnień nie poruszać i zaniechałem jakichkolwiek dalszych prób publikacji moich poglądów, pogrążając się z głową w pracach technicznych.

W 1892 r., po pojawieniu się klasycznych prac Nefa o dwuatomowości węgla izonitrylowego, a także w następstwie gromadzenia nowych faktów, wskazujących na możliwość podzielności wartościowości, postanowiłem znów spróbować szczęścia i uzupełniwszy mój pierwszy artykuł o nowe dane, wysłałem go na początku 1895 roku do redakcji Rosyjskiego Fizyczno-Chemicznego Towarzystwa. Osobistym listem z 16 kwietnia 1896 r., N.A. Mienszutkin zawiadomił mnie, że przesłał mój artykuł prof. D.P. Konowałowowi, a ten przedstawił o nim krótkie sprawozdanie na posiedzeniu Biura 13 kwietnia (druku odmówiono).

5-go Lutego udało mi się zaprezentować odpowiedni referat na posiedzeniu oddziału Chemicznego Towarzystwa Przyjaciół Przyrodoznawstwa. Tym razem z powodzeniem, bo krótki autoreferat z mojego wystąpienia ukazał się w końcu w czasopiśmie Rosyjskiego Towarzystwa Fizyko-Chemicznego (1897, s. 356), jako uzupełnienie do protokołu posiedzenia z 5-go lutego. Z obecnych na posiedzeniu wymienię z pamięci zmarłego Wł. Was. Markownikowa (który, przekazawszy przewodnictwo, demonstracyjnie wyszedł, nie słuchając referatu do końca), Al. Al. Jakowkina, Abr. Mois. Berkenheima, N. N. Kiznera i zmarłego Mich. Iw. Konwałowa.

Przy końcu 1902 r., na hamburskim zjeździe niemieckich przyrodników i lekarzy, mówiłem, z powodu wystąpienia Thiego o parcjalnych wartościowościach; miało to pewien związek z jego poglądami. Cytowałem czasopismo z 1897 r., na co nastąpiła odpowiedź Thiego, że nie znając rosyjskiego języka nie mógł, niestety, znać moich prac i dlatego nie mógł ich zacytować. Mój hamburski głos w dyskusji wydrukowano w *Pracach Towarzystwa* za rok 1902.

1906–1914. Spośród niemieckich uczonych, dobrze znających moje poglądy na podstawie niemieckiego przekładu mojego artykułu z 1895 r., wymienię Houbena (Berlin) i von Brauna (Bresławł, a teraz Frankfurt nad Menem). Z Houbenem wymieniałem w tej sprawie korespondencję w latach 1906/07 (listy z 2/X; 12/XI z 1906 i 4/VII z 1907 r.). Prof. Brauna poznałem osobiście na zjeździe niemieckich przyrodników i lekarzy w Münster w 1912 r., na którym on w wystąpieniu o jednym

z jego związków pokazał wzór z rozdzieleniem wartościowości jednowartościowego atomu (Ber. 46.3952). List Brauna z krytyką mojej teorii wartościowości nosi datę 14/VI 1914 r.

Zachowały się też u mnie dwa listy N.A. Mienszutkina (z 16/IV i 21/IX 1895 r.) z ujemnym wprawdzie stosunkiem do moich poglądów, ale przecież potwierdzających datę (1895) mojego doniesienia, a także kopia mojej odpowiedzi. z 10/IX 1895 r. Żałuję, że kopia mojego doniesienia z 1887 r. nie przetrwała, ale mam oryginał listu z Redakcji Berichte z odmową druku z 17 stycznia 1888 r., podpisany przez Tiemanną (patrz również protokół posiedzenia z 12/XII 1887 r.). Podczas wojny zagubiłem moją korespondencję z Otto Fischerem (Erlangen) dotyczącą zagadnienia budowy nitronaftoli i mojej teorii wartościowości. Stosunek profesora Fischera do moich poglądów wynika z tego, co o nim powiedziałem we wstępie do niniejszego artykułu”.



J. J. Braun

Figure 2. J.J. Braun (1875–1939)

Drobiazgowa relacja Iljńskiego wprowadziła do naszej notatki drugiego jej bohatera, Juliusza Jakuba Brauna (który zresztą swoje polskojęzyczne publikacje sygnował imieniem Julian). Braun (1875–1939), z urodzenia Warszawiak, potomek inflanckiej rodziny uszlachconej w Polsce w XVII wieku, był przez około 10 lat profesorem Uniwersytetu Wrocławskiego. W czasie wojny światowej, kiedy okupanci niemieccy przystali na otwarcie w Warszawie polskich uczelni wyższych, Uniwersytetu i Politechniki, został czasowo urlopowany i był prorektorem Politechniki w Warszawie i dyrektorem wspólnego dla obydwu uczelni Instytutu Chemii. Mogłem go traktować jako swego, w pewnym sensie, wrocławskiego poprzednika. Jego życiu i twórczości naukowej poświęciłem w swoim czasie oddzielną książkę. [7]

Braun był uważany w Warszawie za profesora niemieckiego. W dodatku był skonfliktowany z niepodległościową młodzieżą studencką. Protesty młodzieży zmusiły go do opuszczenia rodzinnego miasta. W Niemczech żyją liczni przedstawiciele jego niemieckiej rodziny, wywodzący się od czterech córek uczonego. W Warszawie – polskie potomstwo jego siostry-bliźniaczki. Braun przez szereg lat był dyrektorem uniwersyteckiego Instytutu Chemii we Frankfurcie nad Menem. Hitlerowski minister zwolnił go z pracy w wieku 64 lat. Wykorzystując liczne materiały, uzyskane od rodziny uczonego, napisałem rozszerzoną wersję jego, tragicznego przecież, życia [8].

Podczas mojego stażu badawczego w RFN odnalazłem w miasteczku pod Tybingą wnuczkę Brauna. Odwiedziłem tam ją w towarzystwie profesora W. Voeltera.

Przy herbacie opowiadałem gospodyni, a sporo już wiedziałem, o dziadku. W pewnym momencie zawołała na dorastającą córkę: chodź tutaj, chodź zaraz! Posłuchaj co tu pan mówi. Okazuje się, że nasz dziadek był wielkim uczonym! W bolesny wtedy sposób odczułem, jak szybko przemija sława uczonego, nawet w najbliższej mu rodzinie”.

Ale wróćmy przecież do korespondencji Iljnskiej – Braun. List Brauna został opublikowany w tomie materiałów wydanych w związku z 55-leciem działalności naukowej Iljnskiego. Opublikowany został w języku rosyjskim, i jest to chyba język oryginału. Braun, jako absolwent III Humanistycznego Gimnazjum w Warszawie, znał dobrze rosyjski. Wprawdzie na świadectwie dojrzałości, którego kopię posiadam, zresztą świadectwie doskonałym, ma on z języka rosyjskiego stopień „dobry”, ale z pewnością oznaczał on dobre opanowanie tego języka. A oto i tekst wspomnianego listu w tłumaczeniu na język polski:

„Bresław VIII, 14/VI 1914

Wielce Szanowny Panie Doktorze,

Bardzo proszę o wybaczenie, że dopiero dziś odpowiadam na Pański miły list z 8 tego miesiąca, za który jestem Panu wielce zobowiązany. Pańskiego manuskryptu już dawno nie miałem w rękach. Chciałem użyć dzisiejszej niedzieli, aby wpracować się w bieg Pańskich myśli. Jestem mocno przekonany, że Pańskie poglądy są w zasadzie całkowicie słuszne i idę nawet tak daleko, że każdy z cokolwiek głębiej myślących chemików przyszedłby nieświadomie do analogicznych przekonań. W takim poglądzie umocniłem się dzięki przypadkowym rozmowom z przyjaciółmi i innymi kolegami ze specjalności, a także dzięki publikacjom, jakie ukazały się w druku (por. np. Anschütz, Zeitschrift für Electrochemie, t. 10, str. 580). Ale z drugiej strony jestem takiego przekonania, że hipotezy o podzielności wartościowości rozwijane do tej pory, są zbyt mało wyraziste i zbyt mgliste, by mogły posłużyć do zbudowania systematyki, która pozwalałaby w taki sam naoczny sposób rozważać przekształcenia i klasy substancji, a także na prostszy wykład nauki o niepodzielnej wartościowości. Oczywiście, w tym momencie nie można twierdzić, że nie byłoby możliwym, by mógł pojawić się genialny systematyzator, który by potrafił rozwiązać to zadanie. Ale dopóki się to nie stało, sędzę, że można się posługiwać rozszerzonymi pojęciami tylko tam, gdzie prostsze pojęcia w żaden sposób nie pozwalają wniknąć głębiej. Ja tak postąpiłem w swojej niedawno opublikowanej pracy (Ber., 46, 3952), która, co sprawiło mi dużą przyjemność, zwróciła na siebie Pańską uwagę. Istotnie nie miałem innego wyjścia, jak przyjąć istnienie równoczesnego łączenia jednowartościowego pierwiastka w dwóch miejscach cząsteczki.

A przecież znaczenie każdej teorii polega nie tylko na jej zastosowaniu do systematyki, ale i na możliwości przewidywania nowych faktów. Możemy zatem nadal dyskutować, czy hipoteza podzielności wartościowości daje szanse oczekiwania przekształceń podobnego rodzaju, jakie bez takiego założenia niekoniecznie by wystąpiły. Nie raz myślałem o tej sprawie. Wiele razy brałem do ręki Pański manuskrypt, aby

tu czy tam sprawdzić jakiś szczegół Pańskich koncepcji w sensie jego następstw i byłbym wielce zadowolony, gdybym mógł Panu donieść, że takie czy inne nieoczekiwane przekształcenie powinno mieć miejsce jako konsekwencja Pańskich założeń. Muszę jednak przyznać, że to poszukiwanie było dotychczas daremne i myślę, że przyczyny tego leżą w niedookreślonych i nie dość wyraziście zarysowanych, a istotnych podstawach.

Kauffmann [9], który w swojej książce znacznie szerzej rozwinął analogiczne poglądy, także nie zaszedł w tym względzie dalej. To sprowadza mnie z powrotem do głównego punktu całego pytania: czy Pańskie poglądy, rozwinięte jeszcze 19 lat temu, mogą jeszcze dziś mieć znaczenie, czy też je utraciły. Myślę, że jeśli chodzi o główne, podstawowe założenia to żaden z badaczy, zajmujących się w obecnym czasie tymi kwestiami, nie zaszedł wyraźnie dalej, niż Pan, i dlatego Pański artykuł ma znaczenie nie tylko historyczne, ale ciągle przedstawia sobą taki poziom, na jaki ciągle jeszcze nie wzniesli się oni i na którym należałoby budować dalej. Jestem przekonany, że taka budowa jest możliwa i prędzej czy później nastąpi, ale też myślę, że to sprawi niezwykle trudności. Myśl, żeby Pańskie podstawowe założenie, które uważam za bardzo udane, zaprezentować w Düsseldorfie, gdyż właśnie w tym roku zapowiada się duża frekwencja na zjeździe. W przypadku, jeśli by Pan oddał artykuł do druku, nie zmieniałbym w nim niczego, gdyż dzięki temu byłby klarowniejszy. Wniósłbym jednak w przypisach pewne poprawki odnośnie danych, nie nazbyt już prawidłowych w świetle najnowszych badań. Do takich zaliczam przede wszystkim:

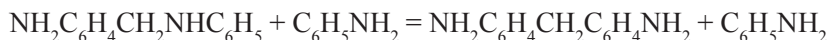
- 1) Do paragrafu 5. Twierdzenie o drganiach atomu wodoru w tautomerycznych związkach według badań Dimrotha jest całkowicie błędne.
- 2) Do paragrafu 6. Twierdzenie o nieistnieniu izomerycznych postaci chinoidowych, po tem, kiedy Willstätterowi udało się je właśnie wyizolować.
- 3) Do paragrafu 7 i nstp. Nierozkładalność pierwiastków w nasze czasy nie stanowi principium, od którego nie byłoby znanych wyjątków.

Kończąc, sam nie wiem jak Pana prosić o wybaczenie tej wielkiej gadatliwości. Spróbuję to zrobić, kiedy podczas Pańskiego wystąpienia w Düsseldorfie wyrażę Panu specjalnie głośno swoją aprobatę.

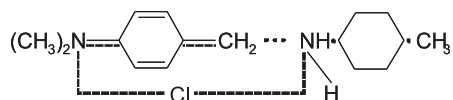
Z najgłębszym szacunkiem i najlepszymi życzeniami
Braun”

Wybuch Pierwszej Wojny Światowej uniemożliwił jednak Iljnskiemu prezentację w Düsseldorfie myśli o podzielności wartościowości. Jeśli zaś chodzi o list Brauna, to zwraca uwagę nie tylko jego szeroka orientacja w piśmiennictwie chemicznym jego czasów, a także głębokie rozumienie procesu poznania naukowego. A był to przecież w tym czasie badacz jeszcze młody.

Pozostaje nam jeszcze zajrzeć do publikacji Brauna, która była początkiem korespondencji Iljnskiej – Braun [10]. Jest ona poświęcona przekształceniom aminobenzyloanilin pod wpływem amin aromatycznych. Przekształcenie to biegnie zgodnie z równaniem:



Reakcja biegnie przy ogrzewaniu i w obecności kwasu solnego. Przedsięwzięte badania doprowadziły Brauna do wniosku, że pośrednim produktem reakcji jest połączenie, w którym atom jednowartościowego chloru jest wiązany do dwóch atomów azotu, zgodnie z wzorem:



„Wierzmy – konkludował Braun – że takie sformułowanie opiera się na prawidłowej idei i że studiowane przez nas zjawiska nadają się do tego, by mogły posłużyć jako silne poparcie rozwijanej od dawna teorii rozszczepienia wartościowości.”

Było to zdanie, które istotnie musiało Iljnskiego posadzić na ręczego rumaka.

Panu prof. K.G. Tokhadze z Uniwersytetu w St. Petersburgu i pani K. Lukjan z Biblioteki Wydziału Chemii UWr dziękuję za pomoc w uzyskaniu materiałów, niezbędnych do napisania tej notatki.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] M.I. Batujew, *Prioritet ruskich chimikow w otkrytii wodorodnoj swjazi*, [w:] *Materiały po istorii otieczestwiennoj chimii*, Moskwa 1953, s. 51–69.
- [2] M.A. Iljnskij, *Na porogie diewjatogo diesijatiletja*, [w:] *Žizń, Trudy i Izobrietienija. K 55-letiju naucznoj raboty počotnogo akademika M.A. Iljnskogo*, Moskwa – Leningrad 1938, s. 32.
- [3] Jak wyżej, s. 32.
- [4] Jak wyżej, s. 85.
- [5] M.A. Iljnskij, *Nieotoryje obobszczenija teorii atomnosti*, *Žurn. Russ. Fiz.Chim. Obszcz.*, 1897, **39**, 346.
- [6] M. A. Iljnskij, *K woprosu o drobných walentnostjach i swobodnych radikalach*, [w:] *Žizń, Trudy...*, s. 85–92.
- [7] I.Z. Siemion, *Juliusz Jakub Braun (1875–1930) i jego wkład do chemii organicznej*, Wrocław 1987.
- [8] I.Z. Siemion, *Gorycze uczonego w świecie konfliktów politycznych, Rzecz o Juliuszu Jakubie Braunie*, [w:] *Śląska Republika Uczonych*, vol. 2, Wrocław 2006, s. 312–328.
- [9] Patrz: H. Kauffmann, *Die Valenzlehre*, Stuttgart 1911.
- [10] J. Braun, O. Kruber, *Umwandlungsprozess von Amino-benzyl-anilinen in Diphenylmethan-Basen – ein Beitrag zur Zesplitterung der chemischen Valenz*, *Ber.*, 1913, **46**, 3952–3965.

NOWE WYDAWNICTWA



Peter Atkins, Tina Overton, Jonathan Rourke, Mark Weller i Fraser Armstrong, *Shriver and Atkins' Inorganic Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2010, ISBN: 978-0-19-923617-6, Wyd. V, str. 824, oprawa miękka, cena 41.99 British Pounds.

Podręcznik „Shriver and Atkins' Inorganic Chemistry” począwszy od roku 1990 był wznawiany kilkakrotnie i zdobył czołową pozycję wśród podręczników chemii nieorganicznej na uniwersytetach amerykańskich (USA). Obecne, piąte wydanie tej książki jest bardzo obszerne treściowo, posiada więcej materiału w opisach szczegółowych. Podręcznik składa się z dwudziestu siedmiu rozdziałów, jest bardzo bogato ilustrowany wielokolorowymi rysunkami struktur nieorganicznych, zawiera liczne tabele, wykresy, przykłady „example,, punkty kluczowe „key points” oraz przykłady zastosowań praktycznych tzw. „box”-y; nie zawiera informacji historycznych.

Kolejne rozdziały podzielono na trzy części: pierwsza część zawierająca rozdziały 1–8, tworzy podstawę dziedziny tzw. „Formulation”, druga część „The elements and their compounds” (rozdziały nr 9–23) w oparciu o układ okresowy opisuje pierwiastki chemiczne oraz tworzone przez nie związki, wreszcie trzecia część (rozdziały nr 24–27) przedstawia dziedziny z pogranicza chemii nieorganicznej, tzw. „Frontiers”. Na początku podręcznika zawarty jest opis optymalnego korzystania z niego i dwa spisy treści: podstawowy, tzw. „Summary of contents” oraz szczegółowy zawierający liczne podrozdziały tzw. „Contents”.

Rozdziały zakończone są zestawieniami dodatkowej literatury: „Further reading”, „Exercises”, „Problems”. Rozdziały nr 10–18, opisujące poszczególne grupy okresowe pierwiastków dzielą się na części A oraz B, podrozdziały A prezentują podstawowe informacje, zaś w B wiadomości szczegółowe. W tekście umieszczone są liczne tzw. notki dobrej roboty „A note of good practice”, które zwracają uwagę na niejasności lub dwuznaczności w ogólnie przyjętej nomenklaturze i symbolice chemicznej lub stosowanych definicjach. Ich celem jest ostrzeżenie przed możliwymi błędami.

Odpowiedzi dla zadań umieszczonych na końcach rozdziałów można uzyskać „online”, jak również tą drogą są dostępne inne formy pomocy dydaktycznej zarówno dla wykładowców, jak i studentów, niektóre z nich do zakupienia np. zbiór kompletnych rozwiązań zadań.

Ogólne rozdziały części pierwszej dotyczą: struktury atomowej, struktury molekularnej i wiązań, struktury ciał stałych, kwasów i zasad, procesów utleniania i redukcji, symetrii molekularnej, wprowadzenia do chemii koordynacyjnej oraz fizycznych technik pomiarowych stosowanych w chemii nieorganicznej.

Część druga zawiera rozdziały poświęcone: trendom periodycznym własności pierwiastków – pierwiastkom grup głównych, pierwiastkom bloku-d, pierwiastkom bloku-f; elektronowej strukturze i własnościom kompleksów metali bloku-d, reakcjom kompleksów, chemii organometalicznej metali bloku-d.

Część trzecia zawiera rozdziały poświęcone: materiałowej chemii stanu stałego, nanomateriałom, nanonauce i nanotechnologii, katalizie oraz chemii bionieorganicznej.

Końcowa część podręcznika obejmuje użyteczne zestawienia: wybranych promieni jonowych pierwiastków, elektronowych właściwości pierwiastków i potencjałów standardowych, a także tablice charakterów grup punktowych, klasy symetrii orbitali centralnego atomu molekuł AB_n oraz diagramy Tanabe-Sugano.

Podręcznik imponuje dużą ilością oraz zakresem przedstawionego materiału; bardzo przejrzystą formą graficznej prezentacji tekstu zawierającego liczne rysunki, schematy, tablice. Korzystanie z książki sprawia estetyczną przyjemność. Z pewnością doskonale spełni on oczekiwania środowiska akademickiego, a także będzie bardzo dobrym nowoczesnym dziełem referencyjnym w wielu podstawowych dziedzinach pokrewnych współczesnej wiedzy chemii nieorganicznej.

Podręcznik ten jest jak najbardziej godny polecenia biorąc również pod uwagę jego niewygórowaną cenę.

Roman Edmund Sioda

INFORMACJE

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

CENY PRENUMERATY NA ROK 2011

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2011 r. wynosi **168 zł** dla instytucji i niezrzeszonych prenumeratorów indywidualnych oraz **78 zł** dla bibliotek szkół średnich i podstawowych. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

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

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

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2011 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi **70 zł** (składka – 50 zł, prenumerata – 20 zł);
- emeryci, doktoranci oraz studenci płacą **35 zł** (składka – 15 zł, prenumerata – 20 zł); a nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą **40 zł** (składka – 20 zł, prenumerata – 20 zł).

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

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

Informacje bieżące

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

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

Akademickie Stowarzyszenie Studentów Chemii oraz Koło Naukowe Chemików "Jeż" Uniwersytetu Wrocławskiego ma zaszczyt zaprosić do wzięcia udziału w XXXIV Ogólnopolskiej Szkole Chemii – Wiosna 2011, która odbędzie się w dniach 29 IV – 3 V 2011, w ośrodku Wypoczynkowo – Szkoleniowym "Leśnik" w Jarnołtówku.

Współorganizator – Dziekan Wydziału Chemii
Uniwersytetu Wrocławskiego
Prof. dr hab. Leszek Ciunik.



XXXIV Ogólnopolska Szkoła Chemii "Asy Chemii"

Ogólnopolskie Szkoły Chemii są inicjatywą Akademickiego Stowarzyszenia Studentów Chemii ASSChem. Imprezy te odbywają się cyklicznie, dwa razy do roku – jesienią oraz wiosną. Głównym organizatorem XXXIV Ogólnopolskiej Szkoły Chemii Wiosna – 2011 jest Koło Naukowe Chemików Uniwersytetu Wrocławskiego „Jeż”. Konferencja ta ma za zadanie udostępnienie forum wymiany poglądów i doświadczeń. Stwarza ona możliwość prezentowania przez studentów wyników swoich prac badawczych.

Opłata: 350 zł/osoba

Zachęcamy do zapoznania się ze stroną konferencji:
<http://knch.stud.wchuwr.pl/XXXIV/index.php>

TERMINY

Termin konferencji: 29.04.2011 – 03.05.2011

Zgłoszenie przez ośrodki liczby uczestników konferencji – 25.03.2011
(na adres knch@stud.chem.uni.wroc.pl)

Ostateczny termin rejestracji – 01.04.2011

Ostateczny termin wysłania abstraktu – 01.04.2011



Sponsorzy:



Unlimited. **DSM**



Wydawnictwo Lekarskie PZWL



Wydawnictwo Lekarskie PZWL



Wydawnictwo Lekarskie PZWL



Wydawnictwo Lekarskie PZWL

Patronat honorowy:

PTSM Polskie Towarzystwo Spektrometrii Mas

Patronat medialny:

laboratorium

Wydawnictwo Lekarskie PZWL

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Chemosensory optyczne oraz materiały rozpoznawcze dla jonów metali w roztworach, Krzysztof Kledzik.

Obliczenia teoretyczne stałej ekranowania magnetycznego i stałych strzężeń spinowo-spinowych. Teobald Kupka.

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

REGULAMIN DLA AUTORÓW

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Autorzy zobowiązani są do wykonania jednej korekty tekstu.

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

Redakcja
„Wiadomości Chemicznych”

