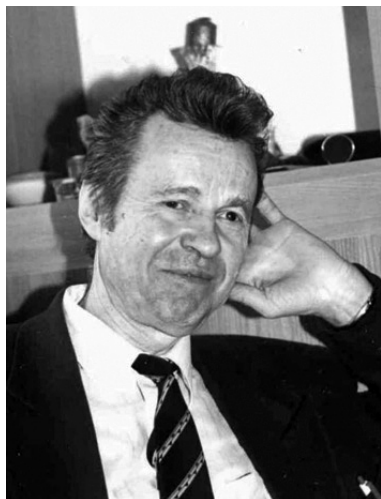


**WSPOMNIENIE O PROFESORZE
HENRYKU CHOJNACKIM**

IN MEMORY OF PROFESSOR HENRYK CHOJNACKI

**Wacław Andrzej Sokalski, Wojciech Aleksander
Bartkowiak**

*Institut Chemii Fizycznej i Teoretycznej, Wydział Chemiczny,
Politechnika Wroclawska
ul. C. K. Norwida 4/6, 50-373 Wrocław
e-mail: Andrzej.Sokalski@pwr.wroc.pl, Wojciech.Bartkowiak@pwr.wroc.pl*



19 czerwca 2012 roku zmarł prof. dr hab. Henryk Chojnacki, wrocławski pionier zastosowań komputerów w chemii obliczeniowej i wychowawca kilku pokoleń chemików kwantowych.

Prof. Henryk Chojnacki urodził się 7 marca 1934 r. w rolniczej rodzinie w Komorowie (obecnie Grabowica gmina Pacanów w woj. świętokrzyskim). W liceum im. Żeromskiego w Kielcach zainteresował się chemią, która stała się później pasją jego życia. Po ukończeniu wydziału Mat.-Fiz.-Chem. Uniwersytetu Jagiellońskiego 1 grudnia 1955 r. podjął pracę w Katedrze Chemii Fizycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej

prowadząc badania doświadczalne dotyczące przewodnictwa elektrycznego w organicznych kryształach molekularnych. Był pierwszym doktorem wypromowanym przez prof. Krzysztofa Pigonia.

Po habilitacji w wieku 35 lat, co w latach 60 było rzadkością, podjął pracę w nowej, rodzącej się dopiero w Polsce, teoretycznej dyscyplinie naukowej – chemii kwantowej, opracowując samodzielnie od podstaw niezbędne oprogramowanie i zakładając w 1971 r. pierwszą grupę chemii kwantowej na polskich uczelniach technicznych. Odbył szereg staży i wizytował najbardziej renomowane europejskie zespoły naukowe: Quantum Chemistry Department, Uppsala University, Szwecja (1971), Theoretical Chemistry Department, Oxford University, Wielka Brytania (1974), Max Planck Institut für Physik und Astrophysik, Monachium, Niemcy (1981, 1983), National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, Stany Zjednoczone (1990). Specjalizował się m.in. w zastosowaniach chemii kwantowej w spektroskopii molekularnej, badaniach struktury wiązania wodorowego, w określaniu aktywności leków przeciwnowotworowych oraz badaniach struktury i właściwości układów molekularnych zawierających antycząstki (głównie układy pozytronowe). Szczególnie bliska była mu ta ostatnia tematyka, do której często powracał przez ostatnie dwadzieścia lat aktywności. Nad tymi zagadnieniami pochylał się ściśle współpracując ze swoim wychowankiem, obecnie doktorem habilitowanym, Krzysztofem Strasburgerem. Tytuł profesora uzyskał w 1977 r. Spośród 9 wypromowanych przez prof. Chojnackiego doktorów, aż 4 jest zatrudnionych na stanowisku profesora. O pasji badawczej Profesora może świadczyć fakt, że po przejściu na emeryturę w 2004 roku opublikował jeszcze 13 prac. Swój ostatni referat naukowy zatytułowany: „Non-coventional bonds in chemistry” wygłosił na konferencji naukowej HITY2011 w Krakowie, odbywającej się w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni w dniach 18–20.05.2011. Jest to znamieny fakt ponieważ prof. Chojnacki zaczynał przygodę z chemią uniwersytecką właśnie w tym

mieście i środowisku. Był dobrym wykładowcą i autorem 4 skryptów z zakresu chemii kwantowej oraz budowy atomu i cząsteczki. O niewątpliwej pozycji naukowej w polskim środowisku fizykochemików i chemików kwantowych świadczy fakt, iż prof. Chojnacki był recenzentem ponad 50 dysertacji doktorskich oraz około 60 rozpraw habilitacyjnych i wniosków profesorskich. Recenzowane rozprawy i dorobki naukowe dotyczyły szerokiego spektrum badań wykraczających daleko poza specjalistyczne zagadnienia związane z chemią obliczeniową. Bez cienia przesady można stwierdzić, iż większość samodzielnych pracowników naukowych oraz profesorów tytularnych obecnie aktywnie pracujących w renomowanych ośrodkach badawczych zajmujących się chemią teoretyczną w kraju i za granicą, na jakimś etapie kariery intelektualnej podlegało ocenie recenzentkiej prof. Chojnackiego. Przytoczone fakty są ugruntowaniem pozycji określanej mianem nestora, którą Profesor zdobył przez dziesiątki lat pracy w środowisku akademickim. Uchodził za recenzenta wnikliwego lecz z drugiej strony bardzo życzliwego. Taka postawa cechuje ludzi bardzo skromnych i rzetelnych zarazem.

Prof. Chojnacki nie stronił od innych form aktywności. Jeszcze jako student Uniwersytetu Jagiellońskiego założył w rodzinnym Komorowie koło Ludowego Zespołu Sportowego, później jako młody pracownik naukowy wspierał działalność naukowego Koła Chemików. Pełnił funkcje Prodziekana Wydziału Chemicznego oraz Dyrektora Instytutu Chemii Fizycznej i Teoretycznej (I-30) Politechniki Wrocławskiej. Był pierwszym Kierownikiem Studium Doktoranckiego przy Instytucie Chemii Organicznej i Fizycznej I-4, przewodniczącym Sekcji Chemii Kwantowej PTCh i Okręgowego Komitetu Olimpiady Chemicznej. Przez wiele lat opiniował wnioski badawcze Komitetu Badań Naukowych (KBN) oraz COST Action (Unia Europejska). W uznaniu zasług był odznaczony Złotą Odznaką Politechniki Wrocławskiej, Złotym Krzyżem Zasługi, Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Medalem Komisji Edukacji Narodowej oraz pięcioma nagrodami Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Prywatnie prof. Chojnacki był bardzo skromnym człowiekiem, gotowym do pomocy i poświęceń ludziom pokrzywdzonym przez los. Kilkakrotnie udzielał też azylu naukowego osobom, które musiały zmienić miejsce pracy.

Trwałą zasługą prof. Chojnackiego było zainicjowanie i rozwinięcie we wrocławskim środowisku naukowym badań w dziedzinie chemii kwantowej. Najlepiej może świadczyć o tym fakt, że obecnie ponad 90% mocy Wrocławskiego Centrum Superkomputerowego i Sieciowego poświęcone jest obliczeniom kwantowo-chemicznym, a liczne wrocławskie publikacje z tej dziedziny są szeroko znane i cytowane w literaturze światowej.

Praca wpłynęła do Redakcji 24 sierpnia 2012

**AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA POCHODNYCH
2-AMINO-1H-BENZIMIDAZOLU. CZĘŚĆ I**

**BIOLOGICAL ACTIVITY OF
2-AMINO-1H-BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES. PART I**

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

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

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie – Aktywność biologiczna pochodnych 2-aminobenzimidazolu

1. Pochodne o aktywności przeciwwirusowej
2. Pochodne o aktywności przeciwbakteryjnej
3. Pochodne o aktywności przeciwgrzybiczej
4. Pochodne o aktywności przeciw pasożytniczej
5. Pochodne o aktywności przeciwhistaminowej

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

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

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

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

ABSTRACT

The main goal of this article is to present a various biological activity of 2-aminobenzimidazole derivatives. During the past 20 years the biological activity of 2-aminobenzimidazole have been studied.

2-Aminobenzimidazole occurs in a broad spectrum of drugs and pharmacological agents with anticancer [21], antibacterial [14], antiviral [10], analgesic or antiaggregatory properties.

There are 30 drugs, 2-aminobenzimidazole derivatives, registered in the world. Mebendazole represents a big group of antiparasitic drugs [25]. Antihistaminic II-nd generation drug with selective activity towards H1 receptors represents Astemizol [2]. Antiviral drugs are: Enviroksym and its isomer Zinviroksym and Enviraden [3–5]. Synthesized 2-aminobenzimidazole derivatives are active against HCV [7], HIV [8, 9] or HCHV [11].

Selected compounds exhibit antiviral [3–5], antifungal [22–24] and antiparasitic [26–28] activity. Some of them can be used in the treatment of bacterial infections [12–14]. Many of 2-aminobenzimidazole analogues are histamine H1, H2, H3 and also H4 receptor antagonists [30, 33, 35, 39].

Keywords: 2-aminobenzimidazole derivatives, biological activity

Słowa kluczowe: pochodne 2-aminobenzimidazolu, aktywność biologiczna

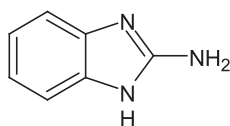
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

HRV-A	- ludziki rinowirus typu A (ang. <i>human rhinovirus A</i>)
HBV	- wirus zapalenia wątroby typu B (ang. <i>Hepatitis B Virus</i>)
HIV	- ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>human immunodeficiency virus</i>)
IC ₅₀	- stężenie powodujące 50% zahamowania wzrostu (ang. <i>half maximal inhibitory concentration</i>)
HCMV	- wirus cytomegalii (łac. <i>cytomegalovirus</i>)
MRSA	- gronkowiec złocisty oporny na metycylinę (ang. <i>methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>)
OUN	- ośrodkowy układ nerwowy
ADHD	- zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ang. <i>Attention Deficit Hyperactivity Disorder</i>)

WPROWADZENIE – AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA POCHODNYCH 2-AMINO-BENZIMIDAZOLU

Prace nad poszukiwaniem nowych leków polegają na modyfikacji chemicznej już stosowanych środków leczniczych, poszukiwaniu w nowych grupach związków, jak i na poszukiwaniu mechanizmów fizjologicznych, w które mogłyby ingerować potencjalne leki. Modyfikacja struktury chemicznej stosowanych leków ma na celu poprawę ich właściwości fizykochemicznych oraz farmakokinetycznych, często odkrywa się też ich nowe właściwości lecznicze. Celem modyfikacji struktury stosowanych leków jest również zmniejszenie działań niepożądanych lub całkowita ich eliminacja. Kolejną metodą jest poszukiwanie pochodnych aktywnych biologicznie wśród nowych zsyntetyzowanych związków chemicznych. Ich działanie farmakologiczne jest badane i weryfikowane podczas badań skринingowych. Obecnie szeroko stosowaną metodą poszukiwania leków jest wykorzystanie chemii kombinatorycznej. Najnowszą metodą jest komputerowe modelowanie cząsteczek. Modelowanie na ekranie monitora rozpoczyna się od odtworzenia struktury przestrzennej receptora. Następnie analizuje się prawdopodobieństwo połączenia się receptora z zaprojektowanym związkiem chemicznym. Nowoczesne programy komputerowe pozwalają również na zobrazowanie struktury, a także na określenie stabilności połączenia oraz oddziaływania związku na receptor.

Na świecie zarejestrowanych jest ponad 30 leków o różnorodnym działaniu, pochodnych 2-amino-1H-benzimidazolu (**1**). Użyteczność cząsteczki 2-amino-1H-benzimidazolu (**1**) wynika z obecności ugrupowania guanidynowego wkomponowanego w jej strukturę. Daje to możliwość syntezy pochodnych o różnej budowie chemicznej: podstawionych lub policyklicznych. W wyniku modyfikacji i optymalizacji struktury wiodącej uzyskano szereg nowych związków wykazujących obiecujący potencjał biologiczny.



1

Rysunek 1
Figure 1

Dotychczas przebadane pochodne wykazały m.in. biologiczną aktywność:

- przeciwwirusową
- przeciwbakteryjną
- przeciwgrzybiczą
- przeciw pasożytniczą
- przeciwhistaminową
- przeciwnowotworową

- immunotropową
- przeciwzapalną
- antyarytmiczną
- hipotensyjną
- antyoksydacyjną
- neuroprotekcijną
- przeciwcukrzycową.

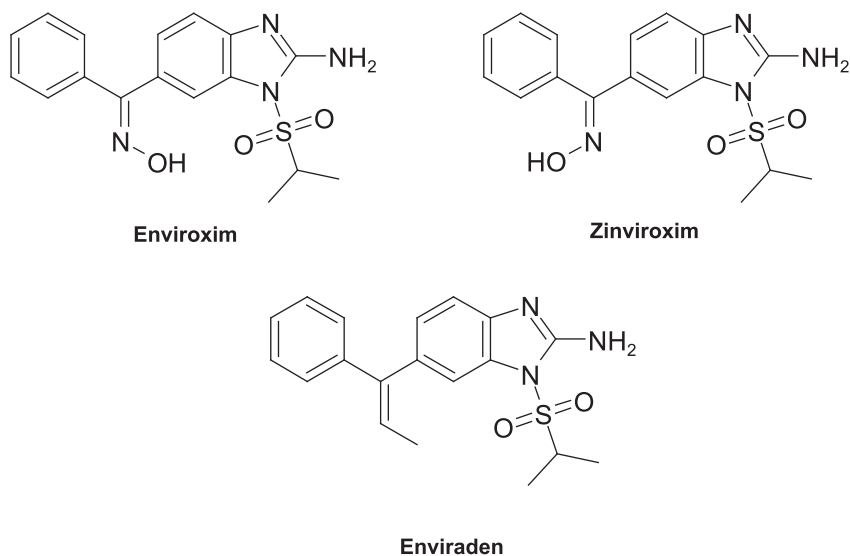
Struktury chemiczne związków, wykazujących wymienioną wyżej aktywność biologiczną, zostaną przedstawione w dwóch pracach. W pierwszej części pracy zostaną zaprezentowane nowe, wybrane pochodne 2-amino-1H-benzimidazolu (**1**) o aktywności: przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciw pasożytniczej a także przeciwhistaminowej. Natomiast w drugiej części zostaną przedstawione związki o działaniu przeciwnowotworowym, immunotropowym, przeciwzapalnym, neuroprotekcyjnym oraz przeciwcukrzycowym.

1. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWWIRUSOWEJ

Obecnie stosowane leki przeciwwirusowe mogą hamować namnażanie się wirusów, ale nie są w stanie całkowicie ich wyeliminować z zainfekowanego organizmu. Na ogół posiadają wąskie spektrum działania, ograniczone do pojedynczego gatunku lub odmiany wirusa [1, 2].

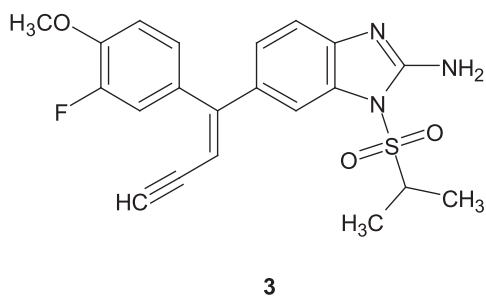
Stosowane leki przeciwwirusowe, zawierające w swojej strukturze układ 2-aminobenimidazolu to: **Enviroxim** – 2-amino-6-[(hydroksyimino)-fenylometrylo]-1-[(1-metyloetylo)sulfonylo]-1H-benzimidazol, a także jego izomer **Zinviroxim** oraz **Enviraden** – 2-amino-1-(izopropylosulfonylo)-6-(1-fenylo-1-propenylo)-1H-benzimidazol. Działanie obejmuje aktywność wobec rinowirusa-14 (HRV-A14) oraz wszystkich rinowirusów i enterowirusów [3–5]. **Enviroxim**, ze względu na swoje działania niepożądane ze strony przewodu pokarmowego został zastąpiony przez **Enviraden**.

Mechanizm działania tych leków polega na podobieństwie strukturalnym szkieletu 2-amino-1H-benzimidazolu do puryn, dzięki czemu wbudowują się one jako fałszywe nukleozydy do genomu wirusa. Powoduje to zahamowanie syntezy DNA i replikacji wirusów.



Rysunek 2
Figure 2

2-amino-1-(izopropylsulfonylo)-6-[1-(3-fluoro-4-metoksyfenilo)-1-buten-3-ynilo]-1H-benzimidazol (**3**) działa wirusostatycznie na rinowirusy i enterowirusy [3–5].

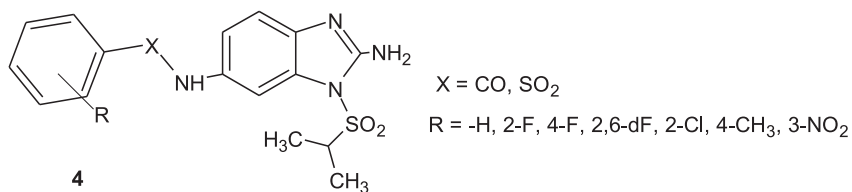


Rysunek 3
Figure 3

Obecnie w leczeniu klinicznym przeciwko wirusom zapalenie wątroby typu B (HBV) znajduje zastosowanie kilka leków. Zmienność genetyczna wirusa, pojawienie się oporności na wiele leków oraz objawy niepożądane i działania uboczne leków doprowadziły do badań nad nowymi lekami anty-HBV.

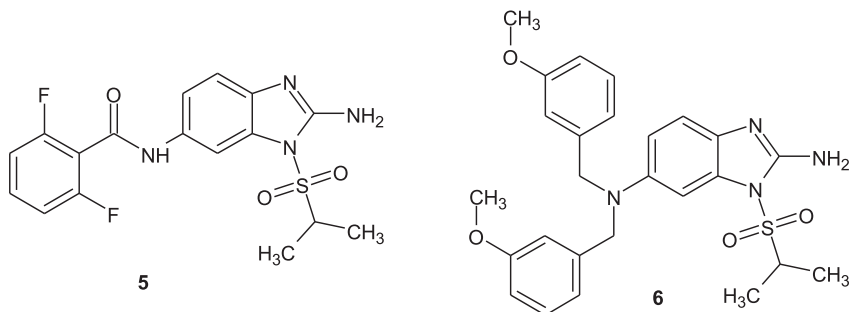
Chińscy naukowcy [6] zsyntezowali serię pochodnych 1-izopropylsulfonylo-2-aminobenzimidazolu **4**, testowanych w kierunku aktywności przeciw wirusowi HBV oraz na cytotoksyczność *in vitro* względem linii komórkowych Hep G2.2.15. Wprowadzenie podstawników do pierścienia fenylowego zwiększyło ich aktywność.

Większość przebadanych pochodnych charakteryzowała się wysoką selektywnością. Są one potencjalnymi inhibitorami wirusa zapalenia wątroby typu B. Wzorcem w testach były: lamiwudyna i adefowir.



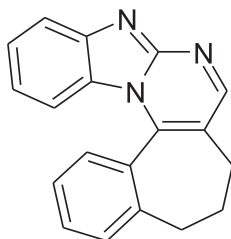
Rysunek 4
Figure 4

Najbardziej aktywne przeciwko wirusowi HBV były: 2-amino-1-(izopropylsulfonylo)-6-[(2,6-difluorobenzoylo)amino]-1H-benzimidazol (**5**) i 2-amino-1-(izopropylsulfonylo)-6-[bis(3-metoksybenzoylo)amino]-1H-benzimidazol (**6**) [6].



Rysunek 5
Figure 5

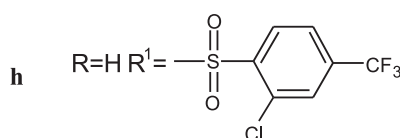
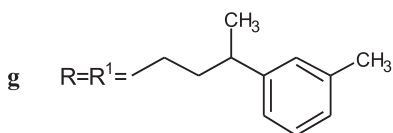
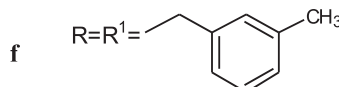
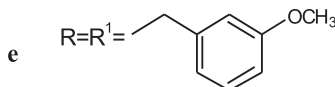
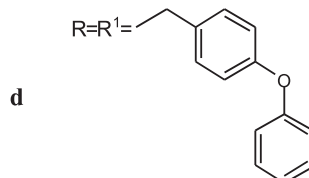
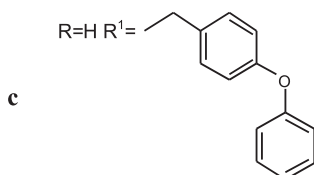
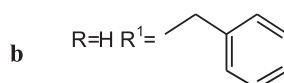
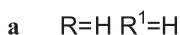
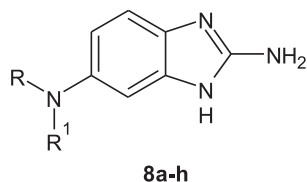
Z kolei 9,10,11-trihydrobenzo[6,7']cyklohepta[2,1'-e]triazolo[2,3-a]pirymidyna (**7**) wykazuje aktywność przeciwko proteazie wirusa zapalenia wątroby typu C [7].



7

Rysunek 6
Figure 6

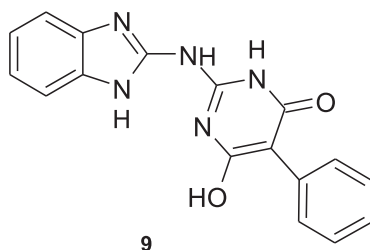
Punktem uchwytu leków dotychczas stosowanych w zakażeniach HIV są specyficzne białka powierzchniowe, a także enzymy: odwrotna transkryptaza, która umożliwia przepisanie materiału genetycznego wirusa z RNA na DNA, i proteaza. Blokowanie enzymu integrazy, który katalizuje wniknięcie materiału genetycznego wirusa do DNA zaatakowanej komórki, jest innowacyjną ścieżką w leczeniu zakażenia wirusem upośledzonej odporności.



Rysunek 7
Figure 7

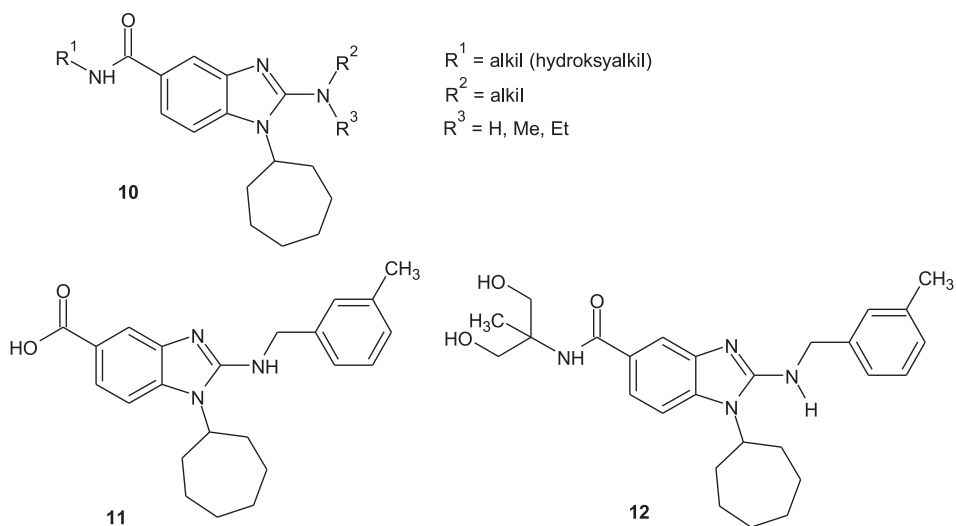
Pochodne 2-amino-1H-benzimidazolu **8** wykazują słabą aktywność przeciwwirusową ($IC_{50} > 300$). Natomiast po modyfikacji chemicznej polegającej na wprowadzeniu w pozycję 6 grupy alkilowej lub sulfonowej uzyskano związki o wysokiej aktywności blokowania integrazy HIV[8]. Z tej grupy pochodnych największą aktywność wykazywał związki **8e** i **8h**.

W testach *in vitro* 2-(1H-benzimidazol-2-ylamino)-6-hydroksy-5-fenyl-pirymidyn-4-(3H)-on (**9**) wykazał aktywność przeciwko wirusowi HIV [9].



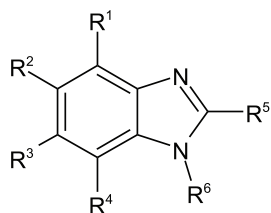
Rysunek 8
Figure 8

Aktywne przeciwko wirusowi HIV są również pochodne przedstawione wzorami **10**, **11**, **12** [10]:

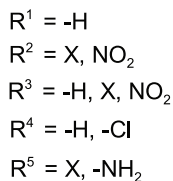


Rysunek 9
Figure 9

Pochodne benzimidazolu i 2-aminobenzimidazolu o wzorze ogólnym **13**, zsyntetyzowane przez Towsenda i współpracowników [11], wykazują aktywność przeciw wirusom cytomegalii (HCMV) i opryszczki.



13

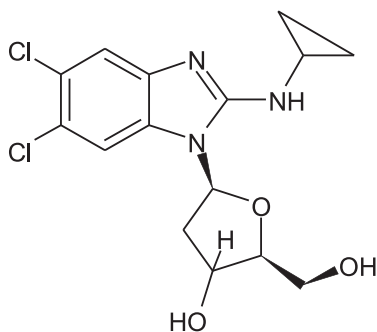


$R^6 = \beta$ -D-rybofuranolilo-2'-dezoksy- β -D-erytropentafuranolilo-2-hydroksymetyl

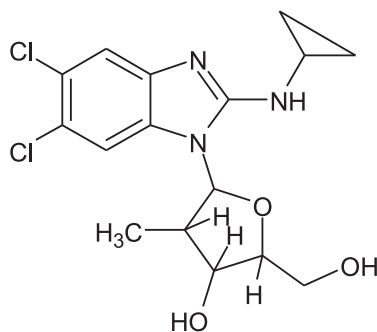
Rysunek 10

Figure 10

Najwyższą aktywność przeciwko wirusowi cytomegali spośród zsyntetyzowanych pochodnych wykazywały związki **14** i **15**:



14



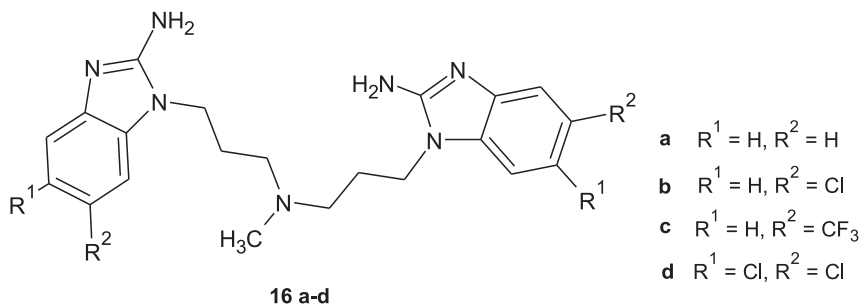
15

Rysunek 11

Figure 11

2. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ

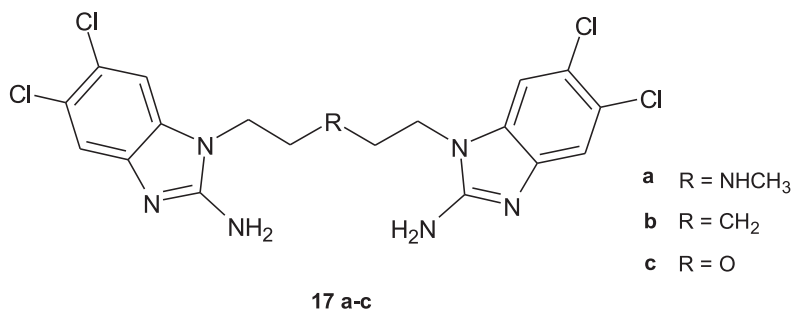
Seth i współpracownicy [12] otrzymali i przebadali szereg bis-pochodnych 2-aminobenzimidazolu **16** połączonych triwęglowym mostkiem. Najwyższą aktywność przeciwbakteryjną i bakteriobójczą, względem bakterii Gram dodatnich i Gram ujemnych, wykazywał związek **16d**, który w pozycjach 5 i 6 był podstawiony chlorem.



Rysunek 12

Figure 12

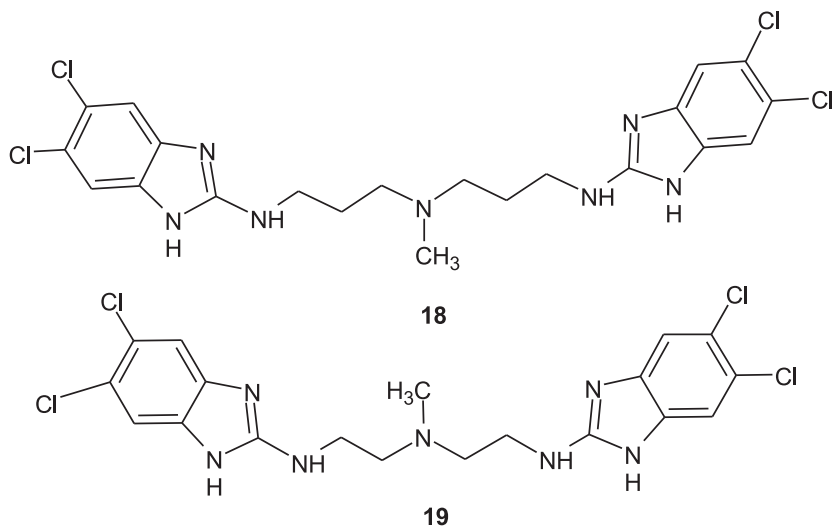
Zbadano także wpływ, na aktywność przeciwbakteryjną, długości węglowego mostka łączącego dwie cząsteczki 2-aminobenzimidazolu. Otrzymane pochodne **17b** i **17c** wykazywały znacznie słabszą aktywność przeciwbakteryjną od pochodnej **17a**. Bardzo ważna jest obecność grupy aminowej znajdującej się w triwęglowym łączniku.



Rysunek 13

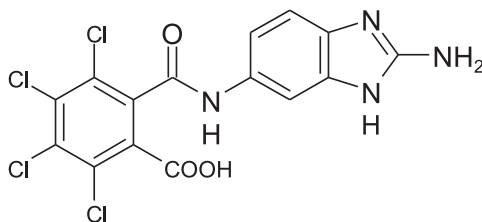
Figure 13

Dalsza modyfikacja struktury bis-pochodnych 2-aminobenzimidazolu doprowadziła do powstania związków **18** i **19**, o wysokiej aktywności:



Rysunek 14
Figure 14

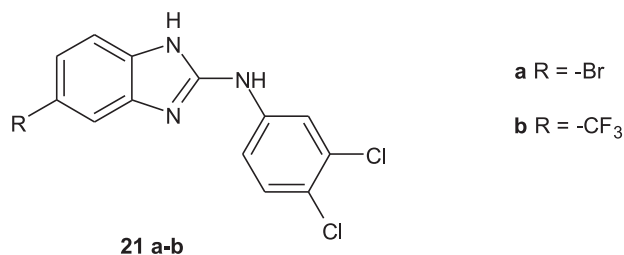
Kwas 2-[(2-amino-1H-benzimidazol-6-yl)karbamoilo]-3,4,5,6-tetrachlorobenzoesowy (**20**) wykazuje zdolność chelatowania jonów cynku, w wyniku czego hamuje rozwój bakteryjnego biofilmu [13].



20

Rysunek 15
Figure 15

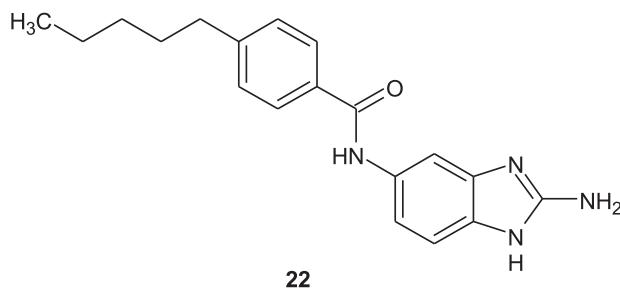
2-amino-5-bromo- (**21a**) i 2-amino-5-trifluorometylo-*N*-(3,4-dichlorofenyl)-1H-benzimidazol (**21b**) są aktywne przeciw szczepom *Staphylococcus aureus* opornym na metycylinę (*MRSA*) [14].



Rysunek 16

Figure 16

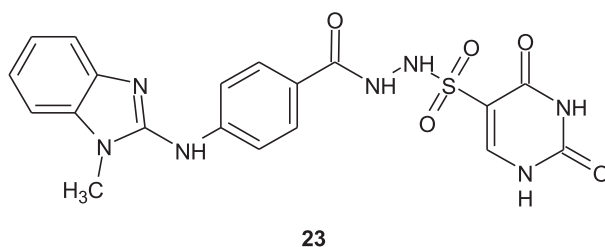
Obiecujące właściwości przeciwko szczepom bakteryjnym MRSA i *Acinetobacter baumannii* oraz synergistyczne działanie z wankomycyną [15] posiada 2-amino-5-[(*p*-pentylobenzoilo)amino]-1H-benzimidazol (**22**).



Rysunek 17

Figure 17

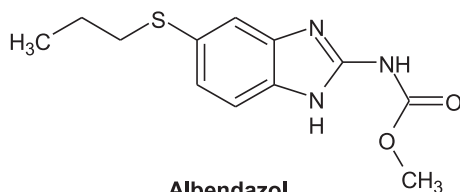
Z kolei związek **23** wykazał silną aktywność antybakteryjną, wyższą od stosowanych leków ampicyliny i wankomycyny [16].



Rysunek 18

Figure 18

Kompleksy alabendazolu (leku przeciw pasożytniczego) z cynkiem i kobaltem [17] wykazują aktywność przeciwgrzybiczą i przeciwbakteryjną w stosunku do szczepów *Micrococcus lute* i *Escherichia coli*, porównywalną z chloramfenikolem.

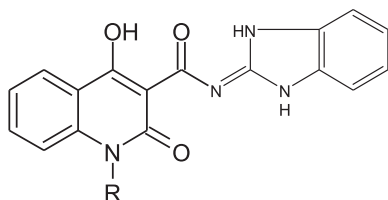
**Albendazol**

Rysunek 19

Figure 19

Największą aktywność wykazują ligandy o wzorach $[\text{Zn}(\text{abz})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})] \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ oraz $[\text{Co}(\text{abz})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})] \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Co}(\text{abz})\text{Br}_2(\text{H}_2\text{O})] \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$.

Rosyjscy badacze [18] zsyntezowali serię związków **24a-m** o właściwościach przeciwpłatkowych. Pochodne te regulowały też wydzielanie hormonów przez gruczoł tarczycy.

**24 a-m**

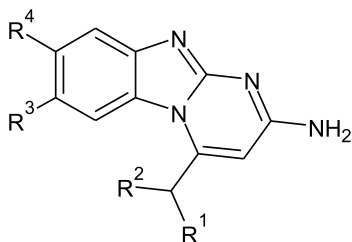
a	R=H	h	R=C ₅ H ₁₁
b	R=CH ₃	i	R=i-C ₃ H ₁₁
c	R=C ₂ H ₅	j	R=C ₆ H ₁₃
d	R=CH ₂ CH=CH ₂	k	R=C ₇ H ₁₅
e	R=C ₃ H ₇	l	C ₈ H ₁₇
f	R=C ₄ H ₉	m	R=C ₉ H ₁₉
g	R=i-C ₄ H ₉		

Rysunek 20

Figure 20

Związki **24a** i **24b** hamowały wydzielanie hormonów tarczycy, silniejszą od stosowanego wzorca – leku Thiamazolu. Przeciwny efekt dały związki **24k-m**, zwiększając poziom trójiodotyroniny i tyroksyny we krwi.

Pochodne 2-aminobenzimidazolu **25** obok działania antybiotycznego, charakteryzują się także aktywnością przeciwartymiczną [19].

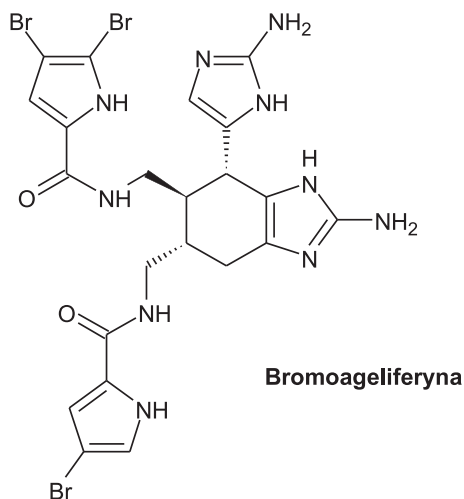
**25 a-c**

a	R ¹ = -CH ₃ , R ² = -C ₂ H ₅ , R ³ =R ⁴ = -H
b	R ¹ = -C ₂ H ₅ , R ² = -C ₂ H ₅ , R ³ =R ⁴ = -CH ₃
c	R ¹ =R ² = -CH ₂ (CH ₂) ₃ CH ₃ , R ³ =R ⁴ = -H

Rysunek 21

Figure 21

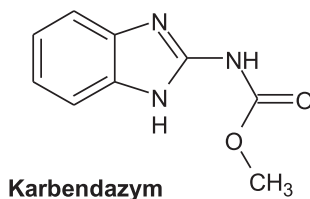
Wyizolowana z morskich gąbek *Bromoageliferyna*, zawierająca w swej strukturze 2-aminocykloheksyloimidazol wykazuje zdolność hamowania biofilmu bakterii Gram-ujemnych *Rhodospirillum salexigens*. To zainspirowało amerykańskich naukowców do syntezy serii podstawionych pochodnych 2-aminobenzimidazolu i przeprowadzenia testów biologicznych na aktywność przeciwbakteryjną [20]. Najwyższą zdolność hamowania biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* wykazywały: 2-amino- i 5,6-dimetylo-1H-benzimidazol.



Rysunek 22
Figure 22

3. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWRZYBICZEJ

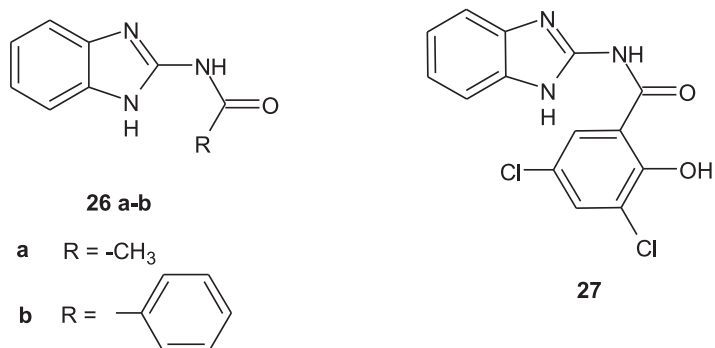
2-(metoksykarbonylo)aminobenzimidazol (Karbendazym), posiada silne właściwości przeciwrzybiczne. Karbendazym w 2003 r. został zarejestrowany w USA i w Polsce jako lek przeciwnowotworowy [21].



Rysunek 23
Figure 23

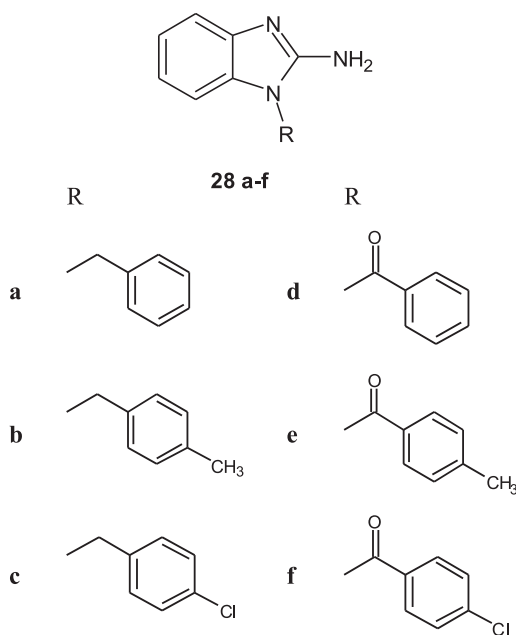
Modyfikacja jego struktury doprowadziła do powstania: 2-acetyloamino-1H-benzimidazolu (**26a**), 2-benzoiloamino-1H-benzimidazolu (**26b**) oraz 2-(3,5-

dichloro-2-hydroksybenzoiloamino)-1H-benzimidazolu (**27**). Wykazywały one wyższą aktywność grzybobójczą niż karbendazym, zastosowany jako wzorzec.



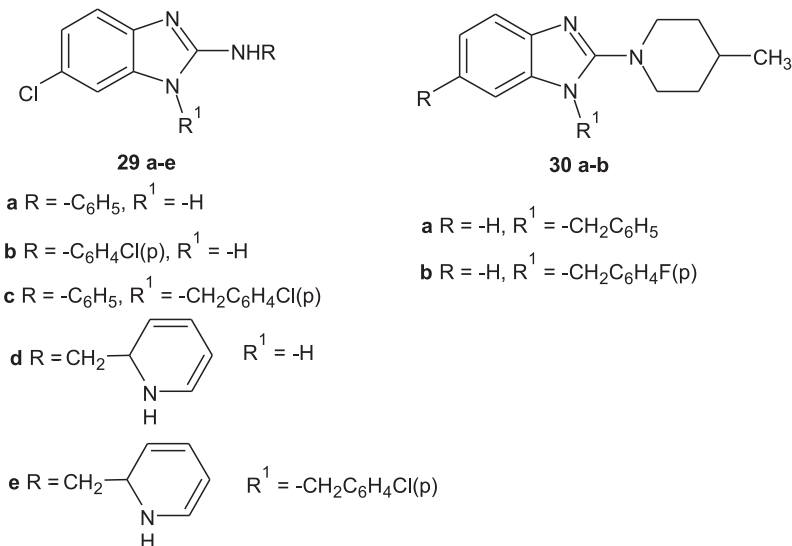
Rysunek 24
Figure 24

Serbscy badacze [22] przetestowali przeciwgrzybiczą aktywność kilkunastu pochodnych 2-aminobenzimidazolu **28** wobec szczepów *Saccharomyces cerevisiae*. Najsilniejszą aktywność przeciwgrzybiczą w tej grupie, porównywalną do działania ketokonazolu i amfoterycyny B, wykazały 1-benzyl-2-amino-1H-benzimidazol (**28a**) oraz 1-benzoilo-2-amino-1H-benzimidazol (**28d**).



Rysunek 25
Figure 25

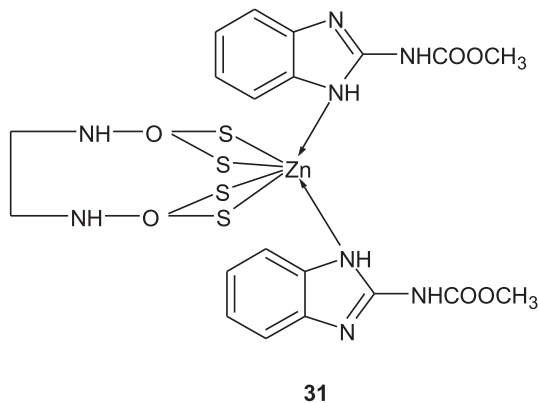
Związki **29a-e** oraz **30a-b** w badaniach wstępnych wykazały aktywność przeciwgrzybiczą [23]:



Rysunek 26

Figure 26

Działanie przeciwgrzybiczne wykazuje 2-aminobenzimidazol połączony koordynacyjnie z cynkiem **31**, miedzią lub kobaltem [24].

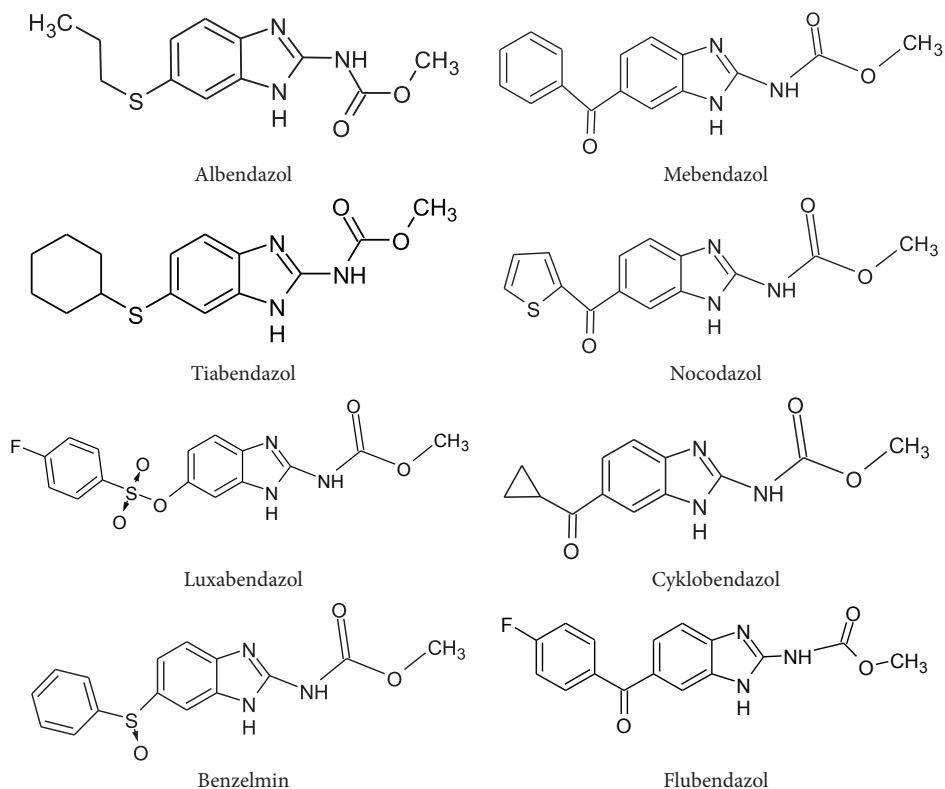


Rysunek 27

Figure 27

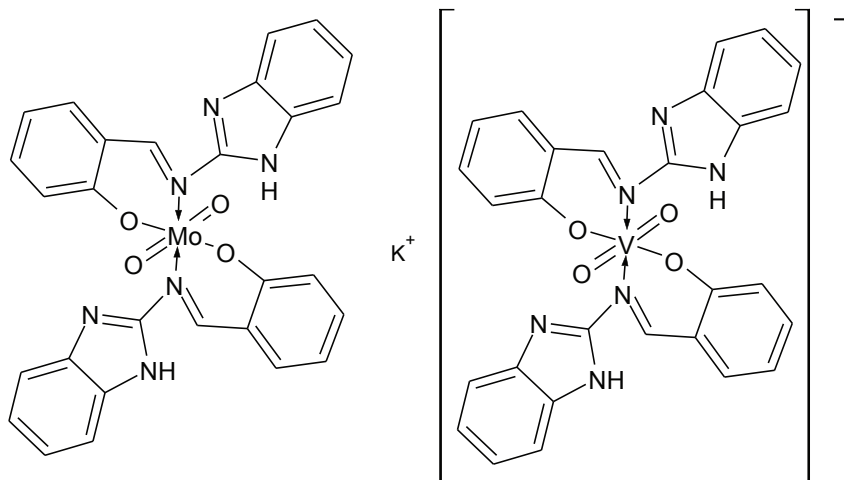
4. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWPASOŻYTNICZEJ

W lecznictwie jako środki przeciworobacze stosowane są: **Albendazol**, **Mebendazol** i **Tiabendazol** oraz ich strukturalne analogi. Charakteryzują się szerokim zakresem działania oraz dużą aktywnością wobec form larwalnych. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu polimeryzacji tubuliny oraz nieodwracalnym zahamowaniu przyswajania glukozy przez pasożyta, co skutkuje zmniejszeniem stężenia ATP i jego obumarciem [25]. Ponadto pochodne benzimidazolu hamują reduktazę fumarową i dehydrogenazę jabłczanową, co dodatkowo zaburza cykl przemian glukozy.



Rysunek 28
Figure 28

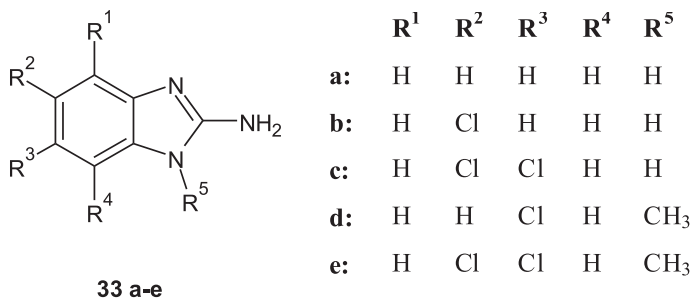
W badaniach *in vitro* [26] kompleksy molibdenu, wanadu i pochodnych 2-amino-1H-benzimidazolu **32** wykazały działanie przeciw pierwotniakowi *Entamoeba histolytica* porównywalne z działaniem metronidazolu.



32

Rysunek 29
Figure 29

Wyniki badań *in vitro* wykazały [27], że pochodne 2-amino-1H-benzimidazolu **33a-e** wykazują korzystne konformacyjne dopasowanie do czynnika chorobotwórczego, co stwarza możliwość postępu w terapii leczenia zakażeń wywołanych przez pełzaka czerwonej (*Entamoeba histolytica*).

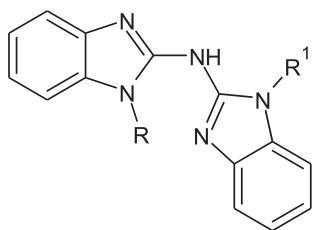


33 a-e

Rysunek 30
Figure 30

Bułgarscy badacze [28] otrzymali pochodne bis(benzimidazol-2-ilo)aminy **34**, które w warunkach *in vitro* i *in vivo* wykazywały nawet pięciokrotnie wyższą aktywność przeciwoznaczającą wobec larw włośnia krętego (*Trichinella spiralis*) od albendazolu, jako związku referencyjnego. 2-amino-1-metylo-*N*-(1-propylo-1H-benzimidazol-2-yl)-1H-benzimidazol (**34a**), 2-amino-1-etylo-*N*-(1-etylo-1H-benzimidazol-2-yl)-1H-benzimidazol (**34b**) oraz 2-amino-1-etylo-*N*-(1-propylo-1H-benzimidazol-2-yl)-1H-benzimidazol (**34c**) wykazały w badaniach *in vivo* 100%

skuteczność w dawce 50 i 100 mg/kg m.c. Efekt ten jest związany z wprowadzeniem drugiej cząsteczki benzimidazolu. Zmiana geometrii związków przyczyniła się do silniejszej interakcji z czynnikiem patogennym.

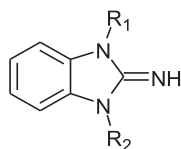


- a** R = -C₃H₇ R¹ = -CH₃
b R = -C₂H₅ R¹ = -C₂H₅
c R = -C₃H₇ R¹ = -C₂H₅

34 a-c

Rysunek 31
Figure 31

Australijscy naukowcy [29] przeprowadzili testy na aktywność przeciwoznaczającą pochodnych 2-iminobenzimidazolu **35a-d**. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu reduktazy trypanotyonu. Enzym ten jest analogiczny do reduktazy glutationowej, występującej u ssaków i odpowiada za obronę antyoksydacyjną pasożytów. Związki te stanowią potencjalnie nową klasę leków przeciw pierwotniakom z rodziny *Trypanosomatidae*. Wykazują one obiecujące właściwości, przy niskiej toksyczności wobec komórek gospodarza i braku powinowactwa do ludzkiej reduktazy glutationu. Najwyższą skutecznością w zwalczaniu pierwotniaka z rodziny *Trypanosomatidae* wykazały pochodne **35a-d** podstawione następującymi grupami:



35 a-d

- a** R¹ = 3,4-diClPhCH(OH)CH₂ R² = CH₂CH₂NMe₂
b R¹ = 4-(MeO)PhCH(OH)CH₂ R² = CH₂CH₂N-piperydyna
c R¹ = 4-MePhC(O)CH₂ R² = CH₂CH₂NEt₂
d R¹ = 3,4-DiClPhCH(OH)CH₂ R² = CH₂CH₂N-piperydyna

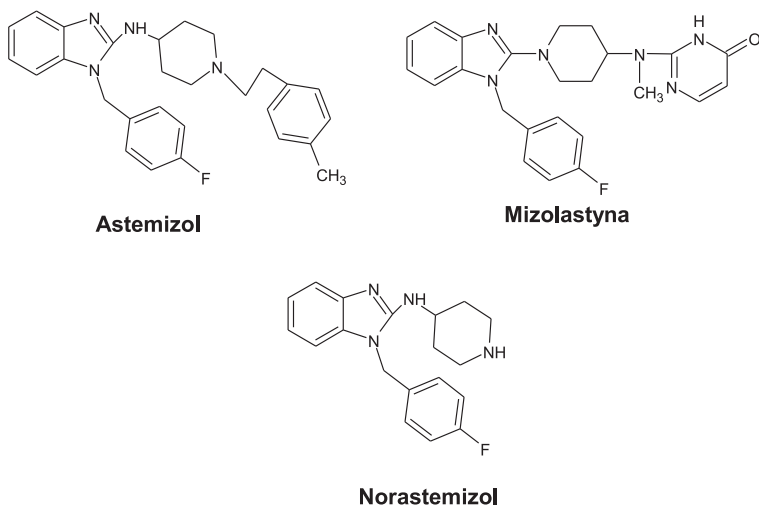
Rysunek 32
Figure 32

5. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWHISTAMINOWEJ

5.1. INHIBITORY RECEPTORÓW H₁

Są to leki II generacji stosowane w długotrwałym leczeniu objawów alergii, w leczeniu alergicznego nieżyty nosa i pokrzywki [25]. W przeciwieństwie do leków przeciwhistaminowych I generacji pozbawione są działań niepożądanych ze strony OUN. Antagonistami receptorów histaminowych H₁ są: **Astemizol**

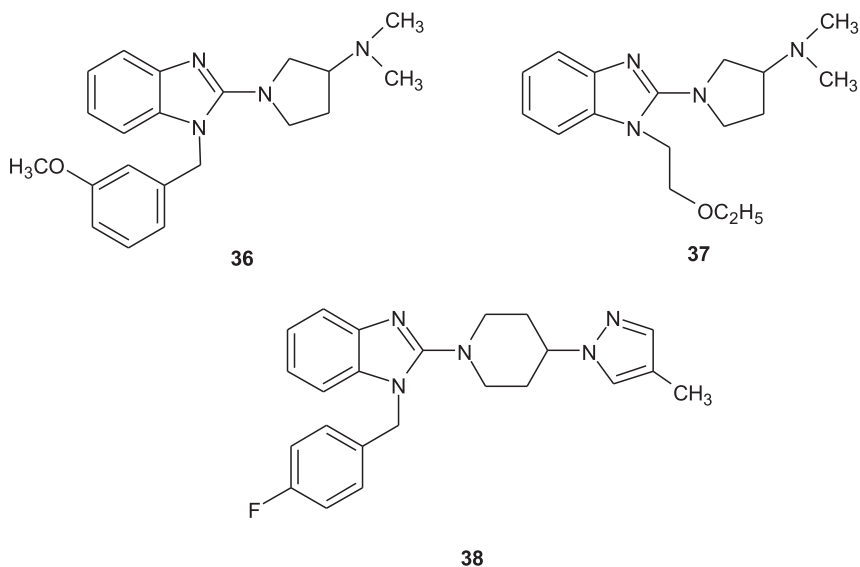
(1-(*p*-fluorobenzyl)-2-((1-(2-(*p*-metoksyfenyl)etylo)piperyd-4-yl)amino)-benzimidazol) oraz **Mizolastyna** (1-(*p*-fluorobenzyl)-2-((4-(*N*-(3,4-dihydro-4-okso-pirymidyn-2-yl)metyloamino)piperyd-1-yl)amino)benzimidazol). Astemizol (w Polsce Hismanal) nie przenikał do OUN, dobrze wchłaniał się z przewodu pokarmowego, mógł być stosowany przez kierowców. Jednakże z powodu działania kardiotoksycznego został w Polsce wycofany z lecznictwa, a jego aktywny metabolit **Norastemizol** jest obecnie w fazie badań klinicznych [2].



Rysunek 33

Figure 33

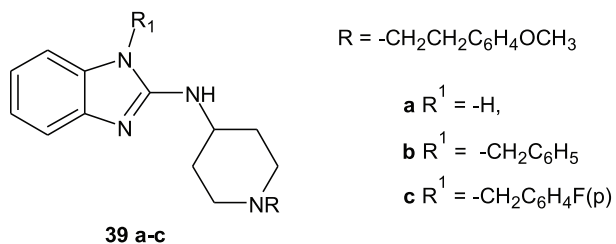
Antagoniści receptorów H_1 położonych w OUN są potencjalnymi lekami przeciw bezsenności. Pochodne 2-aminobenzimidazolu **36-38** w testach *in vitro* wykazały właściwości antagonistyczne wobec ośrodkowych receptorów histaminowych [30, 31].



Rysunek 34

Figure 34

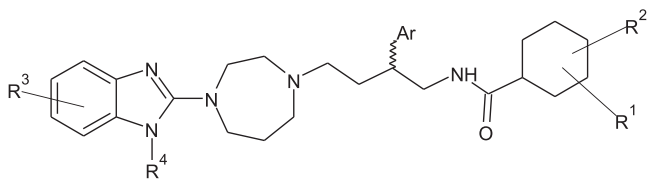
Aktywność przeciwhistaminową posiadają związki **39a-c** [31]:



Rysunek 35

Figure 35

Związki przedstawione wzorem ogólnym **40** wykazywały antagonizm do receptorów histaminowych oraz receptora tachykininowego [32]. Może to być korzystne w leczeniu alergii, astmy oraz chorób jelit włącznie z chorobą Leśniewskiego–Crohna.



40

R¹ = -H, -halogen, -OCF₃, alkil, alkiloksy

R² = -H, tetrazoili, triazoliil

R³ = -H, -halogen, alkil, alkiloksy

R⁴ = -H, alkil, alilil, 2-butenyl

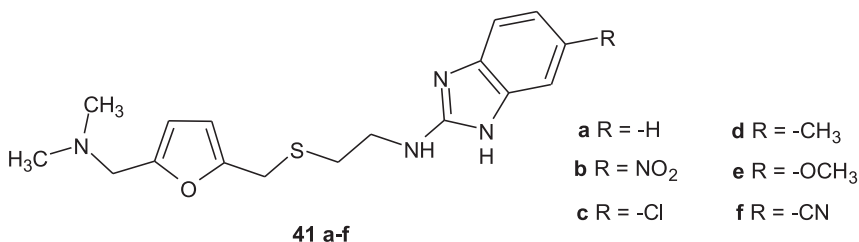
Ar = (nie)podstawiony Ph, (nie)podstawiony 2-naftyl, (nie)podstawiony pirydyl, (nie)podstawiony tienyl

Rysunek 36

Figure 36

5.2. INHIBITORY RECEPTORA H₂

W 1988 r. Orsetti i Oggero zbadali zdolność blokowania receptora H₂ przez benzimidazolowe analogi ranitydyny. Najwyższą aktywność wykazywała pochodna **41a** w stosunku do ranitydyny, stosowanej jako związek referencyjny [33].



41 a-f

a R = -H

d R = -CH₃

b R = NO₂

e R = -OCH₃

c R = -Cl

f R = -CN

Rysunek 37

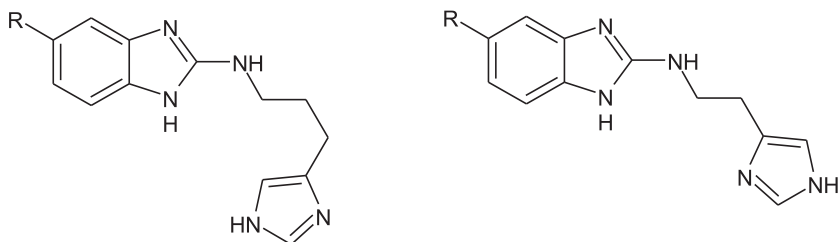
Figure 37

5.3. INHIBITORY RECEPTORA H₃

Pobudzenie presynaptycznych receptorów H₃ hamuje syntezę i wydzielanie histaminy przez neurony histaminergiczne [1]. Zablokowanie tych receptorów położonych na niehistaminergicznych neuronach hamuje uwalnianie neurotransmiterów: acetylocholiny, noradrenaliny, dopaminy i serotoniny.

Wysoka gęstość receptorów H₃ w ośrodkowym układzie nerwowym sugeruje potencjalne, terapeutyczne działanie antagonistów tych receptorów w niektórych chorobach np: epilepsji, schizofrenii, nadpobudliwości psychoruchowej (ADHD), chorobie Alzheimera [34].

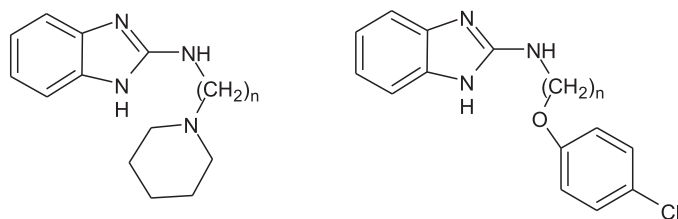
Włoscy uczeni [35–37] zsyntezowali serię pochodnych 2-aminobenzimidazolu **42a-j** i **43** o potencjalnej aktywności antagonistycznej w stosunku do presynaptycznych receptorów H₃.

**42 a-j****43**

- a** R = H **d** R = OCH₃ **g** R = CONHCH₃
b R = Cl **e** R = nC₄H₉ **h** R = NH₂
c R = NO₂ **f** R = COOC₂H₅ **i** R = CH₃
j R = CF₃

Rysunek 38
Figure 38

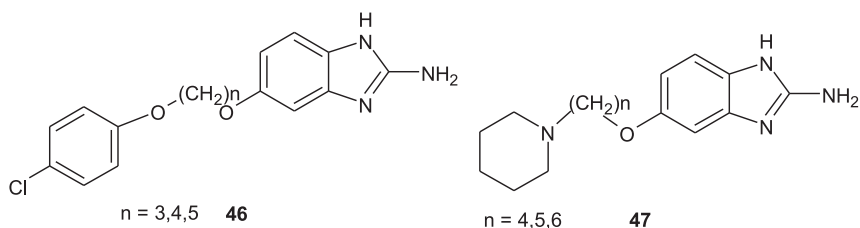
Najwyższą aktywność wykazały pochodne: 2-{6-(piperydyn-1-ylo)heksyloamino}-1H-benzimidazol (**44**) i 2-[5-(*p*-chlorofenoksy)butyloamino]-1H-benzimidazol (**45**) [36].

**44****45**

n = 3,4,5,6,7,8

Rysunek 39
Figure 39

W odróżnieniu od pozostałych inhibitorów aktywne pochodne **46** i **47** są podstawione w pozycji 6 oraz posiadają wolną grupę aminową w pozycji 2 [36].



n = 3,4,5 **46**

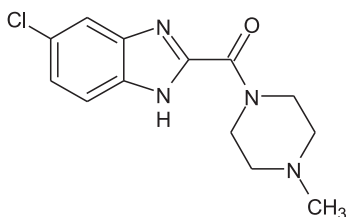
n = 4,5,6 **47**

Rysunek 40
Figure 40

5.4. INHIBITORY RECEPTORA H_4

W ostatnich latach odkryto nowy podtyp receptorów histaminowych – H_4 , które zlokalizowane są w komórkach układu immunologicznego. Odpowiadają one za indukowanie chemotaksji eozynofili i mastocytów.

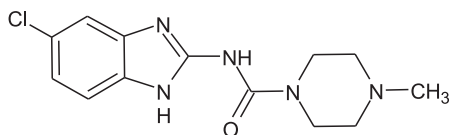
Pierwszym inhibitorem receptorów H_4 był związek **48** otrzymany przez Jabłonowskiego [38].

**48**

Rysunek 41

Figure 41

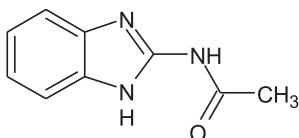
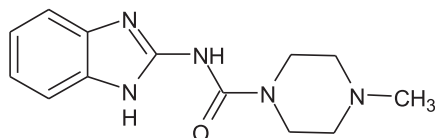
Terzioglu i współpracownicy [39] zsyntezowali piperazynowe pochodne 2-aminobenzimidazolu. Ustalili zależność między budową a zdolnością blokowania receptorów H_4 . Aktywność antagonistyczną wobec tego receptora wykazała pochodna **49**.

**49**

Rysunek 42

Figure 42

2-acetyloaminobenzimidazol (**50**) i 2-[p-(metylo)-piperazynylokarbamoilo]benzimidazol (**51**) charakteryzowały się najsilniejszą zdolnością do inhibicji receptorów histaminowych typu 4-ego.

**50****51**

Rysunek 43

Figure 43

PODSUMOWANIE

Układ 2-aminobenzimidazolu (1) występuje już w ponad 30 zarejestrowanych środkach leczniczych o różnorodnej aktywności biologicznej: w lekach przeciwwirusowych, przeciwbaczych, przeciwhistaminowych, są one także metabolitami inhibitorów pompy protonowej.

Obecnie prowadzone są syntezy i badania biologiczne nowych pochodnych 2-aminobenzimidazolu oraz modyfikacje budowy istniejących już leków i związków aktywnych biologicznie.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, P. Ruth, M. Schafer-Korting, *Farmakologia i toksykologia*, MedPharm Polska, Wrocław 2010.
- [2] A. Zejc, M. Gorczyca, *Chemia leków*, Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 2004.
- [3] M.J. Tebbe, W.A. Spitzer, F. Victor, S.C. Miller, C.C. Lee, T.R. Sattelberg Sr., E. McKinney, J.C. Tang, *J. Med. Chem.*, 1997, **40**, 3937.
- [4] M.J. Tebbe, W.A. Spitzer, F. Victor, S.C. Miller, C.C. Lee, T.R. Sattelberg, EP. 747,363; US Appl 483,651; C.A., 1997, **126**, 117971d.
- [5] M.J. Tebbe, W.A. Spitzer, F. Victor, S.C. Miller, C.C. Lee, T.R. Sattelberg; U.S. 5, 545,653 1995; C.A. 1996, **125**, 167986n.
- [6] L. Yun-Fei, G.F. Wang, Y. Luo, W.G. Huang, W. Tang, C.L. Feng, L.P. Shi, Y.D. Ren, J.P. Zuo, W. Lu, *Eur. J. Med. Chem.*, 2007, 1358.
- [7] T.A. Farghaly, N.A.A. Hafez, E.A. Ragab, H.M. Awad, M.M. Abdalla, *Eur. J. Med. Chem.*, 2010, **45**, 492.
- [8] T. Middleton, H.B. Lim, D. Montgomery, T. Rockway, H. Tang, X. Cheng, L. Lu, H. Mo, *Antivir. Res.*, 2004, **64**, 35.
- [9] A. El-Sayed, M. Badewey, T. Kappe; *Archiv der Pharmazie*, 1997, **330**, 59.
- [10] R. Schoche-Loop, A. Peassens, M. Bauser, J. Koebberling, F. Ditmer, K. Henninger, D. Lang, D. Paulsen; WO 200501 CA 2005, **142**, 280208z.
- [11] J.H. Chan, S.D. Chamberlain, K.K. Biron, M.G. Davies, R.J. Harvey, D.W. Sellest, R.E. Dorn-sife, E.H. Frick, L.B. Townsend, J.C. Drach, G.W. Koszalka, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 2000, **19**, 101.
- [12] P.P. Seth, E.A. Jefferson, L.M. Risen, S.A. Osgood, *Bioorg. & Med. Chem.*, 2003, **13**, 1669.
- [13] S.A. Rogers, R.W. Huigens III, C. Melander, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 9868.
- [14] S. Özden, D. Atabey, S. Yildiz, H. Göker, *Eur. J. Med. Chem.*, 2008, **43**, 1390.
- [15] R.W. Huigens III, S. Reyes, C.S. Reed, C. Bunders, S.A. Rogers, A.T. Steinhauer, C. Melander, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 663.
- [16] Z.M. Nafal, H.H. Fahmy, H.S. Mohamed, *Arch. Pharm. Res.*, 2002, **25**, 250.
- [17] H. Lopez-Sandoval, M.E. Londono-Lemos, R. Garza-Velasco, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2008, **103**, 1267.
- [18] I.V. Ukrainets, L.A. Grinevich, A.A. Tkach, O.V. Gorokhova, V.N. Kravchenko, G. Sim, *Chem. of Heterocyc. Comp.*, 2011, **46**, 1364.
- [19] P.F. Asobo, H. Wahe, J.T. Mbafor, A.E. Nkengfack, Z.T. Fomum, E.F. Sopbue, D. Dopp, *J. Chem. Soc.*, 2001, **1**, 457.

- [20] S.A. Rogers, R.W. Huigens III, Ch. Melander, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 9868.; R. Frei, A.S. Breitbach, H.E. Blackwell, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 5226.
- [21] V.S. Pilyugin, Yu. E. Sapozhnikov, N.A. Sapozhnikova, *Russian Journal of General Chemistry*, 2004, **74**, 738.; L. Jia, H. Wong, M. Garza, S.D. Weitman, *J. Pharm. Sci.*, 2003, **91**, 161.
- [22] S.O. Podunavac-Kuzmanović, D.D. Cvetkovic, *CI&CWQ*, 2011, **17**, 9.
- [23] C. Kus, H. Goker, R. Ertan, N. Altanlar, A. Arkin, *Farmaco*, 1996, **51**, 415.
- [24] S.S. Kukulneko, V.A. Udovenko, V.P. Borusowa, N.L. Kulagina, N.M. Burmakin, E.I. Andreeva, B.E. Zaitsev, M.A. Sanin, V.I. Abelentsev, U.S.S.R. SU 1,636,414, *Oktrytiya Izobert*, 1991, **75**, 11.
- [25] W. Kostowski, Z.S. Herman, *Farmakologia*, Wydawnictwo lekarskie PZWL, Tom 1,2, 2006.
- [26] N. Bharti, N. Shailendra, M.T. Gonzalez-Garza, D.E. Cruz-Vega, J. Costro-Garza, K. Saleem, F. Naqvi, M.R. Maurya, A. Azam, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002, **12**, 869.
- [27] F. Lopez-Vallejo, J.L. Medina-Franco, A. Hernandez-Campos, S. Rodriguez-Morales, L. Yopez, R. Cedillo, R. Castilloa, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 1117.
- [28] Mavrova, Ts. Anelia, Denkova, Pavletta, Tsenov, A. Yordan, Anichina, K. Kameliya, Vutchev, I. Dimitar, *Bioorg. Med. Chem.*, 2007, **15**, 6291.
- [29] G.A. Holloway, J.B. Baell, A.H. Fairlamb, P.M. Novello, J.P. Parisot, J. Richardson, K.G. Watson, I.P. Street, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 1422.
- [30] K. Lavrador-Erb, S.B. Ravual, J. Yu, S. Zamani-Kord, W.J. Moree, R.E. Petrowski, J. Wen, S. Malany, S.R.J. Hoare, A. Madan, P.D. Crowe, G. Beaton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 2916.
- [31] T. Coon, W.J. Moree, B. Le, J. Yu, S. Zamani-Kord, S. Malany, M.A. Santos, L.M. Hernandez, R.E. Petrowski, A. Sun, J. Wen, S. Sullivan, J. Haelewyn, M. Haedrick, S.J. Hoare, M.J. Bradbury, P.D. Crowe, G. Beaton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 4380.
- [32] W. Nawrocka, *Boll. Chim. Farmaceutico*, 1996, **135**, 18.
- [33] M. Orsetti, L. Oggero, *Inflammation Research*, 1988, **24**, 109.
- [34] M. Stanosz, J. von Mach-Szczypiński, S. Stanosz, *Gin Prakt*, 2005, **86**, 37.
- [35] M. Mor, F. Bordi, C. Silva, S. Rivara, V. Zuliani, F. Vacondio, M. Rivara, E. Barocelli, S. Bertoni, V. Ballabeni, F. Magnanini, M. Impicciatorre, P.V. Plazzi, *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, **12**, 663.
- [36] M. Rivara, V. Zuliani, G. Cocconcelli, G. Morini, M. Comini, S. Rivara, M. Mor, F. Bordi, E. Barocelli, V. Ballabeni, S. Bartoni, P. V. Plazzi, *Bioorg. Med. Chem.*, 2006, **14**, 1413.
- [37] V. Zuliani, F. Bordi, M. Rivara, C. Silva, F. Vacondio, G. Morini, S. Rivara, E. Barocelli, V. Ballabeni, S. Bertoni, F. Magnanini, P.V. Plazzi, *Il Farmaco*, 2003, **58**, 891.
- [38] J.A. Jablonowski, C.A. Grice, W. Chai, C.A. Dvorak, J.D. Venable, A.K. Kwok, K.Y. Ly, J. Wei, S.M. Baker, P.J. Desai, W. Jiang, S.J. Wilson, R.L. Thurmond, L. Karlson, J.P. Edwards, T.W. Lovenberg, N.I. Caruthers, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 3957.
- [39] N. Terzioglu, R.M. v.Rijn, R.A. Bakker, J.P. De Esch, R. Leurs, *Biorg. Med.Chem.Lett.*, 2004, **14**, 5251.

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA POCHODNYCH 2-AMINO-1H-BENZIMIDAZOLU. CZĘŚĆ II

BIOLOGICAL ACTIVITY OF 2-AMINO-1H- BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES. PART II

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

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

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie – Aktywność biologiczna pochodnych 2-amino-1H-benzimidazolu

1. Pochodne o aktywności przeciwnowotworowej
2. Pochodne o aktywności immunotropowej
3. Pochodne o aktywności przeciwzapalnej
4. Pochodne oddziałujące na układ sercowo - naczyniowy
5. Pochodne o działaniu neuroprotekcijnym
6. Pochodne o aktywności przeciw chorobom metabolicznym

Podsumowanie

Piśmiennictwo

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

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

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

ABSTRACT

2-Aminobenzimidazole occur in a broad spectrum of drugs and pharmacological agents with hypotensive [26], antihistaminic, immunotropic [16], antiarrhythmic [25], analgesic [21, 22] or antiaggregatory properties [27].

There are 30 drugs, 2-aminobenzimidazole derivatives, registered in the world which exhibit diverse pharmacological activities. Carbendazim is an antifungal drug, but in 2003 it has been registered as anticancer [1]. They are also voltage sensitive calcium channel blockers [33], inhibitors of vascular endothelial growth factor [12].

The main goal of this article is to present a various biological activity of 2-aminobenzimidazole derivatives. During the past 20 years the biological activity of 2-aminobenzimidazole have been studied.

Based on a review of the chemical literature, derivatives of 2-aminobenzimidazole showed a multipharmacological effects such as hypotensive effect [28], anti-inflammatory effect [20] or antibacterial activity. Some chemical compounds, which contain in their structure 2-aminobenzimidazole system inhibit neurodegeneration and in the future they may be used in a treatment of Alzheimer's disease or Parkinson's disease [32]. Some of described derivatives of 2-aminobenimidazole can be used in a treatment of metabolic syndrome and diabetes [38].

Synthesis of new 2-aminobenzimidazole derivatives with anticancer activity is now one of the most important direction of research conducted on this group of compounds.

Present compounds exhibit anticancer, antiproliferate, neuroprotetic and antiinflammatory activity. Some of them can be used in a treatment of diabetes and hypertension.

Keywords: 2-aminobenzimidazole derivatives, biological activity

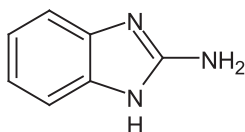
Słowa kluczowe: pochodne 2-aminobenzimidazolu, aktywność biologiczna

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

KSP	– kinezyiny wrzeciona podziałowego (ang. <i>kinesin spindle protein</i>)
HDAC	– deacytelaza histonowa (ang. <i>histone deacetylase</i>)
CDK	– kinaza zależne od cyklin (ang. <i>cyclin-dependent kinases</i>)
VEGF - R2	– czynnik wzrostu śródbłonnka naczyniowego (ang. <i>vascular endothelial growth factor</i>)
PHA	– fitohemaglutynina (ang. <i>phytohemagglutinin</i>)
TNF	– czynnik martwicy guza (ang. <i>Tumor Necrosis Factor</i>)
ITK	– kinazy indukowane interleukiną 2 (ang. <i>intracellular tyrosine kinase</i>)
NK	– komórki „naturalni zabójcy” (ang. <i>Natural Killer</i>)
ATP	– adenozyntotryfosforan (ang. <i>adenosine-triphosphate</i>)
IRAK-4	– kinaza 4 związana z receptorem interleukiny 1 (ang. <i>interleukin-1 receptor-associated kinase 4</i>)
p38 MAP	– kinaza aktywowana mitogenem (ang. <i>P38 mitogen-activated protein kinases</i>)
LOX	– lipooksygenaza (ang. <i>lipoxygenase</i>)
LPO	– lipoperoksydaza (ang. <i>lipoperoxidase</i>)
NOS	– syntetaza tlenku azotu (ang. <i>nitrogen oxide synthetase</i>)
BACE	– beta-sekretaza 1 (ang. <i>Beta-secretase 1</i>)
VSCC	– napięciowo zależne kanały wapniowe (ang. <i>voltage sensitive calcium channel</i>)
GCGR	– receptor glukagonowy (ang. <i>glucagon receptor</i>)
hGIP	– podtyp receptora glukagonozależnego
hGLP-1	– podtyp receptora glukagonozależnego
ARL2	– reduktaza aldozy (ang. <i>Aldose reductase</i>)
MCH	– melanina (ang. <i>Melanin-concentrating hormone</i>)

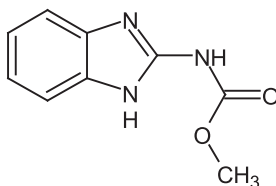
WPROWADZENIE – AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA POCHODNYCH 2-AMINO-1H-BENZIMIDAZOLU

W poprzednim artykule zostały zaprezentowane wybrane leki oraz nowe pochodne 2-aminobenzimidazolu (**1**) o aktywności: przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej, przeciw pasożytniczej, a także przeciwhistaminowej. W tej części zostaną przedstawione wybrane związki o działaniu przeciwnowotworowym *in vitro*, immunotropowym, przeciwzapalnym, neuroprotekcyjnym oraz stosowane w chorobach metabolicznych.

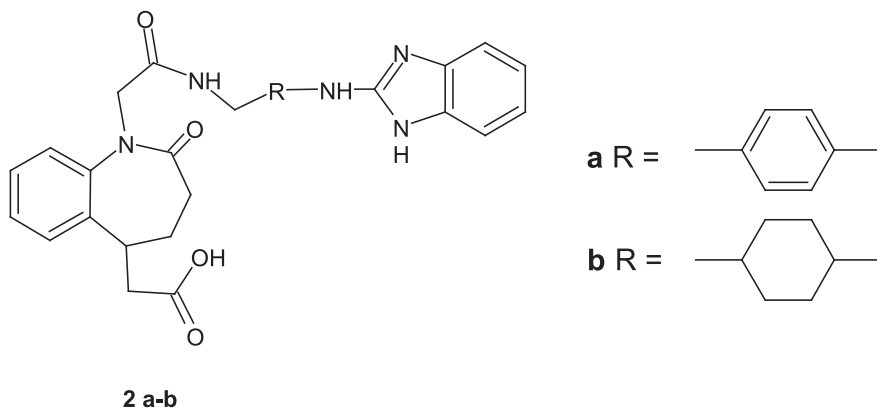
**1**Rysunek 1
Figure 1

1. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Lek przeciwgrzybiczy **Karbendazym** – 2-[(metoksykarbonylo)amino]-1H-benzimidazol w 2003 roku został wprowadzony do leczenia jako lek przeciwnowotworowy. Związek ten poprzez hamowanie układu mikrotubuli wykazuje działanie antyproliferacyjne. Największe stężenie lek osiąga w żołądku oraz jelitach po podaniu doustnym [1].

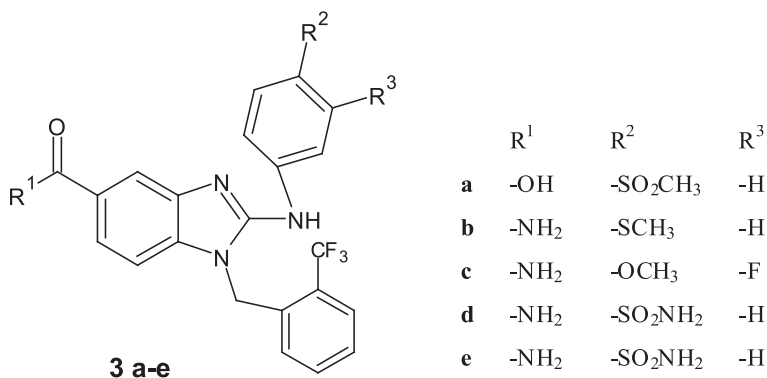
**Karbendazym**Rysunek 2
Figure 2

Integryny są cząsteczkami adhezyjnymi błon komórkowych, które uczestniczą w komunikacji wewnątrzkomórkowej i komunikacji między komórkami a macierzą pozakomórkową. Ich inhibitory mogą hamować angiogenezę w procesach rozrostowych nowotworów. Mogą także przeciwdziałać adhezji komórek rakowych do tkanek organizmu, przez co zmniejszają ryzyko przerzutów [2]. Do inhibitorów integryn $\alpha_v\beta_3$ należą pochodne 2-aminobenzimidazolu, które zawierają w swej strukturze układ 1H-benzo[b]azepiny **2a** i **2b** [3].



Rysunek 3
Figure 3

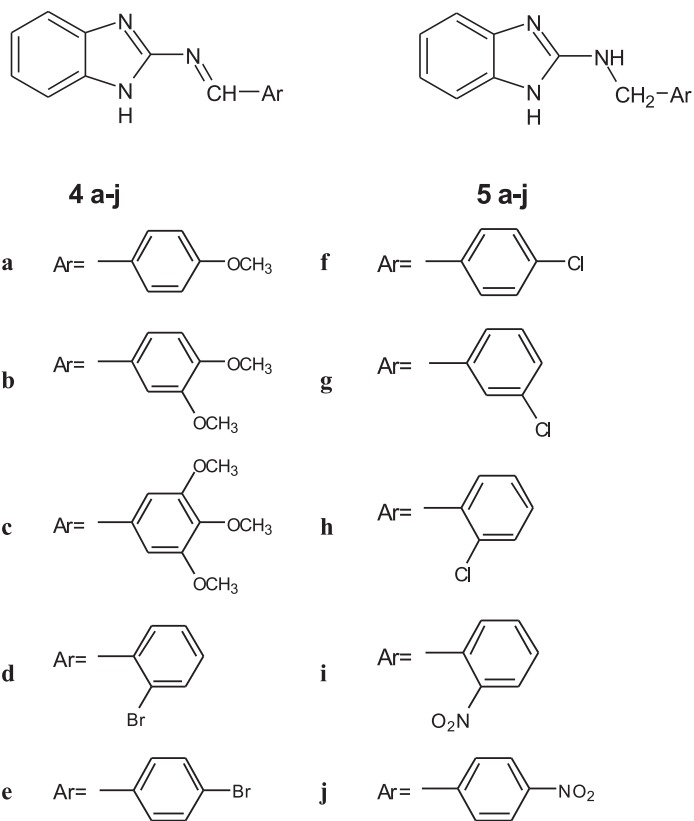
Białka motoryczne, które uczestniczą w procesie mitozy to kinezyiny wrzeciona podziałowego (KSP). Ich inhibitory, poprzez zakłócenie procesu prawidłowego formowania wrzeciona podziałowego, doprowadzają do apoptozy komórki. Takie właściwości posiadają związki **3a-e** [4].



Rysunek 4
Figure 4

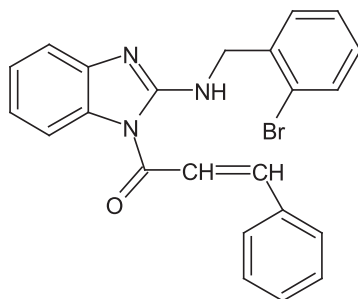
Seria zasad Schiffa **4a-j**, pochodnych 2-aminobenzimidazolu i podstawionych benzaldehydów otrzymana przez polskich naukowców wykazywała aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec komórek linii nowotworów: SW-707 (rak odbytnicy) oraz HCV 29T (rak pęcherza moczowego), A549 (niedrobnokomórkowy rak płuc), T47D (rak piersi) [5]. Najsilniejsze działanie wykazały pochodne **4d** i **4e**.

Redukcja wiązania azometinowego w zasadach Schiffa **4a-j**, dała benzylopo-chodne **5a-j** o wyższej aktywności antyproliferacyjnej *in vitro* niż substraty. Największą aktywność wykazały: 2-(*p*-bromofenyleno)amino-1H-benzimidazol (**5e**), 2-(*p*-chlorofenyleno)amino-1H-benzimidazol (**5f**) oraz 2-(*p*-nitrofenyleno)amino-1H-benzimidazol (**5j**).



Rysunek 5
Figure 5

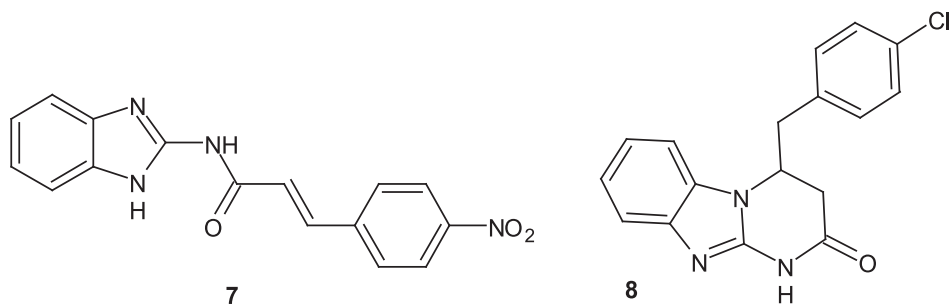
Uzyskane pochodne poddano acylowaniu chlorkiem cynamoilu, a 1-cynamoilo-2-(*o*-bromofenyleno)amino-1H-benzimidazol (**6**) charakteryzował się największą aktywnością antyproliferacyjną *in vitro* [5].



6

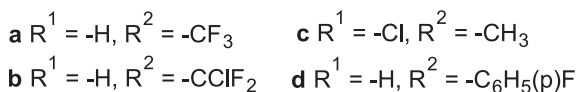
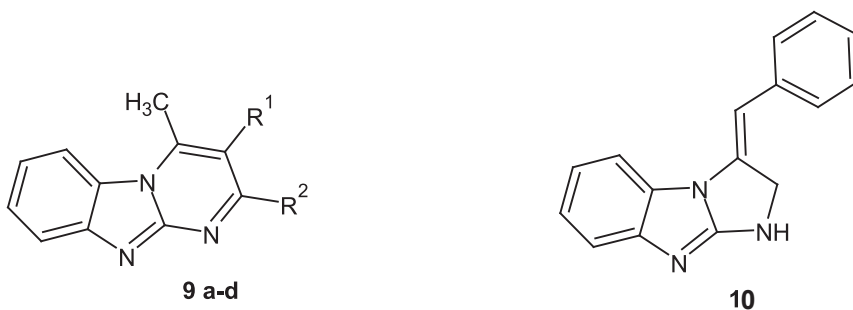
Rysunek 6
Figure 6

2-(*p*-nitrocynamoiloamino)benzimidazol (**7**) oraz 4-(*p*-chlorofenyleno)-1,2,3,4-tetrahydropiryrido[1,2-*a*]benzimidazol-2-on (**8**) wykazywały aktywność wobec różnych, ludzkich linii komórek nowotworowych: A549 (nie drobnokomórkowy rak płuc), T47D (rak piersi), SW707 (rak odbytnicy), HCV29T (rak pęcherza moczowego). Ich aktywność można wiązać m.in. z obecnością grupy nitrowej i chloru w pierścieniu aromatycznym [6]. Stwierdzono również, że benzylopo pochodne wykazują wyższą aktywność antyproliferacyjną *in vitro* od zasad Schiffa.



Rysunek 7
Figure 7

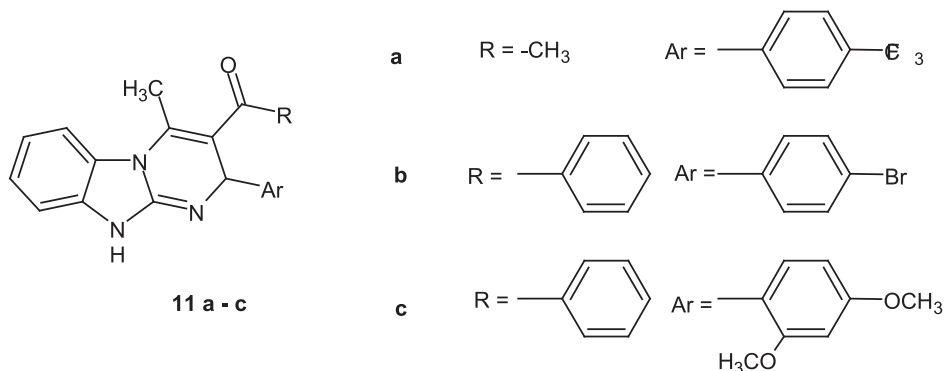
Kontynuując prace, w wyniku reakcji kondensacji 2-aminobenzimidazolu z wybranymi halogeno-1,3-diketonami oraz aldehydami α -halogenocynamonowymi otrzymano serie tricyklicznych związków **9 a-d** i **10** [7]. Były one aktywne *in vitro* wobec linii komórkowych ludzkich nowotworów: SW707 (rak odbytnicy), CCRF/CEM (białaczka) oraz Du 145 (rak prostaty).



Rysunek 8
Figure 8

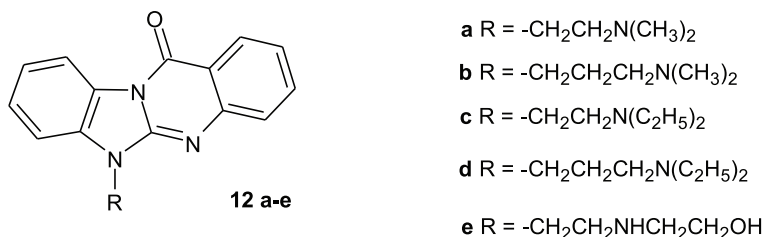
W reakcji zasad Schiffa z β -diketonami uzyskano nowe tricykliczne pochodne 1H-piryrido[1,2-*a*]benzimidazolu **11a-c**, charakteryzujące się aktywnością anty-

proliferacyjną *in vitro*, wobec linii komórek nowotworowych: P388 (białaczka mysia), A549 (rak płuc) oraz SW707 (rak odbytnicy) [8].



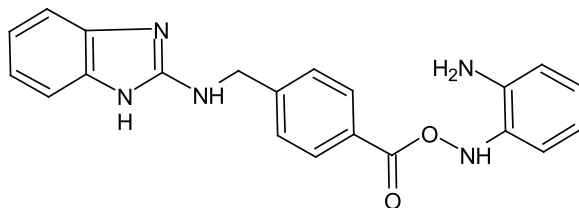
Rysunek 9
Figure 9

Włoscy uczeni przeprowadzili szereg syntez pochodnych benzimidazolo[2,1-*b*]chinazolinu **12a-e**, które wykazywały znaczącą aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec komórek ludzkich linii nowotworów: HL-60 (białaczka), HeLa (rak szyjki macicy) oraz A-431 (rak nabłonka płaskiego) [9]. 6-(dimetyloaminoetylo)benzimidazo[2,1-*b*]chinazolin-12(6H)-on (**12a**) oraz 6-(β-etanolaminoetylo)benzimidazo[2,1-*b*]chinazolin-12(6H)-on (**12e**) wykazały najsilniejsze działanie, porównywalne do leku referencyjnego – Eliptycyny.

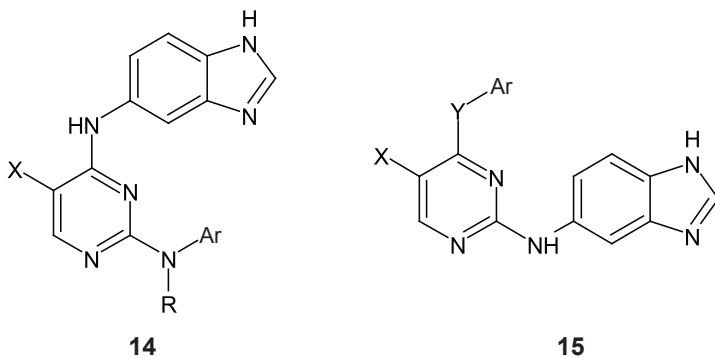


Rysunek 10
Figure 10

Kanadyjscy badacze [10] przeprowadzili syntezę i badania cytotoksyczności pochodnych 2-aminobenzimidazolu **13**. Niektóre z otrzymanych związków wykazywały zdolność inhibicji deacetylazy histonowej (HDACs). Regulowały więc ekspresję genów supresorowych p21^{WAF1/CIP1} oraz hamowały proliferację ludzkich komórek nowotworowych. Dodatkowo w zależności od dawki prowadziły do zatrzymania ich cyklu komórkowego. W badaniach *in vitro* pochodne te działały w nieznacznym stopniu na zdrowe komórki, a w badaniach *in vivo* nie stwierdzono spadku masy ciała, co jest przejawem braku toksyczności nowych związków.

**13**Rysunek 11
Figure 11

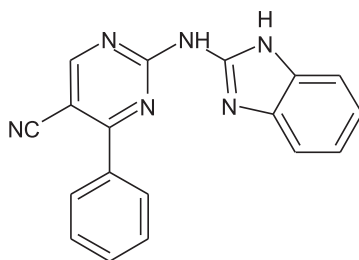
Pochodne aminobenzimidazolu **14** i **15**, które zawierały w swojej strukturze w pozycji 5 pirymidynę należą do inhibitorów kinazy CDK [11]. Otrzymane związki wykazywały *in vitro* wysoką aktywność i selektywność wobec CDK1.

**14****15**Y = N, Ar = -NH₂

Y = O, Ar = -OH lub -SH

Rysunek 12
Figure 12

Hughes i współpracownicy [12] zsyntetyzowali serię związków, będących inhibitorami kinazy VEGF-R2. Mogą one być przydatne jako środki hamujące neowaskularyzację w przebiegu retinopatii lub nowotworów. Właściwości przeciwingiogenne wykazywała pochodna 2-aminobenzimidazolu **16**.

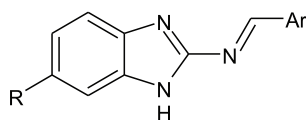


16

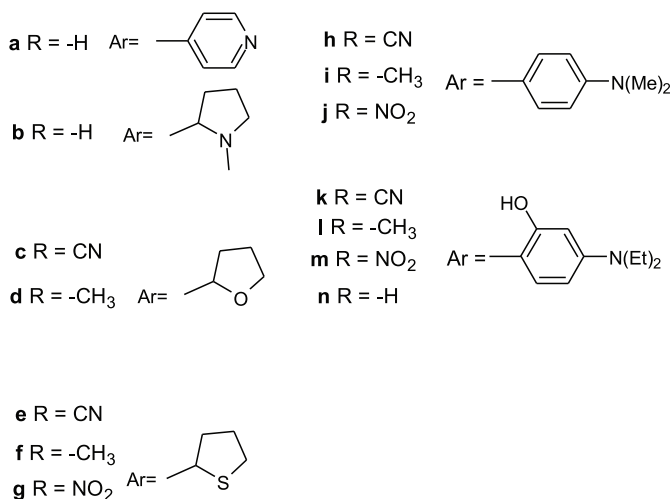
Rysunek 13

Figure 13

W 2011 r. chorwaccy naukowcy [13] przedstawili serię nowych zasad Schiffa. Czternaście otrzymanych pochodnych **17a-n** hamowało proliferację różnych linii komórkowych ludzkich nowotworów w testach *in vitro*. Najwyższą aktywność wykazywały pochodne **17k** i **17l**, jednakże cechowały się cytotoksycznością *in vitro* w stosunku do ludzkich fibroblastów.



17 a-n

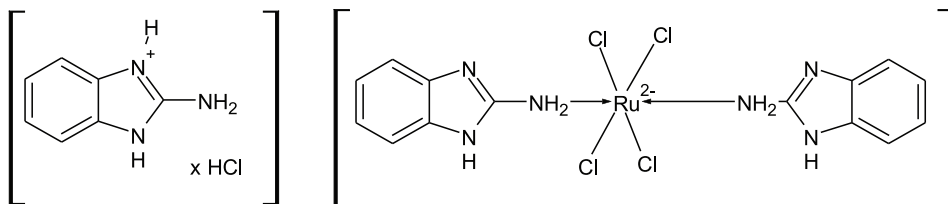


Rysunek 14

Figure 14

Wysoką aktywność cytotoksyczną w badaniach *in vitro* wobec komórek chłoniaka ludzkiego wykazały kompleksy 2-aminobenzimidazolu z rutenem **18** [14].

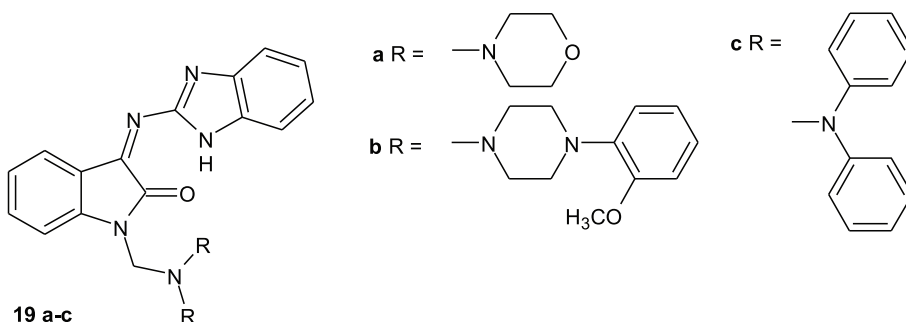
Utworzenie wiązania koordynacyjnego umożliwia obecność wolnej pary elektronowej przy atomie azotu w 2-aminobenzimidazolu.



18

Rysunek 15
Figure 15

Egipscy uczeni zsyntezowali serię zasad Mannicha, pochodnych tiazolino- lub benzimidazoloizatyny. Najwyższą aktywność przeciwko komórkom hormonozależnego raka piersi (MCF-7) wykazywały pochodne **19a-c**. Związkiem referencyjnym testów była doksorubicyna [15].



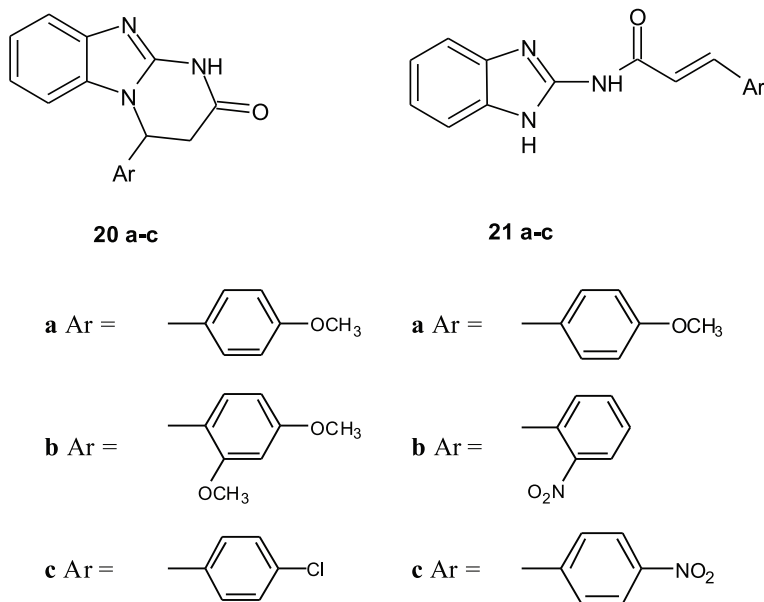
Rysunek 16
Figure 16

2. POCHODNE O AKTYWNOŚCI IMMUNOTROPOWEJ

Pochodne 4-arylo-1,2,3,4-tetrahydropiryrido[1,2-*a*]benzimidazol-2-onu **20 a-c** oraz 2-cynamoilopochodne **21 a-c** poddano badaniom na aktywność immunosupresyjną [16]. Zbadano ich wpływ na fitohemaglutyninę (PHA) oraz na mieszane kultury limfocytów indukowane proliferacją jednojądrzastych komórek krwi obwodowej. Jako lek referencyjny w badaniu aktywności immunotropowej zastosowano cyklosporynę A.

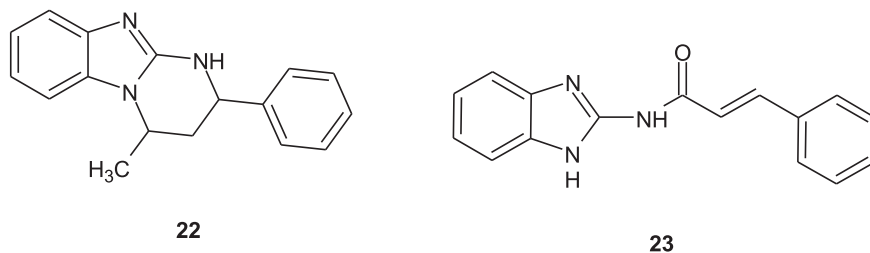
Najsilniejszą inhibicję proliferacji limfocytów *in vitro* wykazywały: 4-(4-chlorofenyleno)-1,2,3,4-tetrahydropiryrido[1,2-*a*]benzimidazol-2-on (**20 c**) i 2-(4-nitrocynamoiloamino)-1H-benzimidazol (**21c**). Związki **20a-c** oraz **21c** dodatkowo

hamowały wydzielanie cytokiny TNF_{α} , indukowanej bakteryjnym lipopolisacharydem. Jednocześnie charakteryzowały się one niską toksycznością.



Rysunek 17
Figure 17

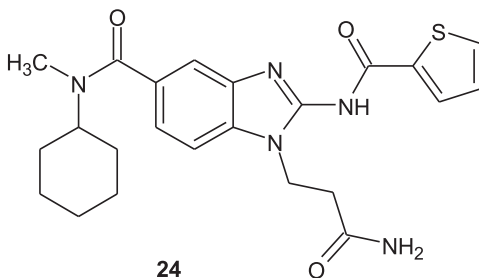
4-metylo-2-fenyl-1,2,3,4-tetrahydropiryrido[1,2-a]benzimidazol (**22**) wykazał aktywność immunosupresyjną silniejszą od leku referencyjnego – cyklosporyny A. Z kolei 2-cynamoiloamino-1H-benzimidazol (**23**) hamował odpowiedź humoralną układu immunologicznego, nasilając jednocześnie odpowiedź typu komórkowego [17].



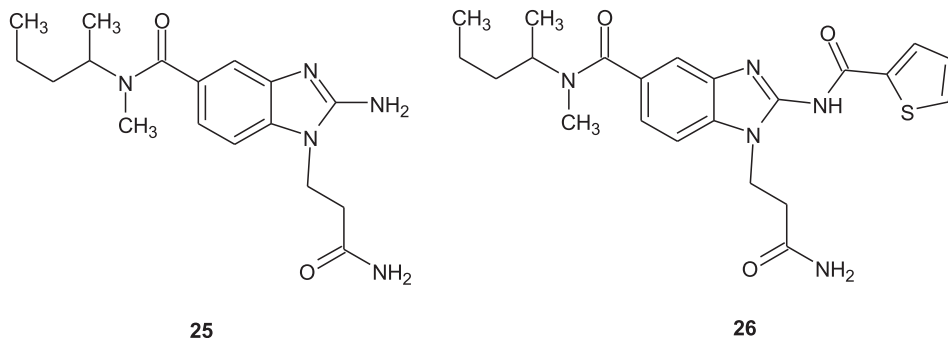
Rysunek 18
Figure 18

Przedmiotem badań amerykańskich naukowców były nowe pochodne benzimidazolu **24-26** selektywnie hamujące aktywność indukowanej interleukiną-2 kinazy limfocytów T (ITK) [18]. Kinaza ta ulega ekspresji nie tylko w limfocytach T,

ale również w komórkach tłuszczowych i w komórkach NK, stymulując je do procesów obronnych. Badania na zwierzętach, w których wykazano, że osobniki z niedoborem ITK wykazują znacznie zmniejszoną odpowiedź zapalną na alergeny, potwierdziły jej kluczową rolę w aktywacji komórek T. W związku z tym inhibitory ITK mogą okazać się skutecznymi środkami immunosupresyjnymi lub przeciwzapalnymi.

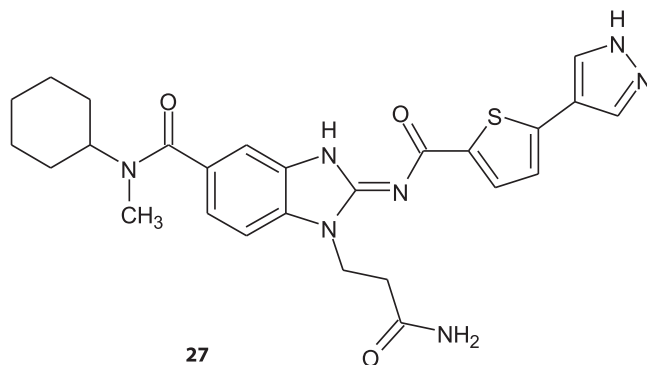


Rysunek 19
Figure 19



Rysunek 20
Figure 20

W 2009 roku zsyntezowano związki wykazujące wyższą siłę działania i selektywność względem ITK [19]. Punktem uchwytu pochodnych 2-aminobenzimidazolu z kinazą jest leżący w pobliżu miejsca wiązania ATP rejon zawiasowy (KSP), zawierający szereg funkcjonalnych grup, które wchodzą w korzystne interakcje z nowymi związkami. Wykazano, że obecność wiązania podwójnego przy rdzeniu benzimidazolu oraz pierścienia heterocyklicznego w związku zwiększa powinowactwo i siłę hamowania ITK. Związek 27 okazał się najsilniejszym zarejestrowanym inhibitorem ITK.

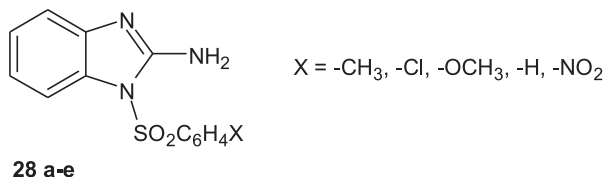


Rysunek 21

Figure 21

3. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWZAPALNEJ

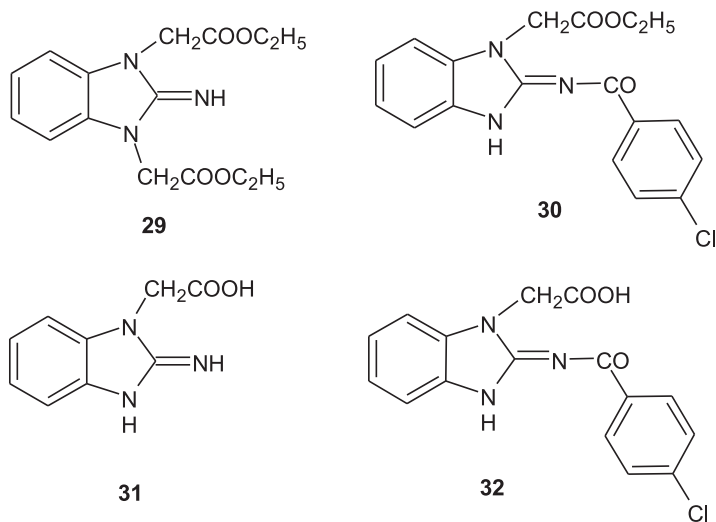
Rodzina białek NOD1 pełni ważną rolę we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, rozpoznając różnorodne struktury bakteryjne. Pod wpływem kontaktu z antygenem bakteryjnym następuje aktywacja różnorodnych ścieżek sygnałowych, ważnych w zakażeniach bakteryjnych i stanach zapalnych. Polimorfizm białek NOD1 jest prawdopodobnie powiązany z wieloma chorobami autoimmunologicznymi np. sarkoidozą, chorobą Crohna, a także astmą czy stwardnieniem rozsianym. Przebadane pochodne 2-aminobenzimidazolu, zawierające w pozycji 1 podstawniki arylosulfonowe **28a-e**, były selektywnymi inhibitorami białek NOD1 i mogą być potencjalnymi lekami w zaburzeniach immunologicznych [20].



Rysunek 22

Figure 22

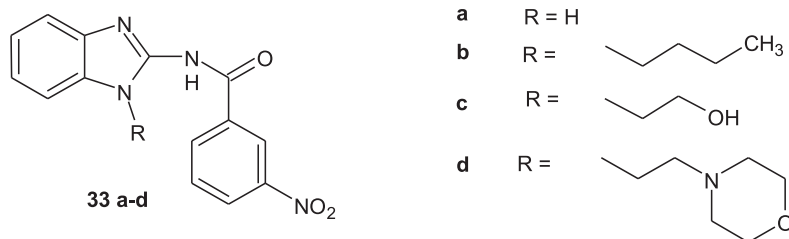
Analogami indometacyny o działaniu przeciwzapalnym są: 1,3-dietoksykarbonylometylo-2-imino-2,3-dihydro-1H-benzimidazol (**29**) oraz 1-etoksykarbonylometylo-2-(4-chlorobenzoylo)imino-2,3-dihydro-1H-benzimidazol (**30**). Pochodne kwasu octowego **31** i **32** wykazały dodatkowo działanie przeciwbólne [21].



Rysunek 23
Figure 23

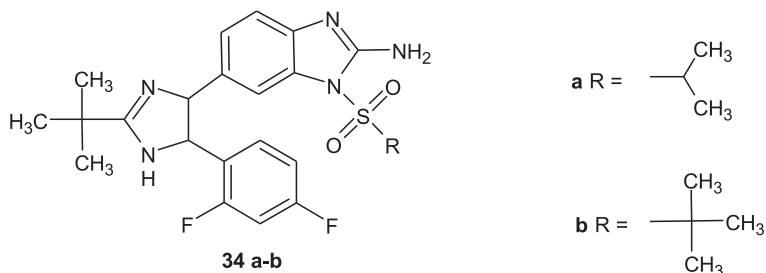
Antagoniści receptora interleukiny-1 związanego z kinazą 4 (IRAK-4) są potencjalnymi lekami przeciwzapalnymi. Inhibitorami tego receptora są *N*-(1*H*-benzimidazol-2-yl)-3-nitrobenzamid (**33a**) oraz *N*-(1-butyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-3-nitrobenzamid (**33b**).

Modyfikacja struktury związków **33a** i **33b** pozwoliła na uzyskanie silnych antagonistów receptora IRAK-4. Najsilniejszą aktywność wykazały: *N*-[1-(2-hydroksyetylo)-1*H*-benzimidazol-2-yl]-3-nitrobenzamid (**33c**) i *N*-{1-[2-(morfolin-4-yl)etylo]-1*H*-benzimidazol-2-yl}-3-nitrobenzamid (**33d**) [22].



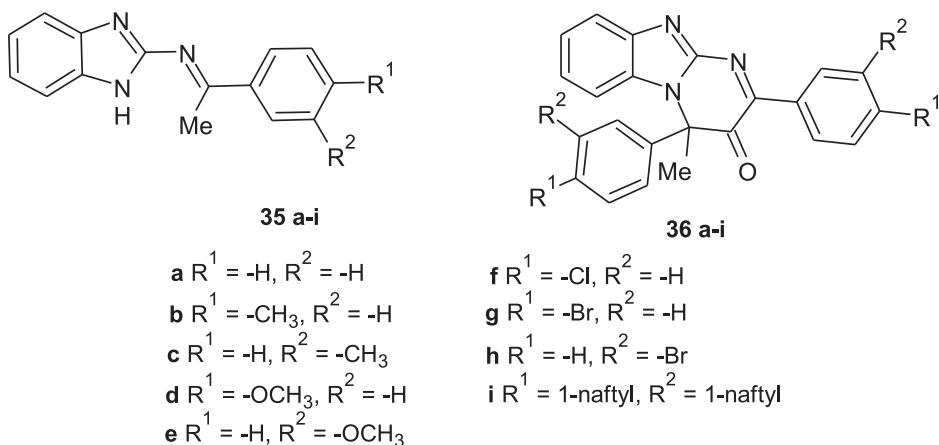
Rysunek 24
Figure 24

Kinaza p38 MAP odgrywa ważną rolę w patogenezie ostrego i przewlekłego stanu zapalnego. Amerykańscy uczeni [23, 24] uzyskali pochodne 2-amino-1*H*-benzimidazolu **34a** i **34b**, które w badaniach *in vitro* i *in vivo* na szczurach, hamowały kinazy p38 MAP, przez co wykazały wysoką aktywność przeciwzapalną. Charakteryzowały się także dobrą dostępnością biologiczną.



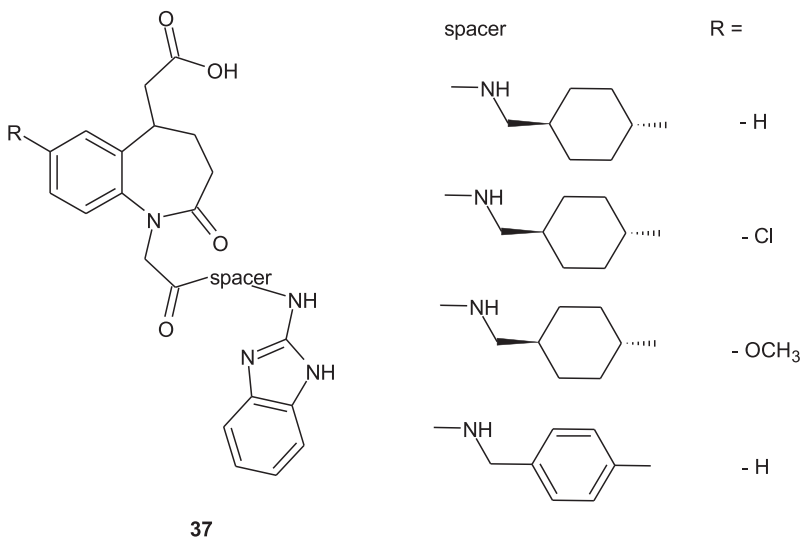
Rysunek 25
Figure 25

Greccy naukowcy [25] opracowali i przedstawili metodę bezpośredniej syntezy zasad Schiffa **35**, oraz pochodnych tricyklicznych 3-oksopiryrido[1,2-a]benzimidazolu **36** zgodną z zasadami „zielonej chemii”. Otrzymane zasady Schiffa są inhibitorami enzymów lipooksygenazy (LOX) oraz lipoperoksydazy (LPO). Najwyższą aktywność wykazywały pochodne **35e**, **35h**, **35i** oraz **36a**, **36e**, **36f**. Jednak były one cytotoksyczne *in vitro* wobec ludzkich linii komórkowych, co nie pozwala na wykorzystanie ich do celów medycznych. Pochodne **35i** i **35g** wykazywały mniejszą cytotoksyczność, a związki **36c**, **36e** i **36f** mogą być ewentualnie wykorzystane jako inhibitory w niższym stężeniu.



Rysunek 26
Figure 26

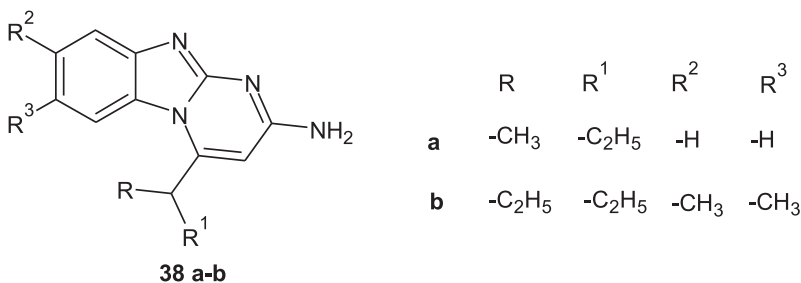
Pochodne 2-aminobenzimidazolu, zawierające w swojej strukturze 1,5-tetrahydrobenzazepinon **37** wykazują silną aktywność hamującą receptor integrynowy ($\alpha_v\beta_3$), i mogą być stosowane w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów czy osteoporozy [26]. Najaktywniejszy w tych badaniach okazał się związek, zawierający w pozycji 7 ugrupowanie metoksyłowe.



Rysunek 27
Figure 27

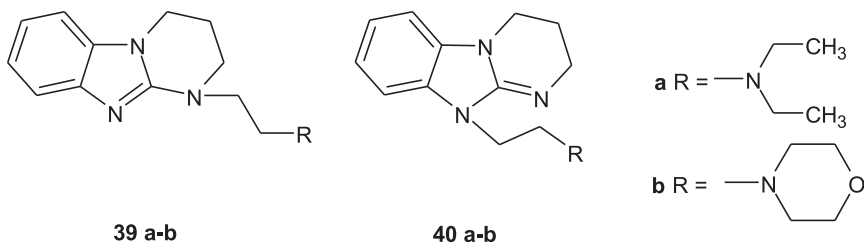
4. POCHODNE ODDZIAŁYUJĄCE NA UKŁAD SERCOWO-NACZYNIOWY

2-Amino-4-(1-metylopropylo)pirymido[1,2-*a*]benzimidazol (**38a**) i 2-amino-4-(1-etylopropylo)-7,8-dimetylopirymido[1,2-*a*]benzimidazol (**38b**) wykazały aktywność: antyarytmiczną oraz słabą bakteriostatyczną [27].



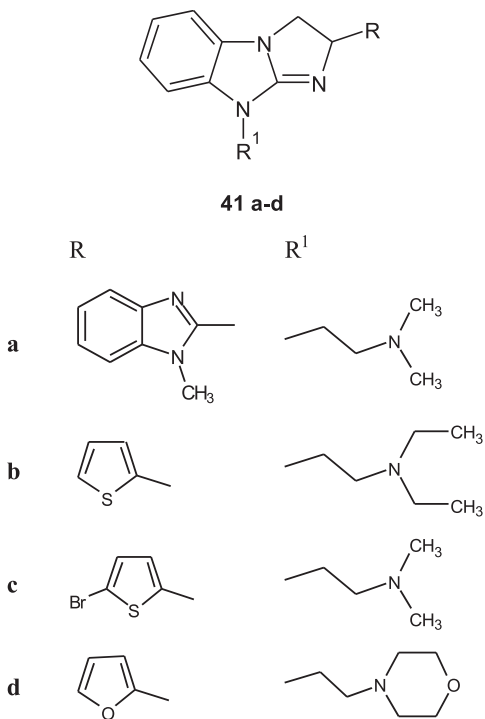
Rysunek 28
Figure 28

Pochodne 1-etylo-1,2,3,4-tetrahydropiryrido[1,2-*a*]benzimidazolu **39a** i **39b** oraz 10-etylo-2,3,4,10-tetrahydropiryrido[1,2-*a*]benzimidazolu **40a** i **40b** wykazały w badaniach *in vitro* działanie hipotensyjne a także antyagregacyjne [28]. Działywały one silniej niż Dibazole i podobnie jak Apressin, zastosowane w testach, jako związki referencyjne.



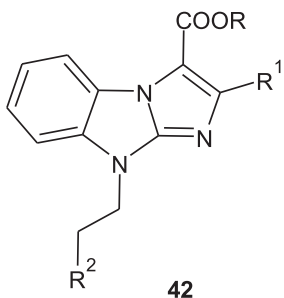
Rysunek 29
Figure 29

Rosyjscy uczeni [29] zsyntezowali serię pochodnych imidazo[1,2-*a*]benzimidazolu. W badaniach *in vitro* wykazały one działanie antyarytmiczne **41a-d**, a także antyagregacyjne na płytki krwi **41a-c**, ponadto wpływały na pobudliwość mięśnia sercowego. Dodatkowo 9[2-(dimetyloamino)etylo]-2-(1-metyloamino-1-H-benzimidazol-2ylo)-2,9-dihydro-3H-imidazo[1,2-*a*]benzimidazol (**41a**) i 9[2-(dimetyloamino)etylo]-2-(5-tiofen-2-ylo)-2,9-dihydro-3H-imidazo[1,2-*a*]benzimidazol (**41c**) wpływały na pobudliwość kardiomiocytów oraz posiadały aktywność antyoksydacyjną wyższą od związku referencyjnego – Ionolu.



Rysunek 30
Figure 30

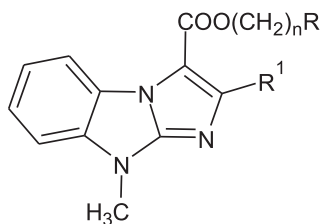
Pochodne **42** i **43** działały przeciwartymiczne oraz obniżały ciśnienie krwi [30]:



R = Me, Ph, 1-naftyl

R¹ = Me, Et

R² = Et₂N, piperydino, morfolino



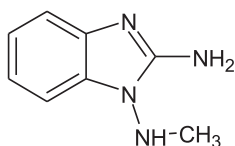
R = Et₂N, piperydino, morfolino, Me₂N

R¹ = Me, Ph

n = 2,3

Rysunek 31
Figure 31

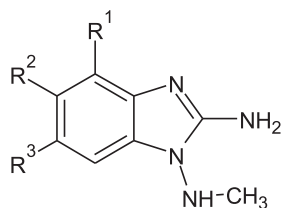
2-Amino-1-metyloamino-benzimidazol (**44**) jest selektywnym inhibitorem neuronalnej NOS. Może być użyty w leczeniu uzależnień i udarów [31].



44

Rysunek 32
Figure 32

Modyfikacja chemiczna jego struktury doprowadziła do otrzymania związków **45a-e**, które powodują skurcz naczyń krwionośnych i znaczny wzrost ciśnienia krwi.



45 a-e

a $R^1 = H, R^2 = R^3 = -CH=CHCH=CH_2$

b $R^1 = H, R^2 = R^3 = -CH_3$

c $R^1 = CH_3, R^2 = R^3 = H$

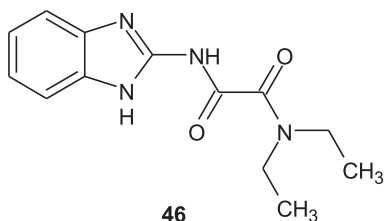
d $R^1 = R^2 = H, R^3 = -Cl$

e $R^1 = R^2 = H, R^3 = -OCH_3$

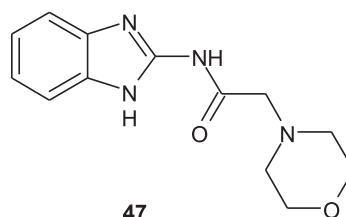
Rysunek 33

Figure 33

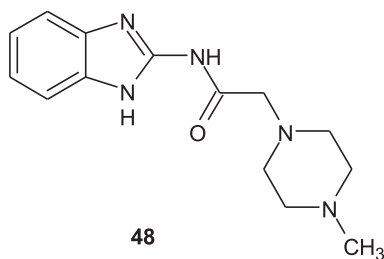
Przedstawione wzorami związki **46-49** wykazują aktywność przeciwmiażdżycową [32]:



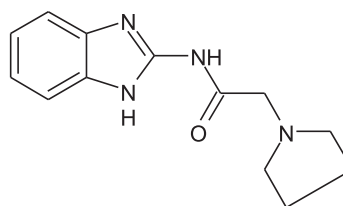
46



47



48

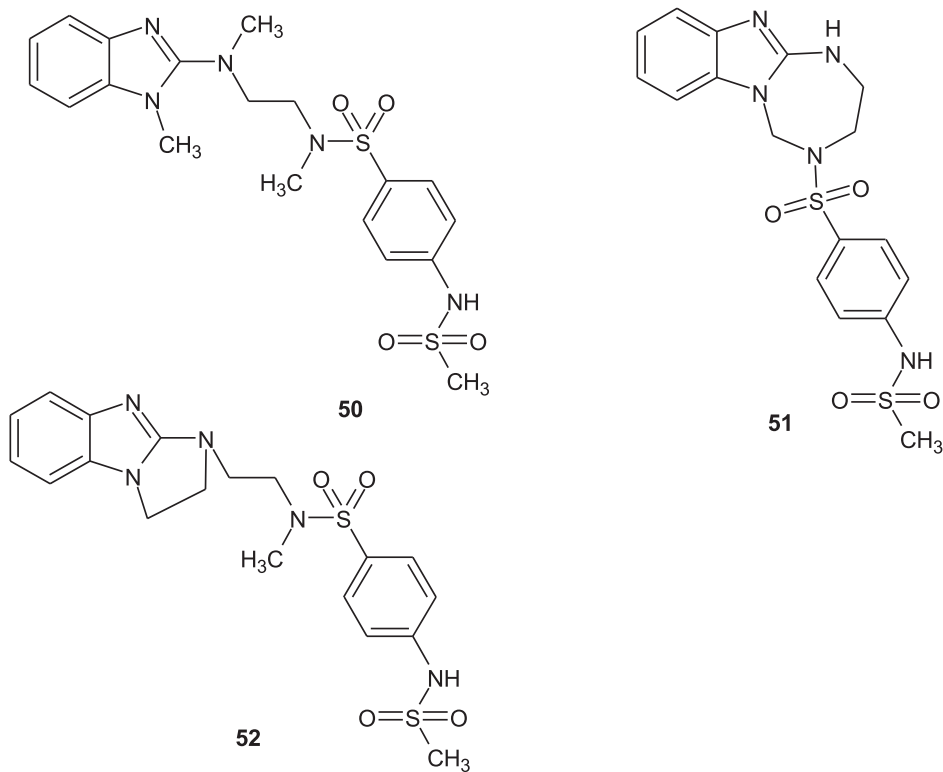


49

Rysunek 34

Figure 34

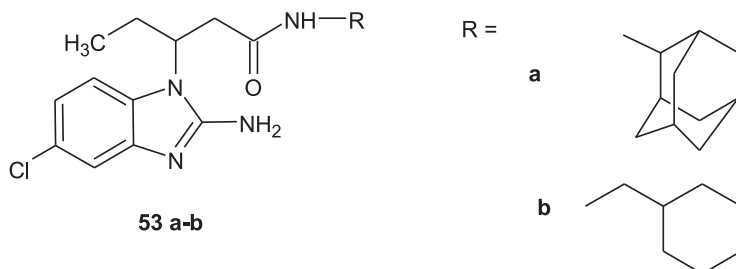
Wpływ na zaburzenia rytmu serca wykazuje 1-metylo-2-(4-metylosulfonyloaminofenylenosulfonylo)metyloaminoetylometyloamino)-benzimidazol (**50**) oraz pochodne **51** i **52** [33]:



Rysunek 35
Figure 35

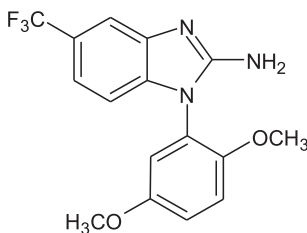
5. POCHODNE O DZIAŁANIU NEUROPROTEKCYJNYM

Beta-sekretaza (BACE1) jest enzymem degradującym białko prekursorowe – amyloid do β -amyloidu, który formuje płytki odgrywające ważną rolę w patogenezie choroby Alzheimera. Selektywnymi inhibitorami BACE1, pochodnymi 2-amino-1H-benzimidazolu, są związki **53a** i **53b** [34].



Rysunek 36
Figure 36

Mechanizm działania niektórych leków neuroprotekcyjnych polega na powstrzymaniu napływu jonów wapnia do wnętrza komórki nerwowej po udarze. Do antagonistów napięciowo-zależnych kanałów wapniowych (VSCC) należy 1-(2,5-dimetoksyfenilo)-5-(trifluorometylo)-2-amino-1H-benzimidazol (**54**). Działa neuroprotekcyjnie, poprzez hamowanie napływ jonów Ca^{2+} do neuronu, co zostało udowodnione w badaniach *in vivo* [35].

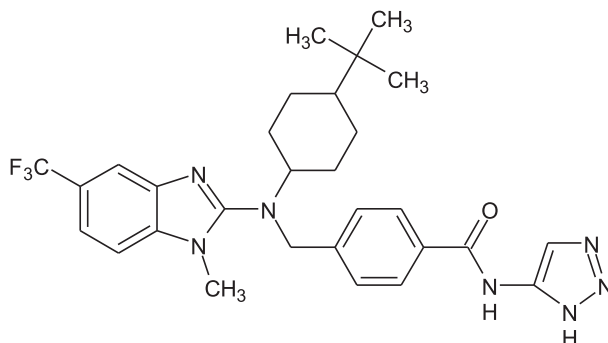
**54**

Rysunek 37

Figure 37

7. POCHODNE O AKTYWNOŚCI PRZECIWK CHOROBYM METABOLICZNYM

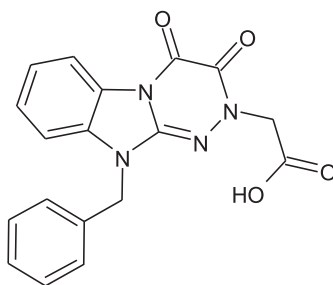
Analogi 2-aminobenzimidazolu skutecznie blokują wątrobowy receptor dla glukagonu, co skutkuje złagodzeniem hiperglikemii w cukrzycy typu 2. Antagoniści receptora glukagonowego (GCGR) hamują indukowaną glukagonem produkcję glukozy oraz obniżają glikemię. Kim i współpracownicy [36] otrzymali serię pochodnych 2-aminobenzimidazolu o działaniu przeciwcukrzycowym. Antagonistą receptora GCGR jest 4-[[[5-(trifluorometylo-1-metylo-1H-benzimidazol-2-yl)-(4-tert-butylo-cykloheksylo)amino]metylo]-N-(1H-1,2,3-triazol-5-yl)benzamid (**55**). W badaniach *in vivo* na zwierzętach skutecznie obniżał poziom glukozy we krwi oraz posiadał dobre parametry farmakodynamiczne po podaniu doustnym [36]. Nowe związki wykazują dobrą selektywność względem receptorów hGIP i hGLP-1, przez co regulują wydzielanie glukozy zależne od poziomu glukagonu. To klasyfikuje je jako potencjalne leki hipoglikemizujące.



55

Rysunek 38
Figure 38

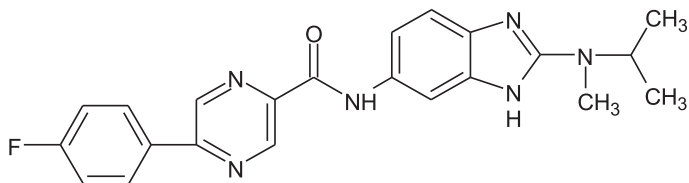
Redukcję glukozy do sorbitolu katalizuje enzym reduktaza aldozy (ALR2). W wyniku przedłużającej się hiperglikemii następuje gromadzenie się sorbitolu, który powoduje osmotyczne uszkodzenie komórek nerwowych i zaćmę [37]. Selektywnym inhibitorem ALR2 jest kwas (9-benzyl-3,4-dioksa-3,4-dihydro[1,2,4]-triazyno[4,3-a]benzimidazol-2-yl)octowy (**56**). Charakteryzuje się on działaniem podobnym do użytego wzorca – sorbinilu. W testach *in vivo* na zwierzętach skutecznie zapobiegał występowaniu zaćmy spowodowanej przewlekłą hiperglikemią [38].



56

Rysunek 39
Figure 39

Do endogennych substancji zwiększających apetyt należy wydzielany w podwzgórzu hormon koncentrujący melaninę (MCH). Antagoniści receptora MCH są potencjalnymi lekami w terapii otyłości. *N*-{2-[metylo(izopropilo)amino]-1H-benzimidazol-6-yl}-5-(4-fluorofenyleno)-pirazyno-2-karboksyamid (**57**) w badaniach *in vitro* wykazał silny antagonizm wobec receptorów MCH, a także dobrą penetrację przez barierę krew–mózg [39].

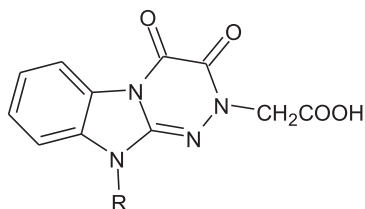


57

Rysunek 40

Figure 40

Inhibitory reduktazy aldozy (ALR2) wpływają na częstość występowania powikłań wynikających z hiperglikemii. Włoscy naukowcy [40] otrzymali nową klasę inhibitorów ALR2, pochodnych [1,2,4]triazyno[4,3-*a*]benzimidazolu **58**. Najsilniejsze działanie wykazywał związek **58c**.



58 a-j

- | | | |
|-----|--|---|
| R = | a -CH ₃ | f -CH ₂ C ₆ H ₄ (<i>p</i>)F |
| | b -C ₃ H ₇ | g -CH ₂ C ₆ H ₄ (<i>p</i>)CF ₃ |
| | c -CH ₂ C ₆ H ₅ | h -CH ₂ COOH |
| | d -CH ₂ C ₆ H ₄ (<i>p</i>)CH ₃ | i -CH ₂ C ₆ H ₄ (<i>p</i>)Cl |
| | e -CH ₂ C ₆ H ₄ (<i>p</i>)OCH ₃ | j -CH ₂ C ₆ H ₃ (<i>m,p</i>)F |

Rysunek 41

Figure 41

PODSUMOWANIE

Od wielu lat dużym zainteresowaniem chemików i farmakologów cieszą się 2-amino-1H-benzimidazolu (**1**) i jego pochodne. Układ 2-aminobenzimidazolu (**1**) występuje już w ponad 30 zarejestrowanych lekach o różnorodnej aktywności biologicznej: w lekach immunotropowych, przeciwbakteryjnych, przeciwgrzybiczych oraz przeciwvirusowych. Pochodne 2-aminobenzimidazolu (**1**) są także antagonistami wszystkich typów receptorów histaminowych (H1, H2, H3 i H4).

Modyfikacje i optymalizacje strukturalne cząsteczki 2-amino-1H-benzimidazolu (**1**) doprowadziły do uzyskania szeregu nowych związków wykazujących obiecujący potencjał biologiczny. Obecność ugrupowania guanidynowego w cząsteczce 2-aminobenzimidazolu, wkomponowanego w jego strukturę, daje możliwość syntezy pochodnych o różnej budowie chemicznej: podstawionych lub policyklicznych.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] L. Jia, H. Wong, Y. Wang, M. Garza, S. D. Wietman, J. Pharm. Sci., 2003, **92**, 161.
- [2] J. Rolski, M. Niemiec, *Współczesna onkologia*, 2008, **12**, 374.
- [3] A. Kling, G. Backfish, J. Delzer, H. Geneste, C. Grafen, W. Hornberger, U.E.W. Lange, A. Lauterbach, W. Seitz, T. Subkowski, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **11**, 1319.
- [4] B.R. Lahue, Y. Ma, G.W. Shipp Jr., W. Seghezzi, R. Herbst, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **131**, 3405.
- [5] W. Nawrocka, B. Sztuba, M. W. Kowalska, H. Liszkiewicz, J. Wietrzyk, A. Nasulewicz, M. Pełczyńska, A. Opolski, *Il Farmaco*, 2004, **59**, 83.
- [6] W. Nawrocka, M. Zimecki, T. Kuznicki, M.W. Kowalska, *Arch. Pharm. Med. Chem.*, 1999, **3**, 85.
- [7] W. Nawrocka, B. Sztuba, H. Liszkiewicz, M. W. Kowalska, J. Wietrzyk, D. Nevozhai, A. Opolski, *Pol. J. Chem.*, 2005, **79**, 709.
- [8] W. Nawrocka, B. Sztuba, A. Dryś, J. Wietrzyk, J. Kosendiak, A. Opolski, *Pol. J. Chem.*, 2006, **80**, 279.
- [9] L.D. Via, O. Gia, S.M. Magno, A. Da Settimo, A.M. Marini, G. Primofiore, F. Da Settimo, S. Salerno, *Il Farmaco*, 2001, **56**, 159.
- [10] S. Frechette, S. Leit, S.H. Woo, G. Lapointe, G. Jeannotte, O. Moradei, I. Piquin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 1502.
- [11] S. Verma, Nagarathnam, J. Shao, L. Zhang, J. Zhao, Y. Wang, T. Li, E. Mull, I. Enyedy, C. Wang, Q. Zhu, M. Altrieri, J. Jordan, T.T. Dang, S. Reddy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, **15**, 1973.
- [12] T.V. Hughes, S.L. Emanuel, A. K. Beck, S.K. Wetter, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 3266.
- [13] M. Hranjec, K. Starcevic, S.K. Pavelic, P. Lucin, K. Pavelic, G. Zamola Karminski, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 2274.
- [14] A. Niklova, D. Ivanov, R. Buyukliev, S. Konstantinova, *Arzneim-forsch. Drug Res.*, 2001, **51**, 758.
- [15] A.T. Taher, N.A. Khalil, E.M. Ahmed, *Arch. Pharm. Res.*, 2011, **34**, 1615.
- [16] W. Nawrocka, M. Zimecki, T. Kuźnicki, M. Kowalska, *Arch. Pharm. Pharm. Chem.*, 1999, **332**, 85.
- [17] W. Nawrocka, M. Zimecki, *Arch. Pharm. Pharm. Chem.*, 1998, **331**, 249.
- [18] R.J. Snow, A. Abeywardane, S. Cambell, J. Lord, M.A. Kashem, H. Khine, J. King, J. A. Kowalski, S.S. Pullen, T. Roma, G.P. Roth, C.R. Sarko, N.S. Wilson, M.P. Winters, J.P. Wolak, C.L. Cywin, *Bioorg. & Med. Chem.*, 2007, **17**, 3660.
- [19] B.N. Cook, J. Bentzien, A. White, P. Nemoto, J. Wang, C.M. Chuk, F. Soleymanzadeh, H.H. Khine, M. Kashem, S.Z. Kugler Jr., J. Wolak, G.P. Roth, S. De Lombaert, S. Pullen, H. Takahasi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 773.
- [20] S. Kędziora, R. Slotwiński, *Post. Hig. Med. Dosw.*, 2009, **63**, 30.; R.G. Correa, P.M. Khan, N. Askari, D. Zhai at all., *Chem Biol.*, 2011, **18**, 825.
- [21] A. Settimo, G. Primofiore, F. Settimo, A.M. Marini, *Il Farmaco*, 1992, **47**, 1293.
- [22] J.P. Powers, S. Li, J.C. Jaen, J. Liu, N.P.C. Walker, Z. Wang, H. Wesche, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 2842.
- [23] A. Dios, C. Shih, B.L. Uralde, C. Sanchez, M. Prado, L.M. Martin Cabrejas, S. Pleite, J. Blanco-Urgoiti, M.J. Lorite, C.R. Nevill Jr., R. Bonjouklian, J. York, M. Vieth, Y. Wang, N. Magnus, R.M. Campbell, B.D. Anderson, D.J. McCann, D.D. Giera, P.A. Lee, R.M. Schultz, L.C. Li, L.M. Johnson, J.A. Wolos, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 2270.
- [24] N.A. Magnus, W.D. Diseroad, C.R. Nevill, J.P. Wepsiec, *Organic Process Research & Developmen*, 2006, **10**, 556.
- [25] C.G. Neochoritis, T.Z. Tzitzikas, C.A. Tsoleridis, J. Stephanidou-Stephanatu, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 297.

- [26] A. Kling, G. Backfisch, J. Delzer, H. Geneste, C. Graef, U. Holzenkamp, W. Hornberger, E. Udo, W. Lange, A. Lauterbach, H. Mack, W. Seitz, T. Subkowski, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002, **12**, 441.
- [27] P.F. Asobo, H. Wahe, J.T. Mbafor, A.E. Nkengfack, Z.T. Fomum, E.F. Sophue, D. Döpp, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2001, **1**, 457.
- [28] V.A. Anisimova, M.M. Osipova, A.A. Spasov, A.F. Turchaeva, G.P. Dudchenko, N.P. Larionov, S.G. Kovalcv, *Pharm. Chem. J.*, 2002, **36**, 468.
- [29] V.A. Anisimova, A.A. Spasov, A.F. Kucheryavenko, T.I. Panchenko, O.V. Ostrovskii, V.A. Kosolapov, N.P. Larionov, *Pharm. Med. J.*, 2002, **36**, 528.
- [30] V.A. Anisimova, T.A. Kuzmenko, Rabinskaya, *J. Pharm. Chem.*, 1999, **33**, 361.
- [31] P. Hamley, C. Tinker, *Med. Chem. Lett.*, 1995, **5**, 1573.
- [32] T. Kumazawa, H. Harakawa, H. Fukai, S. Shirokura, E. Ooiski, K. Hamada, *JP 07,133,224* [95,133,224]; *C. A.* 1995, **123**, 218414t.
- [33] W. Nawrocka, *Boll. Chim. Farmaceutico*, 1996, **135**, 18.
- [34] J. Madden, J.R. Dod, R. Godemann, J. Kraemer, M. Smith, M. Biniszkievicz, D.J. Hallett, J. Barker, J.D. Dyekjaer, T. Hesterkamp, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 5329.
- [35] T. Varming, P. Christophersen, A. Møller, D. Peters, O. Axelsson, E.Ø. Nielsen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **6**, 245.
- [36] R.M. Kim, J. Chang, A.R. Lins, E. Brady, M.R. Candelore, Q. Dallas-Yang, V. Ding, J. Dragovic, S. Iliff, G. Jiang, S. Mock, S. Qureshi, R. Saperstein, D. Szalkowski, C. Tamvakopoulos, L. Tota, M. Wright, X. Yang, J. R. Tata, K. Chapman, B. B. Zhang, E. R. Parmee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 3701.
- [37] E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, P. Ruth, M. Schafer-Korting, *Farmakologia i toksykologia*, MedPharm Polska, Wrocław 2010.
- [38] F. Settimo, G. Primofiore, A. Settimo, C. Motta, S. Taliani, F. Simorini, E. Novellino, G. Greco, A. Lavecchia, E. Boldrini, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 4359.
- [39] M. Moriya, H. Kishino, S. Sakuraba, T. Sakamoto, T. Suga, H. Takahashi, T. Suzuki, M. Ito, J. Ito, R. Moriya, N. Takenaga, H. Iwaasa, A. Ishihara, A. Kanatani, T. Fukami, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009, **19**, 3568.
- [40] F. Da Settimo, G. Primafiore, A. Da Settimo, C. La Motta, S. Taliame, F. Simorini, E. Novelino, G. Greco, A. Lavecchia, E. Boldrini, *J. Med. Chem.*, 2003, **44**, 4359.

Praca wpłynęła do Redakcji 18 lipca 2012

**BADANIE STRUKTURY I DYNAMIKI
N-TERMINALNYCH SEKWENCJI DERMORFINY I ICH
ANALOGÓW Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII
NMR W CIELE STAŁYM I RENTGENOGRAFII**

STUDIES ON THE STRUCTURE AND DYNAMICS
OF N-TERMINAL SEQUENCES OF DERMORPHIN
AND THEIR ANALOGS BY MEANS OF SOLID STATE
NMR SPECTROSCOPY AND XRD

Katarzyna Trzeciak-Karlikowska

*Samodzielna Pracownia Badań Strukturalnych,
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk
ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź
e-mail: ktrzecik@cbmm.lodz.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Badania strukturalne

1.1. Analiza rentgenograficzna tripeptydu Tyr-Ala-Phe, tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly i jego analogu z L-alaniną

1.2. Badania tripeptydu Tyr-Ala-Phe oraz tetrapeptydów Tyr-Ala-Phe-Gly i Tyr-D-Ala-Phe-Gly za pomocą spektroskopii NMR w ciele stałym

2. Badania dynamiki molekularnej z wykorzystaniem spektroskopii NMR w ciele stałym

2.1. Zastosowanie eksperymentów PILGRIM I PISEMA MAS w badaniach dynamiki N-terminalnych sekwencji dermorfiny z L- i D-alaniną

2.2. Badanie dynamiki pierścieni aromatycznych selektywnie znakowanych tripeptydów Tyr-D-Ala-Phe i Tyr-Ala-Phe za pomocą rezonansu deuterowego

3. Badanie oddziaływania znakowanego izotopowo tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly z błoną fosfolipidową

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr Katarzyna Trzeciak-Karlikowska jest absolwentką Wydziału Fizyki i Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Stopień doktora nauk chemicznych nadany przez Radę Naukową Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi otrzymała w 2012 roku po obronie rozprawy doktorskiej zatytułowanej: „Badanie struktury i dynamiki peptydów opioidowych i ich analogów z wykorzystaniem spektroskopii NMR w ciele stałym i rentgenografii” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Marka J. Potrzebowskiego. Obecnie pracuje w Samodzielnej Pracowni Badań Strukturalnych CBMiM PAN, a Jej zainteresowania związane są z syntezą i badaniami strukturalnymi wybranych peptydów opioidowych, a także analizą ich oddziaływań z układami fosfolipidowymi z wykorzystaniem spektroskopii NMR.

ABSTRACT

Deltorphin I (Tyr-D-Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH₂) and dermorphin (Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH₂) are natural opioid peptides that have been isolated from the skin of South American frogs [1]. The presence of D-amino acid is crucial for their biological activity. The synthetic analogs of given heptapeptides containing L-alanine are not analgesics [2]. Analysis of the influence of stereochemistry on molecular packing, dynamics and biological functions of neuropeptides is still important for receptor studies and practical applications (e.g. design of new selective pain killers).

Presented research is focused on the structure and dynamics of two N-terminal sequences of dermorphin: tripeptide Tyr-D-Ala-Phe **1**, tetrapeptide Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2**, and their analogs with L-alanine: Tyr-Ala-Phe **3** and Tyr-Ala-Phe-Gly **4**, using solid state NMR and X-ray diffraction. This study clearly demonstrates that **1** and **2** crystallized under different conditions to form exclusively one structure [3, 4]. In contrast, tripeptide and tetrapeptide with L-Ala in the sequence very easily form different crystal modifications. Tyr-Ala-Phe **3** crystallizes into two forms: **3a** and **3b** [5], while Tyr-Ala-Phe-Gly **4** gives three modifications: **4a**, **4b** and **4c** [4]. It seems that one of the factors, which can be important in the preorganization mechanism anticipating the formation of crystals, is the intramolecular CH- π interaction between aromatic rings of tyrosine and/or phenylalanine and the methyl group of alanine. Such interaction is possible only for D-Ala residue. For L-Ala in the peptide sequence, the methyl group is aligned on the opposite side with respect at least to one of the aromatic groups. It can be further speculated that such internal CH- π contacts can also occur during the interaction of ligand-receptor, making the message sequence of opioid peptides more rigid and finally selective. By employing different NMR experiments (e.g. PISEMA MAS and PILGRIM) it was proven that the main skeleton of analyzed peptides is rigid, whereas significant differences in the molecular motion of the aromatic residues were observed [4, 6]. Solid state ²H NMR spectroscopy of samples with deuterium labeled aromatic rings: Tyr^{d4}-D-Ala-Phe **5**, Tyr-D-Ala-Phe^{d5} **6**, Tyr^{d4}-Ala-Phe **7**, Tyr-Ala-Phe^{d5} **8** was used to analyze the geometry and time scale of the molecular motion. At ambient temperature, the tyrosine ring of sample **5** is rigid and in the sample **6** the phenylalanine ring undergoes a „ π -flip”. The tyrosine rings of form I of **7** and **8** are static, while the phenylalanine rings of form II of **7** and **8** undergo a fast regime exchange [6]. Variable temperature ²H measurements proved that the tyrosine and phenylalanine rings of two forms of compounds **7** and **8** became more mobile with increasing temperature. In contrast, the aromatic rings of samples **5** and **6** preserve their dynamics regime (static tyrosine and „ π -flip” phenylalanine) in a large range of temperatures [6].

The analysis of ¹³C, ¹⁵N labeled tetrapeptide Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2'**-phospholipid membrane interactions suggests that peptide **2'** is aligned on the surface of the membrane (RFDR MAS) and the sandwich-like π -CH₃- π arrangement of the pharmacophore is preserved (DARR) [7].

Keywords: opioid peptides, CH- π interactions, molecular dynamics, peptide-phospholipid interaction, NMR spectroscopy, ¹H Ultra Fast MAS NMR, PISEMA MAS, PILGRIM, XRD

Słowa kluczowe: peptydy opioidowe, oddziaływanie CH- π , dynamika molekularna, oddziaływanie peptyd-fosfolipid, spektroskopia NMR, ¹H Ultra Fast MAS NMR, PISEMA MAS, PILGRIM, XRD

WPROWADZENIE

W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się badaniom aktywności biologicznej i aspektów strukturalnych peptydów opioidowych. Ogromne zainteresowanie tą grupą związków wynika głównie z ich właściwości analgetycznych i możliwości wykorzystania jako potencjalnych leków przeciwbólowych nowej generacji. „Typowe” peptydy opioidowe, podobnie jak klasyczne opiaty na czele z morfiną, nie wykazują wyraźnej specyficzności w stosunku do receptorów μ , δ , κ , co może być przyczyną występowania efektów ubocznych podczas ich stosowania. Bardziej wybiórcze okazały się dermorfina (Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH₂) oraz deltorfina I (Tyr-D-Ala-Phe-Asp-Val-Val-Gly-NH₂) i II (Tyr-D-Ala-Phe-Glu-Val-Val-Gly-NH₂), peptydy wyizolowane ze skóry południowoamerykańskich żab z rodzaju *Phyllomedusa* [1]. Obecność D-alaniny w strukturze jest elementem decydującym o ich aktywności biologicznej. Z badań wynika, że syntetyczne analogi zawierające L-alaninę są nieaktywne i bezużyteczne z punktu widzenia zastosowań farmakologicznych [2]. Pełne zrozumienie roli D-alaniny i jej wpływu na bioaktywną konformację neuropeptydów jest kluczowym zagadnieniem pozwalającym zrozumieć mechanizm oddziaływań ligand-receptor, a także „projektować” nowe leki o większej aktywności i selektywności.

Mając na uwadze fakt, że struktura krystaliczna powyższych peptydów nie została dotąd poznana, prace badawcze zmierzające do określenia współzależności struktury i aktywności biologicznej tych związków prowadzone były na ich krótszych fragmentach odpowiedzialnych za rozpoznanie oraz połączenie się z miejscem wiążącym receptora. W przedstawionym artykule omówione zostały badania struktury i dynamiki dwóch N-terminalnych fragmentów dermorfiny: tripeptydu Tyr-D-Ala-Phe i tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly oraz ich analogów z L-alaniną. Porównanie peptydów posiadających w sekwencji alaninę o przeciwnych konfiguracjach miało na celu wyjaśnienie wpływu stereochemii tego aminokwasu na konformację łańcucha, upakowanie molekularne w sieci krystalicznej, a w konsekwencji na dynamikę analizowanych układów. Do badań wykorzystano zaawansowane techniki spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym SS NMR (ang. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*) i rentgenografię XRD (ang. *X-Ray Diffraction*). Pomimo, że techniką SS NMR analizuje się układy sproszkowane, a w przypadku X-Ray są to badania monokryształu, komplementarność obu tych technik jest oczywista. NMR jest dobrą metodą śledzenia polimorfizmu, kontrolowania procesu krystalizacji, lokalnych zaburzeń uporządkowania materii, a także dynamiki cząsteczki. X-ray pozwala wyznaczyć wzajemne położenia atomów, a dodatkowo umożliwia lepszą interpretację wyników uzyskanych z pomiarów NMR.

Uzupełnieniem prezentowanych badań była analiza oddziaływań tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly zbudowanego ze znakowanych ¹³C i ¹⁵N aminokwasów z błoną fosfolipidową oraz próba wyznaczenia jego bioaktywnej konformacji w warunkach biomimetycznych i jej porównanie z konformacją zdefiniowaną metodami dyfrakto-

metrycznymi. Problem ten jest niezwykle ważny, ponieważ określenie w przypadku peptydów opioidowych ich bioaktywnej konformacji jest jednym z trudniejszych zadań współczesnej chemii strukturalnej. Wynika to przede wszystkim z braku dokładnych informacji strukturalnych o receptorach, z którymi oddziałują te peptydy, a w szczególności o ich stanach aktywnych.

1. BADANIA STRUKTURALNE

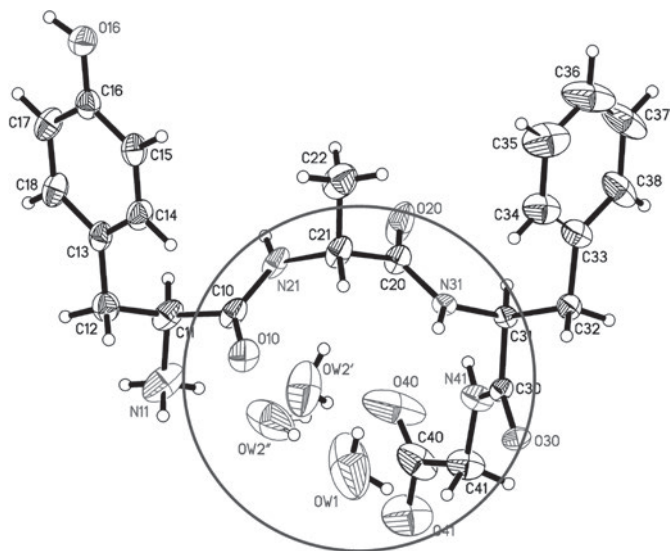
Otrzymano krystaliczną postać peptydów: Tyr-D-Ala-Phe **1**, Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2** oraz ich analogów z L-alaniną: Tyr-Ala-Phe **3**, Tyr-Ala-Phe-Gly **4**, dla których wykonane zostały badania z użyciem techniki SS NMR. Do analizy rentgenograficznej wykorzystano monokryształy peptydów **2**, **3** i **4**. Badania te dostarczyły informacji o geometrii molekularnej, a także o wewnątrz- i międzycząsteczkowych oddziaływaniach występujących w tych układach.

1.1. ANALIZA RENTGENOGRAFICZNA TRIPEPTYDU Tyr-Ala-Phe, TETRAPEPTYDU Tyr-D-Ala-Phe-Gly I JEGO ANALOGU Z L-ALANINĄ [4, 5]

Omawiając wyniki badań XRD warto zwrócić uwagę na dwa aspekty. W przypadku układów modelowych z D-alaniną otrzymywano zawsze jedną strukturę, bez względu na zastosowane warunki krystalizacji, podczas gdy tri- i tetrapeptydy posiadające w sekwencji enancjomer L mają tendencję do tworzenia różnych form krystalicznych. Wykryślizowano dwie formy tripeptydu Tyr-Ala-Phe **3** (**3a** i **3b**) oraz trzy formy peptydu Tyr-Ala-Phe-Gly **4** (**4a**, **4b** i **4c**).

Wartym podkreślenia jest również fakt, że istotnym elementem strukturalnym w peptydzie Tyr-D-Ala-Phe-Gly są słabe wewnątrzcząsteczkowe oddziaływania CH- π , utworzone pomiędzy grupą metylową D-alaniny a pierścieniami aromatycznymi tyrozyny i fenyloalaniny, pomimo „pseudocyklicznej” konformacji tego peptydu wymuszonej obecnością wiązań wodorowych między końcem aminowym i karboksylowym z zaangażowaniem cząsteczki wody (Rys. 1). Specyficzny układ typu „sandwich” (π -CH₃- π) występuje również w tripeptydzie Tyr-D-Ala-Phe, z tą tylko różnicą, że grupa metylowa alaniny znajduje się bliżej pierścienia aromatycznego tyrozyny, z którym tworzy jedno wewnątrzcząsteczkowe oddziaływanie CH- π [3]. Tego typu interakcje bardzo często występują w połączeniach peptydowych i pomimo ich niewielkiej energii mają wpływ na upakowanie przestrzenne atomów, jak również na dynamikę grup bocznych i konformacje tych związków, co zostanie zaprezentowane w dalszej części tego artykułu.

W peptydach Tyr-Ala-Phe i Tyr-Ala-Phe-Gly grupa metylowa znajduje się po przeciwnej stronie w stosunku do pierścieni aromatycznych tyrozyny i fenyloalaniny, w związku z czym nie tworzy z nimi wewnątrzcząsteczkowych, a jedynie międzycząsteczkowe kontakty CH- π .



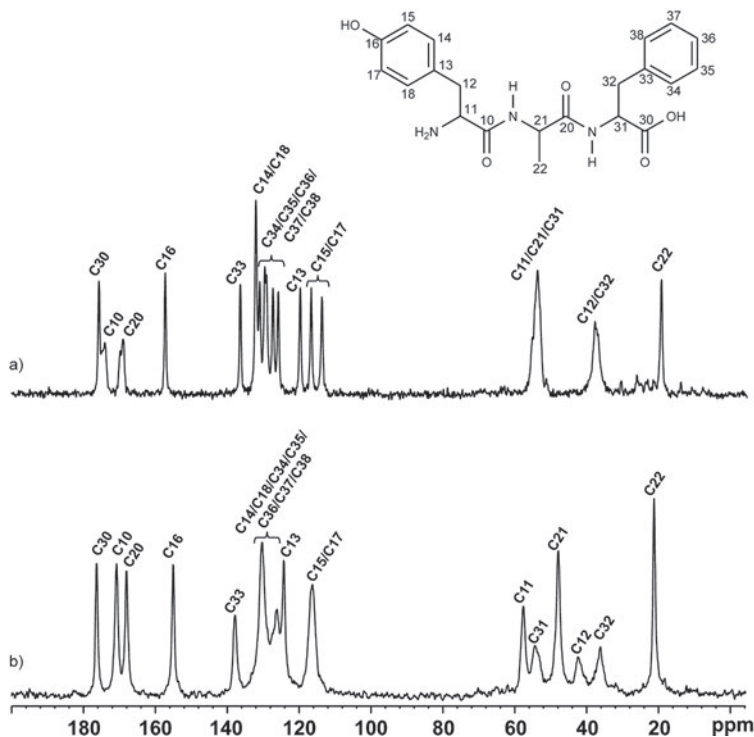
Rysunek 1. Struktura krystaliczna tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly 2 z widocznym układem typu „sandwich” (π -CH₃- π) oraz z zaznaczonym fragmentem „pseudocyklicznym” tworzącym się między końcem aminowym i karboksylowym z udziałem cząsteczki wody.

Figure 1. The crystal structure of Tyr-D-Ala-Phe-Gly 2 with shown „sandwich” system of (π -CH₃- π) type and the „pseudocyclic” fragment created between the N- and C-terminus groups involving water molecule

1.2. BADANIA TRIPEPTYDU Tyr-Ala-Phe ORAZ TETRAPEPTYDÓW Tyr-Ala-Phe-Gly I Tyr-D-Ala-Phe-Gly ZA POMOCĄ SPEKTROSKOPII NMR W CIELE STAŁYM [4, 5]

Rejestrując jednowymiarowe widma ¹³C CP-MAS (ang. *Cross-Polarization Magic Angle Spinning*) potwierdzono obecność dwóch form krystalicznych tripeptydu Tyr-Ala-Phe 3 (Rys. 2). Widać znaczące różnice pomiędzy formą 3a i 3b w obszarze alifatycznym, aromatycznym i karbonylowo/karboksylowym. Linie rezonansowe odpowiadające karbonylowym atomom węgla: tyrozyny – C10 i alaniny – C20 bezpośrednio związanych z atomami azotu ¹⁴N są rozszczepione w przypadku formy I. Wynika to z obecności resztkowego sprzężenia dipolowego ¹³C-¹⁴N, które nie jest uśredniane do zera w wyniku zastosowanej techniki MAS. W widmie formy 3a widoczne są trzy linie rezonansowe w zakresie 113–120 ppm, podczas gdy dla formy 3b występuje tylko jeden sygnał w tym zakresie przy 116,7 ppm. Poszerzenie sygnałów formy II wynika z obecności dwóch cząsteczek tego peptydu w asymetrycznej części komórki elementarnej. Potwierdza to wyniki badań rentgenograficznych i świadczy o komplementarności tych dwóch metod badawczych. Przypisania sygnałów rezonansowych na widmach ¹³C CP-MAS do struktury molekularnej peptydów 3a i 3b dokonano na podstawie eksperymentu Dipolar Dephasing i analizy wartości głównych elementów tensora przesunięcia chemicznego,

wyznaczonych z eksperymentu 2D PASS (ang. *Phase-Adjusted Spinning Sidebands*). W oparciu o analizę mocy wiązań wodorowych, uzyskanych z pomiarów XRD, różniono sygnały rezonansowe karbonylowych i karboksylowych atomów węgla.



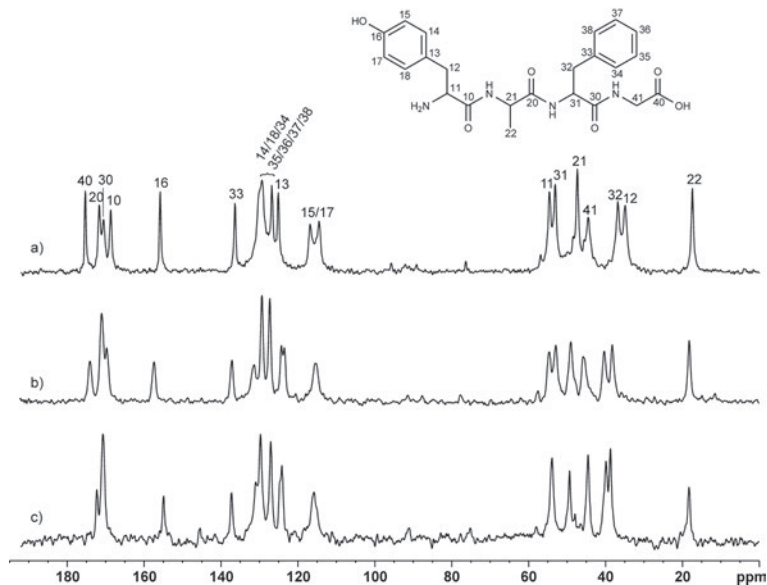
Rysunek 2. Widma ^{13}C CP-MAS dwóch form tripeptydu Tyr-Ala-Phe **3** zarejestrowane w temperaturze pokojowej, przy prędkości rotacji 8 kHz wraz z przypisaniami sygnałów rezonansowych: a) forma **3a**, b) forma **3b**

Figure 2. ^{13}C CP-MAS spectra of two forms of tripeptide Tyr-Ala-Phe **3** recorded at room temperature with a spinning rate of 8 kHz and the assignment of ^{13}C resonance signals: a) form **3a**, b) form **3b**

Podobne podejście metodologiczne, jak w przypadku struktur **3a** i **3b**, zastosowano dla tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2** i dwóch form Tyr-Ala-Phe-Gly – **4a** i **4b**, dla których wykonano widma ^1H Ultra Fast (UF) MAS, jak również ^{13}C CP-MAS. Do badań wykorzystano tylko układy **4a** i **4b**, ponieważ nie udało się wykrystalizować formy **4c** w ilości wystarczającej do pomiarów NMR.

Porównując widma ^{13}C CP-MAS tetrapeptydów **2** i **4** (Rys. 3) można wnioskować, że pomimo takiej samej sekwencji aminokwasowej tych związków, obecność alaniny o konfiguracji D w łańcuchu peptydowym ma istotny wpływ na strukturę krystaliczną, upakowanie molekularne i dynamikę grup bocznych. Linie rezonansowe znajdujące się w obszarze karboksylowo/karbonylowym są lepiej rozdzielone na widmie peptydu **2** w porównaniu z peptydem **4**, w przypadku którego widoczne jest ich nałożenie i poszerzenie. Z kolei sygnały rezonansowe pocho-

dzące od atomów C15 i C17 pierścienia aromatycznego tyrozyny zarówno dla formy **4a**, jak i **4b** są uśrednione. Koalescencja ta nie występuje w przypadku peptydu **2**, w widmie którego obecne są dwa sygnały znajdujące się w zakresie 110–120 ppm. Sugeruje to, że aromatyczne pierścienie tych związków podlegają odmiennym procesom dynamicznym, wynikającym najprawdopodobniej z obecności wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań CH- π w peptydzie Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2**, których istnienie wykazała analiza XRD. Niewielkie różnice w kształcie linii rezonansowych i ich przesunięciach chemicznych analizowanych peptydów widać również w rejonie alifatycznym (15–60 ppm).

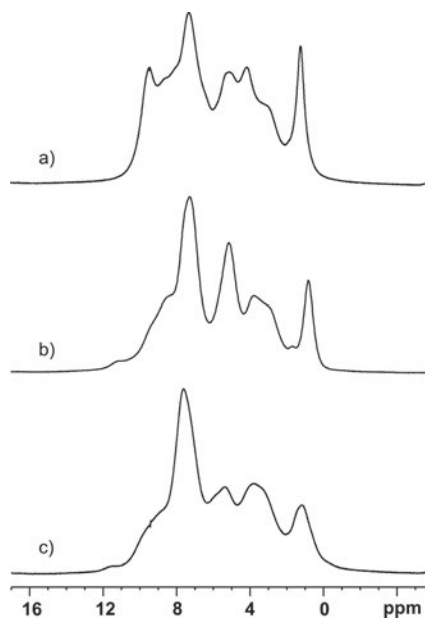


Rysunek 3. Widma ^{13}C CP-MAS tetrapeptydów zarejestrowane w temperaturze pokojowej przy prędkości rotacji 8 kHz a) Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2** wraz z przypisaniami sygnałów rezonansowych do struktury molekularnej zaprezentowanej powyżej widm, b) forma **4a**, c) forma **4b**

Figure 3. ^{13}C CP-MAS spectra of tetrapeptides recorded at room temperature with a spinning rate of 8 kHz: a) Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2** with the assignment of ^{13}C resonance signals to molecular structure shown above spectra b) form **4a**, c) form **4b**

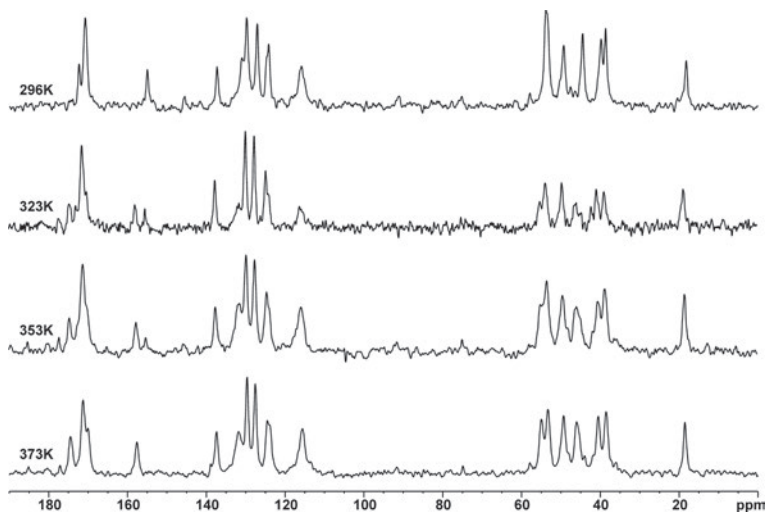
Różnice świadczące o odmiennych strukturach krystalicznych peptydów **2** i **4** można zauważyć także na widmach ^1H UF MAS wykonanych przy prędkości rotacji 60 kHz (Rys. 4). Linie rezonansowe tetrapeptydu **2** są relatywnie ostre i lepiej rozdzielone w porównaniu z sygnałami pochodzącymi od form **4a** i **4b**. Widoczną różnicą pomiędzy nimi jest obecność intensywnego sygnału na widmie przy $\delta_{\text{izo}} = 5,0$ ppm dla formy **4b** w stosunku do formy **4a**, pochodzącego od cząsteczek wody obecnych w sieci krystalicznej (Rys. 4b i c). Interesującym jest fakt, że intensywność tego sygnału zmniejsza się stopniowo podczas przechowywania próbki w temperaturze pokojowej, w konsekwencji czego po pewnym czasie widmo formy **4b** jest takie samo w porównaniu z widmem formy **4a**. Tą transfor-

mację lepiej przedstawiają widma ^{13}C CP-MAS wykonane w zakresie temperatur 296–373 K (Rys. 5). Najbardziej diagnostyczny obszar, pokazujący etapy przejścia jednej formy w drugą, znajduje się w zakresie 150–160 ppm (atom węgla C16). W temperaturze 323 K w tym rejonie widoczne są już dwa sygnały rezonansowe o porównywalnej intensywności, co wskazuje na obecność zarówno formy **4b**, jak i **4a** tetrapeptydu **4**. Podnosząc temperaturę o 30 K stosunek wielkości sygnałów obu form w próbce zmienia się na korzyść formy **4a** ($\delta_{\text{izo}} = 157,7$ ppm). Natomiast w 373 K jest już obecna tylko struktura **4a**. W podobny sposób wizualizują ten proces sygnały atomów karbonylowo/karboksylowych (165–180 ppm) i alifatycznych (42–60 ppm). Tego typu przemiana jest wynikiem powolnego uwalniania cząsteczek wody z sieci krystalicznej formy **4b**, co wskazywał wcześniejszy eksperyment ^1H UF MAS. Interesującym jest, że po ochłodzeniu wcześniej ogrzanej próbki nie obserwowano powrotu do wyjściowej formy **4a**. Ponadto próba ponownego dyfuzyjnego wprowadzenia wody do sieci krystalicznej nie powiodła się, co jest kolejnym dowodem na nieodwracalność tego procesu.



Rysunek 4. Widma ^1H UF MAS tetrapeptydów zarejestrowane w temperaturze pokojowej przy prędkości rotacji 60 kHz: a) Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2**, b) forma **4a**, c) forma **4b**

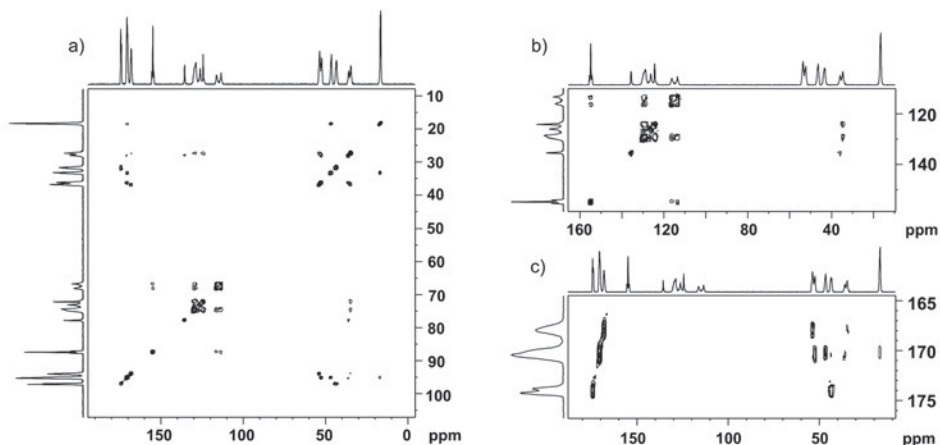
Figure 4. ^1H UF MAS NMR spectra of tetrapeptides recorded at room temperature with a spinning rate of 60 kHz: a) Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2**, b) form **4a**, c) form **4b**



Rysunek 5. Widma ^{13}C CP-MAS formy **4b** zarejestrowane w zakresie temperatur 296–373 K przy prędkości rotacji 8 kHz

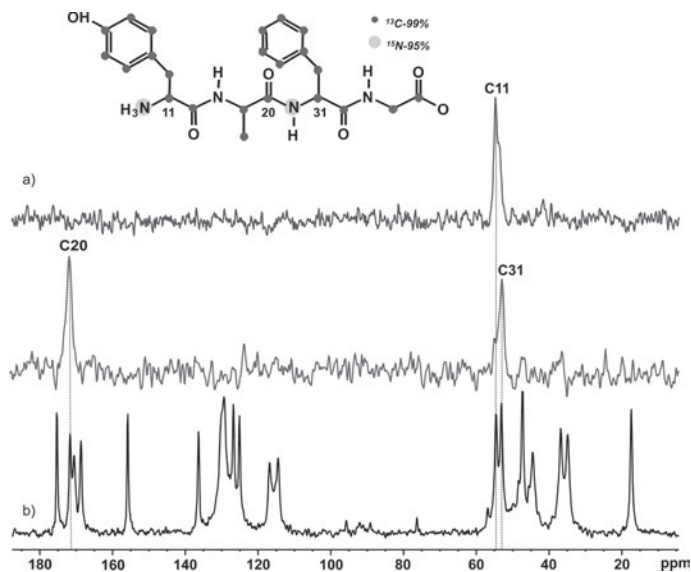
Figure 5. ^{13}C CP-MAS spectra of form **4b** recorded at temperature range 296–373 K with a spinning rate of 8 kHz

Przypisan strukturalnych tetrapeptydu **2** dokonano na podstawie homo- i heterojądrowych eksperymentów w ciele stałym. Najbardziej diagnostycznym z nich okazał się eksperyment ^{13}C - ^{13}C DARR (ang. *Dipolar-Assisted Rotational Resonance*) [8], wykonany z użyciem mieszaniny (9:1, m/m) związku **2** i tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly **2'** znakowanego izotopami ^{13}C i ^{15}N , którego syntezę zaplanowano w kontekście badań z układami fosfolipidowymi (Rys. 6). Niemniej jednak ze względu na nałożenie sygnałów rezonansowych karbonylowych atomów węgla alaniny – C20 i fenyloalaniny – C30, konieczne było zastosowanie innego podejścia eksperymentalnego pozwalającego na ich jednoznaczne rozróżnienie. Użyto tu eksperymentu wykorzystującego podwójną polaryzację skrośną ^1H - ^{15}N - ^{13}C DCP MAS (ang. *Double Cross-Polarization*) [9]. Polega on na przeniesieniu polaryzacji z jąder ^1H na ^{15}N podczas pierwszego transferu, a w drugim – z jąder ^{15}N na ^{13}C , w konsekwencji czego otrzymuje się widmo jednowymiarowe 1D ^{13}C lub 2D ^{13}C - ^{15}N . Tego typu widma wykonane z użyciem mieszaniny peptydów **2** i **2'** przedstawione są na Rysunkach 7 i 8.



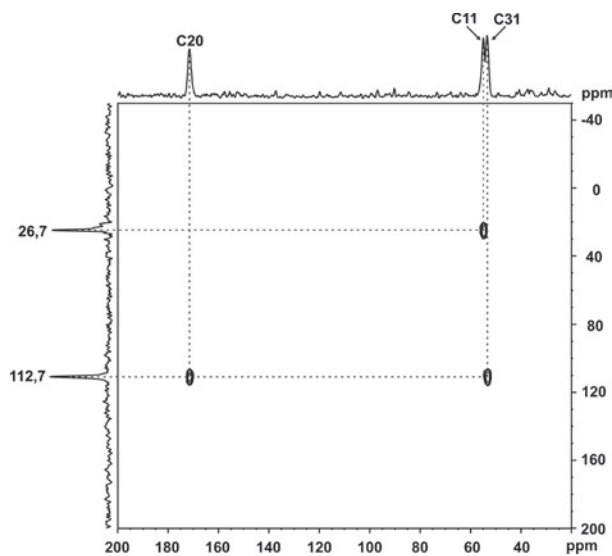
Rysunek 6. Widma 2D ^{13}C - ^{13}C DARR mieszaniny peptydów **2** i **2'** zarejestrowane z prędkością rotacji 20 kHz i czasem mieszania równym 32 ms: a) widmo 2D DARR w pełnym zakresie, b) obszar aromatyczny w projekcji F1 widma, c) obszar karbonylowo/karboxylowy w projekcji F1 widma

Figure 6. ^{13}C - ^{13}C DARR spectra of peptides **2** and **2'** mixture recorded with a spinning rate of 20 kHz and mixing time equal to 32 ms: a) 2D DARR spectrum, b) the aromatic region of F1 projection, c) the carbonyl/carboxyl region of F1 projection



Rysunek 7. Widma ^{13}C : a) DCP-MAS mieszaniny peptydów **2** i **2'**; pierwsze widmo przedstawia sygnał atomu węgla C11 połączonego z amoniowym atomem azotu tyrozyny, a drugie – sygnały rezonansowe atomów węgla C20 i C31 związanych z amidowym atomem azotu fenylalaniny, b) CP-MAS tetrapeptydu **2**

Figure 7. ^{13}C spectra: a) DCP-MAS of peptides **2** and **2'** mixture; the first spectrum show the signal of C11 carbon atom bonded to ammonium nitrogen atom of tyrosine, and the second spectrum – resonance signals of C20 and C31 carbon atoms bonded to amide nitrogen atom of phenylalanine, b) CP-MAS of tetrapeptide **2**



Rysunek 8. Widmo ^{13}C - ^{15}N DCP-MAS mieszaniny peptydów **2** i **2'**; korelacja atomu azotu: ^{15}N grupy amoniowej – 26,7 ppm i ^{15}N grupy amidowej fenyloalaniny – 112,7 ppm

Figure 8. ^{13}C - ^{15}N DCP-MAS spectrum of peptides **2** and **2'** mixture; the correlation of: ^{15}N nitrogen atom of ammonium group of phenylalanine – 26,7 ppm and ^{15}N nitrogen atom of amide group of phenylalanine – 112,7 ppm

2. BADANIA DYNAMIKI MOLEKULARNEJ Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII NMR W CIELE STAŁYM

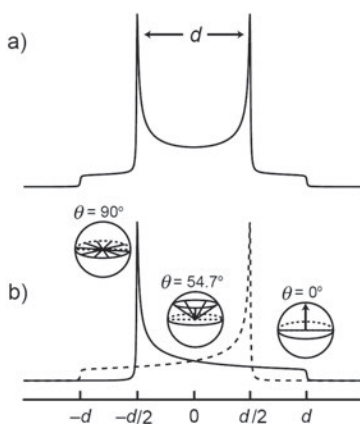
Problem dynamiki molekularnej jest szczególnie istotny podczas analizy układów w warunkach fizjologicznych, czyli w temperaturach ok. 37°C. Dzisiaj standardem w badaniach rentgenograficznych są badania niskotemperaturowe, tak też zostały wykonane pomiary X-Ray prezentowanych peptydów. Jednak w przypadku wykorzystywania struktur rentgenograficznych jako układy odniesienia do badań modelowych peptyd-receptor, procesy dynamiczne muszą być w jakimś stopniu rozpoznane.

Spektroskopia NMR oferuje kilka metod pozwalających badać dynamikę molekularną w ciele stałym: pomiary czasów relaksacji ^{13}C $T_{1\rho}$, ^{13}C $T_{1\rho}$, analiza profili polaryzacji skrośnej, głównych elementów tensora i kształtu linii widma jądra deuteru. Wszystkie te podejścia, wykazujące zróżnicowanie procesów dynamicznych pierścieni aromatycznych tyrozyny i fenyloalaniny w badanych peptydach, zastosowano w ramach prezentowanej rozprawy doktorskiej. Jednak w artykule przedstawione zostaną jedynie wyniki badań uzyskane za pomocą rezonansu deuterowego oraz technik „recouplingowych” PISEMA (ang. *Polarization Inversion Spin Exchange at the Magic Angle*) [10] i PILGRIM (ang. *Phase-Inverted LG Recoupling under MAS*) [11], które nie były wcześniej wykonywane w Samodzielnej Pracowni Badań Struk-

turalnych, ani w żadnym laboratorium w Polsce. Czytelnik zainteresowany głębszą analizą prezentowanej tematyki bez trudu dotrze do prac oryginalnych cytowanych w tym artykule.

2.1. ZASTOSOWANIE EKSPERYMENTÓW PILGRIM I PISEMA MAS W BADANIACH DYNAMIKI N-TERMINALNYCH SEKWENCJI DERMORFINY Z L- I D-ALANINĄ [4, 6]

Wirowanie próbki pod kątem magicznym eliminuje lub redukuje sprzężenia dipolowe, co w konsekwencji prowadzi do utraty wielu cennych informacji na temat struktury i dynamiki cząsteczek. W celu odzyskania (ang. *recoupling*) tych informacji stosuje się odpowiednie sekwencje impulsowe, które są zaprojektowane w taki sposób, aby w czasie eksperymentu „przywrócić” sprzężenia pomiędzy oddziaływującymi spinami jądrowymi. Spośród wielu sekwencji „recouplingowych” na szczególną uwagę zasługują LG-CP, PISEMA czy PILGRIM, od pewnego czasu wykorzystywane w badaniach ruchów molekularnych biomolekuł w ciele stałym.

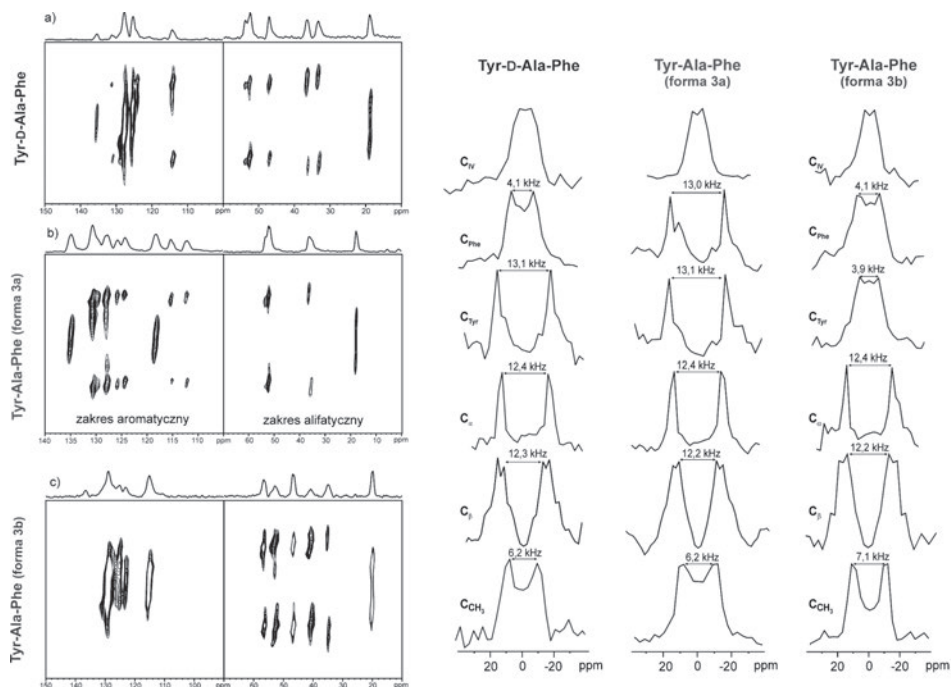


Rysunek 9. a) Dipolowy dublet Pake'a dla sprzężonej pary spinów (I-S) w polikrystalicznej próbce; odległość pomiędzy wierzchołkami dubletu d jest równa stałej sprzężenia dipolowego; b) wierzchołki dubletu odpowiadają sytuacji kiedy wektor I-S jest prostopadły ($\theta = 90^\circ$) oraz równoległy ($\theta = 0^\circ$) do wektora zewnętrznego pola magnetycznego (B_0); w przypadku kiedy wektor I-S jest zorientowany pod kątem $\theta = 54,7^\circ$ do wektora B_0 sprzężenie dipolowe jest równe zero i nie ma wpływu na częstotliwość rezonansową [12]

Figure 9. a) Dipolar Pake pattern for two coupled spins (I-S) in a polycrystalline powder sample; the spacing between the points of maximum intensity d is equal to the dipolar coupling constant; b) the points with maximum intensity corresponds to the case where vector I-S is perpendicular ($\theta = 90^\circ$) and parallel ($\theta = 0^\circ$) to B_0 ; when the vector I-S is oriented to the vector B_0 at $\theta = 54,7^\circ$ angle, the dipolar coupling is zero and does not influence on the resonance frequency [12]

W wyniku heterojądrowego sprzężenia dipolowego otrzymuje się charakterystyczny kształt linii rezonansowej nazywany dubletem Pake'a (Rys. 9) [12]. Odległość pomiędzy maksimami w tym dublecie jest równa stałej sprzężenia dipolowego – d . Typowa wartość stałej d dla izolowanej i statycznej pary spinów ^1H - ^{13}C , w której

jądra oddalone są o 1,09 Å, wynosi 22,7 kHz. W eksperymentach PISEMA MAS i PILGRIM kształt linii widmowej przypomina klasyczny dublet Pake'a, a rozszczenie w dublecie dipolowym dla układów statycznych jest równe 13,1 kHz. Jednak ze względu na to, że ruchy molekularne redukują sprzężenie dipolowe, odległość w dublecie i jego kształt mogą ulec zmianie, co wykazano na przykładzie analizowanych układów peptydowych.

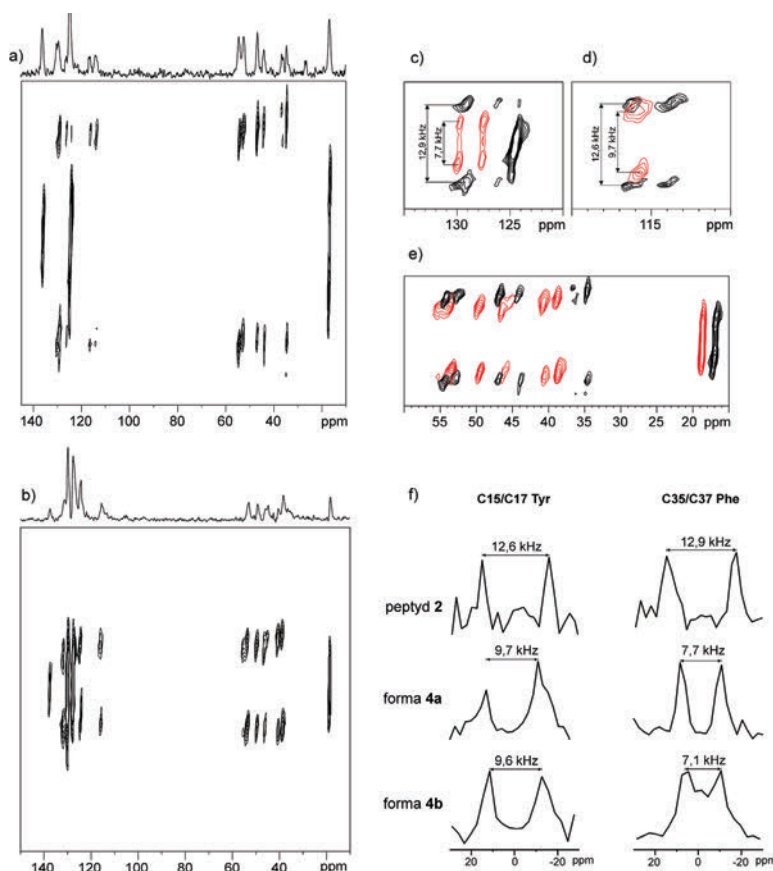


Rysunek 10. Zakres alifatyczny (10–60 ppm) i aromatyczny (105–150 ppm) widm 2D PISEMA MAS zarejestrowanych w temperaturze pokojowej z prędkością rotacji równą 13 kHz oraz projekcje F1 tripeptydów Tyr-D-Ala-Phe **1** i Tyr-Ala-Phe **3**

Figure 10. The aliphatic (10–60 ppm) and the aromatic region (105–150 ppm) of 2D PISEMA MAS spectrum recorded with a spinning rate of 13 kHz and F1 projection of tripeptide Tyr-D-Ala-Phe **1** and Tyr-Ala-Phe **3**

W przypadku tripeptydów z D- i L-alaniną zastosowana została sekwencja PISEMA MAS. Analiza dwuwymiarowych widm korelujących przesunięcia chemiczne jąder ^{13}C ze sprzężeniem dipolowym ^1H - ^{13}C , a także projekcji F1 (Rys. 10), odzwierciedlających heterojądrowy dublet dipolowy wykazała, że pierścień tyrozyny tripeptydu **1** jest nieruchomy ($d = 13,1$ kHz), podczas gdy pierścień fenyloalaniny ulega szybkim ruchom ($d = 4,1$ kHz). Z kolei oba pierścienie formy **3a** tripeptydu **3** są statyczne, o czym świadczą wartości d dubletu, wynoszące dla tyrozyny i fenyloalaniny, odpowiednio, 13,1 kHz i 13,0 kHz. Fragmenty aromatyczne formy **3b** w przeciwieństwie do formy **3a** charakteryzują się znaczną dynamiką, co obrazują odległości pomiędzy wierzchołkami dubletu równe 4,1 kHz dla fenyloalaniny

i 3,9 kHz dla tyrozyny. Grupa metylowa alaniny we wszystkich analizowanych powyżej układach krystalicznych charakteryzuje się dynamiką o nieznacznie różniącą się częstotliwości, czego wynikiem są wartości d wynoszące dla tripeptydu **1** i formy **3a** 6,2 kHz, a dla formy **3b** 7,1 kHz. Zastosowany eksperyment, oprócz wglądu w dynamikę aromatycznych grup bocznych, umożliwia także analizę ruchów atomów C_α i C_β , które jak przedstawia Rysunek 10 charakteryzują się wartościami d odpowiadającymi układowi statycznemu ($d = 12,2$ – $12,4$ kHz).



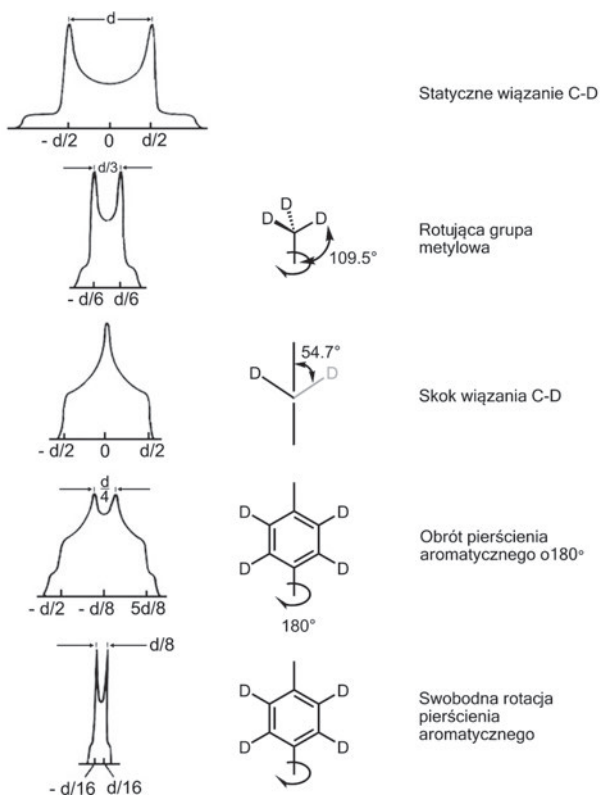
Rysunek 11. Widma 2D PILGRIM zarejestrowane w temperaturze pokojowej z prędkością rotacji równą 13 kHz: a) tetrapeptydu **2**, b) formy **4a**; porównanie obszarów: c) aromatycznych atomów pierścienia fenylalaniny, d) aromatycznych atomów pierścienia tyrozyny, e) alifatycznych peptydu **2** (kolor czarny) i formy **4b** (kolor czerwony), f) projekcje F1 dla wybranych atomów węgla tetrapeptydu **2**, formy **4a** i **4b**

Figure 11. 2D PILGRIM spectra recorded at room temperature with a spinning rate of 13 kHz: a) tetrapeptide **2**, b) form **4a**; comparison of regions: c) aromatic – phenylalanine ring, d) aromatic – tyrosine ring, e) aliphatic – peptide **2** (black) and form **4b** (red), f) F1 projection for selected carbon atoms of tetrapeptide **2**, form **4a** and **4b**

Analiza porównawcza dwuwymiarowych widm PILGRIM i projekcji F1 wykazała, że pierścienie tyrozyny i fenyloalaniny tetrapeptydu **2** są statyczne, co potwierdzają wartości odległości pomiędzy wierzchołkami dubletu dipolowego, wynoszące, odpowiednio, 12,6 kHz i 12,9 kHz, jak również badania XRD. Wartości d dubletu dipolowego dla atomów węgla pierścieni fenyloalaniny form **4a** i **4b**, wynoszące, odpowiednio, 7,7 kHz i 7,1 kHz, wskazują na ruch typu „ π -flip”, co udowodniła również Hong i współpracownicy na przykładzie wolnej fenyloalaniny [11]. Z kolei odległości d dla atomów węgla pierścieni tyrozyny form **4a** i **4b** przyjmują wartość pośrednią (odpowiednio 9,7 kHz i 9,6 kHz), która sugeruje obecność niewielkich drgań tych grup, ale wyklucza obrót typu „ π -flip”.

2.2. BADANIE DYNAMIKI PIERŚCIENI AROMATYCZNYCH SELEKTYWNIE ZNAKOWANYCH TRIPEPTYDÓW Tyr-D-Ala-Phe I Tyr-Ala-Phe ZA POMOCĄ REZONANSU DEUTEROWEGO [6]

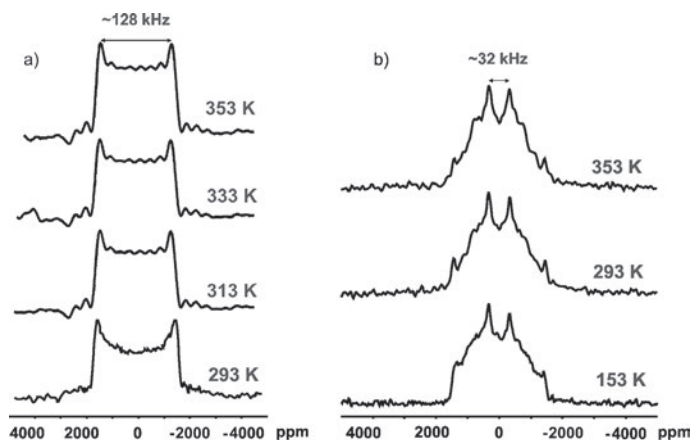
Uzupełnieniem badań procesów dynamicznych zachodzących w cząsteczkach modelowych peptydów w fazie stałej było zastosowanie spektroskopii magnetycznego rezonansu jądra deuteru. Zaletą tej metody jest fakt, że widmo deuterowe jest zazwyczaj proste i odzwierciedla zachowanie tylko wiązań C-²H. Dodatkowym atutem tej techniki jest stosunkowo krótki czas rejestracji widma statycznego, ponieważ oddziaływania kwadrupolowe w znakomity sposób przyspieszają relaksację. Pomimo tego, że statyczne widma ²H NMR charakteryzują się szeroką linią rezonansową, analiza ich kształtu dostarcza szczegółowych informacji o rodzaju ruchu wybranych fragmentów cząsteczki (Rys. 12), a także o zakresie jego częstotliwości (10^3 – 10^6 Hz). W przypadku układu statycznego kształt linii odpowiada typowemu dubletowi kwadrupolowemu, w którym odległość pomiędzy wierzchołkami d wynosi 128 kHz. W miarę zwiększania częstotliwości ruchów kształt tego dubletu ulega zmianie, a odległość pomiędzy jego wierzchołkami zmniejsza się. W sytuacji gdy pierścień aromatyczny podlega obrotowi o 180° odległość między wierzchołkami jest równa 1/4 odległości dla układu statycznego, natomiast podczas swobodnej rotacji pierścienia fenylowego wokół osi 1,4 – wynosi 1/8 d .



Rysunek 12. Teoretyczne kształty linii widma deuterowego dla różnych typów ruchu analizowanego układu [13]

Figure 12. The theoretical line shapes of deuterium spectrum for variety type of motion of analyzed structure [13]

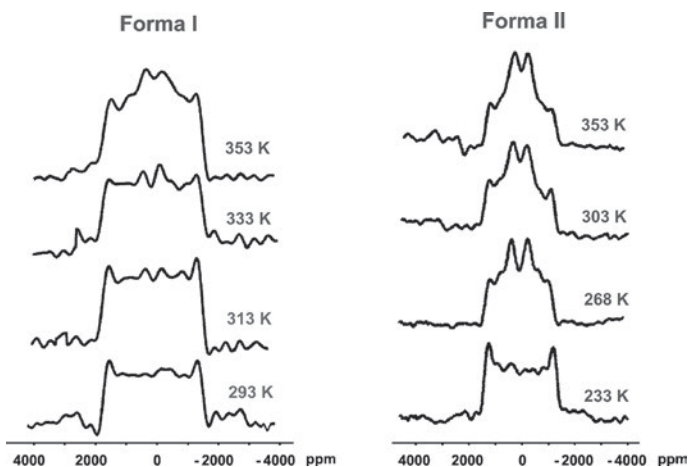
Układy modelowe: Tyr^{d4}-D-Ala-Phe **5**, Tyr-D-Ala-Phe^{d5} **6**, Tyr^{d4}-Ala-Phe **7**, Tyr-Ala-Phe^{d5} **8** posłużyły do wykonania pomiarów z wykorzystaniem sekwencji echa kwadrupolowego bez rotacji próbki oraz analizy kształtu linii w funkcji temperatury. Statyczne widma ²H NMR tripeptydów **5** i **6** zaprezentowane na Rysunku 13 pokazują, że pierścień tyrozyny nie ulega procesom dynamicznym. Kształt linii odpowiada typowemu dubletowi kwadrupolowemu, w którym odległość pomiędzy wierzchołkami wynosi około 128 kHz. Z kolei pierścień fenyloalaniny obraca się o 180° wokół osi 1,4 w bardzo szerokim zakresie temperatur (153–353 K), co potwierdza kształt linii charakterystyczny dla tego typu ruchu.



Rysunek 13. Widma ^2H QUADECHO tripeptydów: a) Tyr d4 -D-Ala-Phe 5 zarejestrowane w zakresie temperatur 293 - 353 K i b) Tyr-D-Ala-Phe d5 6 zarejestrowane w zakresie temperatur 153–353 K

Figure 13. ^2H QUADECHO spectra of tripeptides: a) Tyr d4 -D-Ala-Phe 5 recorded at temperature range 293–353 K and b) Tyr-D-Ala-Phe d5 6 recorded at temperature range 153–353 K

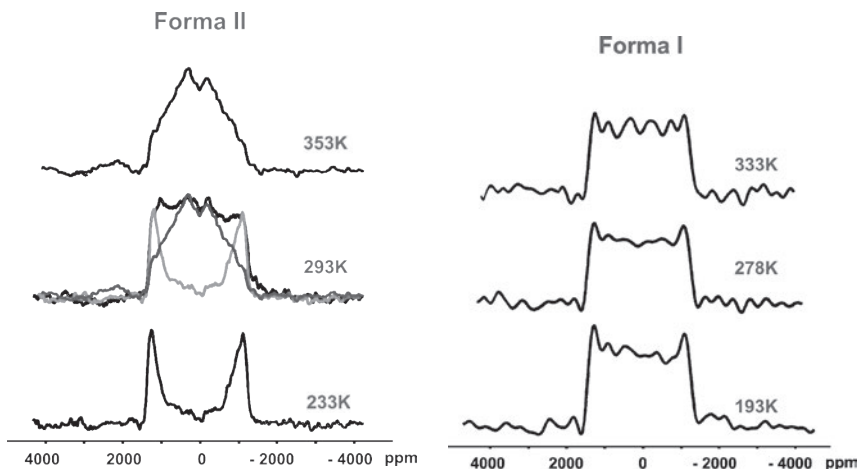
Z pomiarów „solid echo” dwóch form tripeptydu 7 wykonanych w kilku temperaturach wynika, że pierścień tyrozyny formy I jest statyczny w temperaturze 293 K, jednak wraz z jej wzrostem zwiększa się jego dynamika (Rys. 14). Bardziej oczywista jest sytuacja w przypadku formy II. Jak wynika z kształtu linii w temperaturze 233 K pierścień nie podlega procesom dynamicznym, natomiast już w temperaturze 268 K i wyższej zaczyna obracać się o 180° wokół osi 1,4 (Rys. 14).



Rysunek 14. Widma ^2H QUADECHO dwóch form tripeptydu Tyr d4 -Ala-Phe 7, zarejestrowane w zakresie temperatur 233–353 K

Figure 14. ^2H QUADECHO spectra of two forms of tripeptide Tyr d4 -Ala-Phe 7 recorded at temperature range 233–353 K

Z analizy kształtu linii statycznych widm ^2H NMR dwóch form tripeptydu **8** przedstawionych na Rysunku 15 wynika, że pierścień tyrozyny formy I nie podlega procesom dynamicznym w analizowanym zakresie temperatur (nieznaczne drgania tego fragmentu cząsteczki pojawiają się w temperaturze 333 K). W przypadku formy II pierścień fenyloalaniny w temperaturze 233 K jest statyczny. Wykonując pomiar w temperaturze 293 K obserwuje się kształt linii powstały w wyniku nałożenia linii rezonansowych odpowiadających statycznej i rotującej grupie fenylowej. Jak wynika z badań XRD w asymetrycznej części komórki elementarnej znajdują się dwie cząsteczki peptydu **3**. Można zatem wnioskować, że dwie nierównocenne magnetycznie cząsteczki posiadają odmienną dynamikę w ciele stałym: w 293 K jeden z pierścieni fenylowych wykonuje obroty o 180° , a drugi jest statyczny. W temperaturze 353 K oba pierścienie zaczynają rotować, co potwierdza jednoznacznie kształt linii widma deuterowego (Rys. 15). Taki przypadek jest znany. Sparks i współpracownicy udowodnili zróżnicowaną dynamikę łańcucha bocznego dwóch molekuł metioniny przy użyciu rezonansu deuterowego [14].



Rysunek 15. Widma ^2H QUAEDECHO dwóch form tripeptydu Tyr-Ala-Phe⁴⁵ **8**, zarejestrowane w zakresie temperatur 193–353 K

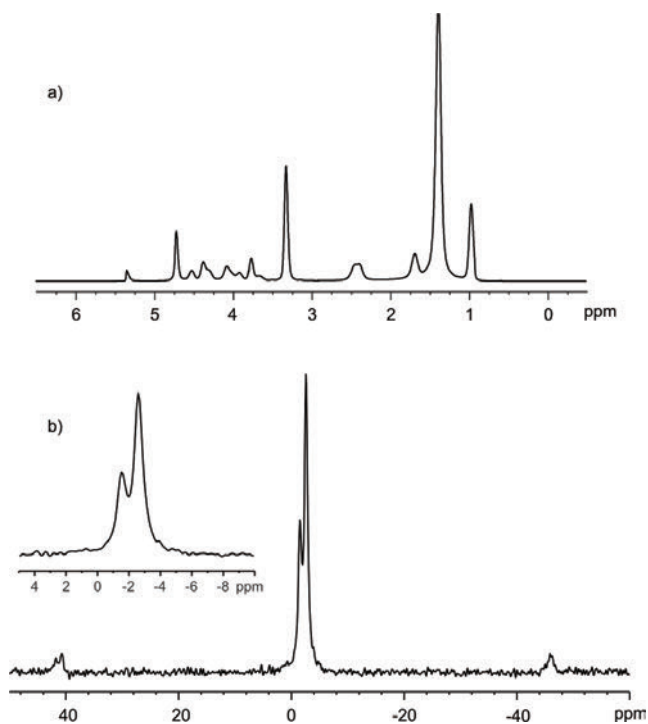
Figure 15. ^2H QUAEDECHO spectra of two forms of tripeptide Tyr-Ala-Phe⁴⁵ **8** recorded at temperature range 233–353 K

3. BADANIE ODDZIAŁYWANIA ZNAKOWANEGO IZOTOPOWO TETRAPEPTYDU Tyr-D-Ala-Phe-Gly Z BŁONĄ FOSFOLIPIDOWĄ [7]

Ostatni etap prezentowanej pracy doktorskiej dotyczył poszukiwania odpowiedniej metodologii umożliwiającej wyznaczenie konformacji i lokalizacji N-terminalnej sekwencji dermorfiny – tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly w środowisku biomimetycznym, które stanowiła błona fosfolipidowa. Zdefiniowanie konformacji aktywnej w przypadku peptydów opioidowych w układach białek mem-

branowych, do których należą receptory opioidowe, nie jest zadaniem łatwym, z powodu trudności z krystalizacją receptorów GPCR. W związku z tym coraz częściej prace badawcze zmierzające do określenia konformacji tych związków prowadzone są środowisku najlepiej imitującym naturalne warunki w komórce, czyli w obecności błon fosfolipidowych, które, jak wynika z doniesień literaturowych, w kontakcie z peptydem wymuszają jego bioaktywną konformację.

W pierwszej kolejności został przygotowany odpowiedni układ biomimetyczny, składający się z mieszaniny fosfolipidów DMPC i DMPG w stosunku 10:3. Skład takiego modelu błony wybrano na podstawie doniesień literaturowych, z których wynika, że taka kompozycja fosfolipidów jest optymalna do badania oddziaływań z peptydami posiadającymi aromatyczne i alifatyczne reszty aminokwasowe [15]. Charakterystyki tego układu dokonano na podstawie widm protonowych i fosforowych wykonanych techniką HR MAS (ang. *High Resolution Magic Angle Spinning*) (Rys. 16).

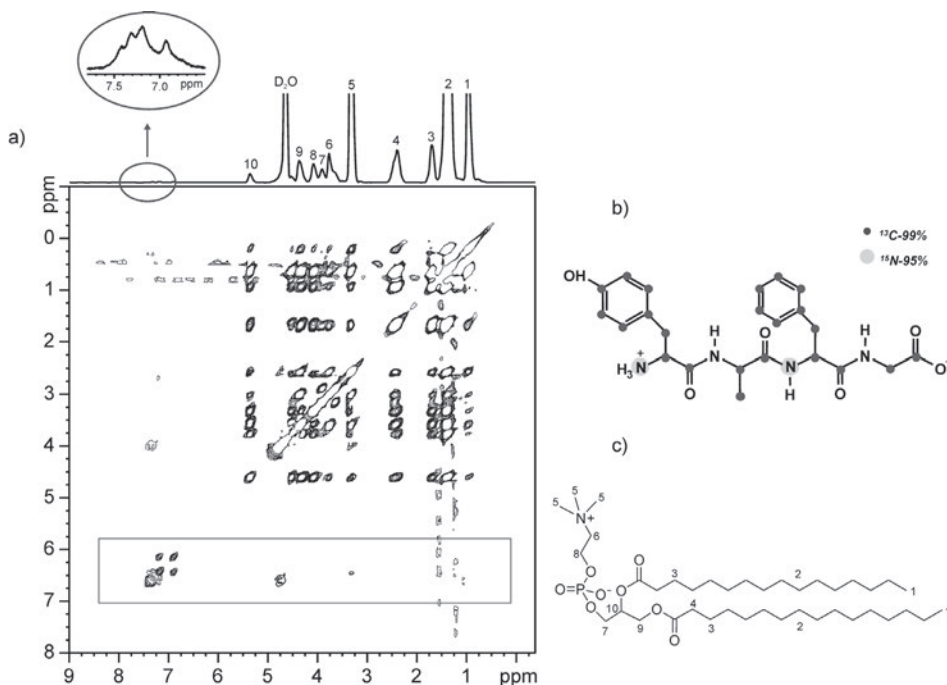


Rysunek 16. Widma: a) ^1H HR MAS NMR membrany DMPC : DMPG (10:3) zarejestrowane z prędkością rotacji 5 kHz, w temperaturze 303 K, b) ^{31}P HR MAS NMR zarejestrowane z prędkością rotacji 7 kHz, w temperaturze 273 K

Figure 16. The spectra: a) ^1H HR MAS NMR of DMPC : DMPG (10:3) membrane recorded with a spinning rate of 5 kHz at 303 K, b) ^{31}P HR MAS NMR recorded with a spinning rate of 7 kHz at 273 K

Następnie w przygotowanej błonie umieszczono znakowany izotopowo peptyd 2^7 w celu określenia jego lokalizacji i konformacji. Jednym z eksperymentów

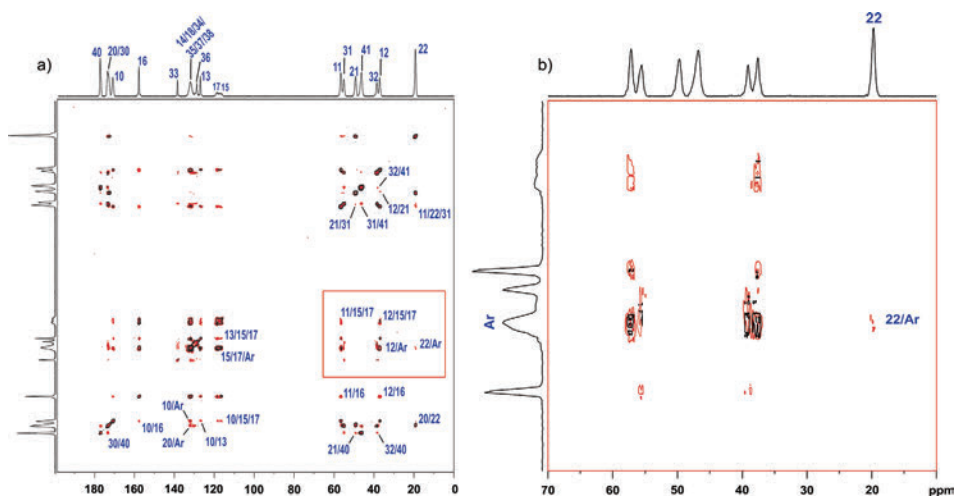
umożliwiających tego typu badania jest ^1H - ^1H RFDR MAS (ang. *Radio Frequency Driven Dipolar Recoupling*), który jest modyfikacją klasycznego eksperymentu NOESY (ang. *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*), polegającą na wprowadzeniu serii impulsów π zsynchronizowanych z prędkością rotora [16]. Zastosowanie tych dodatkowych impulsów przyspiesza komunikację spinów, zwiększając intensywność pików korelacyjnych i skracając czas pomiaru. Widmo RFDR MAS układu DMPC:DMPG:peptyd **2'** zawiera intensywne sygnały pochodzące od protonów fosfolipidów (Rys. 17). Dodatkowo zaobserwować można piki korelacyjne od protonów aromatycznych tetrapeptydu. Niestety, ze względu na niewielką ilość tego peptydu w układzie fosfolipidowym (2%) próba wizualizacji jego pików korelacyjnych z protonami fosfolipidów jest utrudniona z powodu szumów w zakresie 1–2 ppm. Bardziej diagnostyczny jest rejon widma przedstawiający piki korelujące protony fragmentów aromatycznych peptydu z protonami wody (4,6 ppm) i grup metylowych choliny (5), które sugerowałyby, że analizowany tetrapeptyd znajduje się najprawdopodobniej na powierzchni błony. Jak pokazuje literatura taką właśnie tendencję umiejscawiania się w membranach mają peptydy o małych masach cząsteczkowych (np. enkefalina) [17].



Rysunek 17. a) Widmo ^1H - ^1H RFDR MAS układu DMPC:DMPG:peptyd **2'**, zarejestrowane przy czasie mieszania równym 50 ms z prędkością rotacji 7 kHz, w temperaturze 308 K; schemat: b) cząsteczki znakowanego tetrapeptydu **2'**, c) fosfolipidu DMPC

Figure 17. a) ^1H - ^1H RFDR MAS spectrum of DMPC:DMPG:peptide **2'** recorded with a mixing time equal to 32 ms with a spinning rate of 7 kHz at 308 K; the scheme of: b) the labeled tetrapeptide **2'**, c) phospholipid DMPC

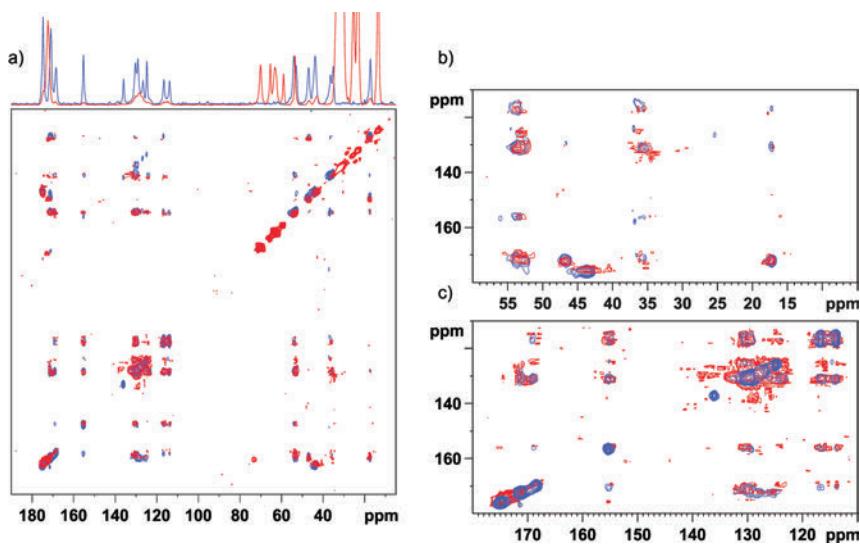
W wielu przypadkach zakłada się *a priori* podobieństwo konformacyjne układów w różnych stanach skupienia, dlatego próbując określić konformację aktywną peptydu **2'** w układzie fosfolipidowym należy wziąć pod uwagę fakt, że środowisko biomimetyczne może wymuszać zupełnie inną konformację peptydu. W związku z tym przeprowadzono analizę porównawczą konformacji peptydu **2'** przed i po wprowadzeniu go do błony fosfolipidowej. W tym celu najwygodniej jest zastosować te same sekwencje impulsowe. Mając do dyspozycji różne techniki spektroskopii SS NMR, używane do wyznaczania odległości pomiędzy sprzęgającymi się przez przestrzeń jądrami ^{13}C , wykorzystano eksperyment PARIS (ang. *Phase-Alternated Recoupling Irradiation Scheme using orthogonal radio-frequency phases*) [18], od niedawna używany do badań strukturalnych biomolekuł. Umożliwił on obserwację oddziaływań dipolowych pomiędzy jądrami ^{13}C z uwzględnieniem istotnych kontaktów grupy metylowej alaniny C22 z pierścieniami aromatycznymi tyrozyny i fenyloalaniny, przy wydłużeniu czasu kontaktu do 256 ms (Rys. 18). Obserwacje te są w pełni zgodne z danymi rentgenostrukturalnymi. Niestety w przypadku układu modelowego błona-peptyd **2'** analogiczny eksperyment nie dostarczył jednoznacznych informacji na temat topologii peptydu w środowisku biomimetycznym.



Rysunek 18. Obraz będący nałożeniem dwóch widm ^{13}C - ^{13}C PARIS mieszaniny peptydów **2** i **2'** (9:1) wykonanych przy różnych czasach mieszania: $\tau_m = 64$ ms (czarne piki korelacyjne) oraz $\tau_m = 256$ ms (czerwone piki korelacyjne), zarejestrowane w temperaturze 273 K z prędkością rotacji 20 kHz: a) cały zakres spektralny ^{13}C , b) wybrany fragment

Figure 18. Comparison of two spectra ^{13}C - ^{13}C PARIS peptides **2** and **2'** mixture (9:1) recorded with various mixing time: $\tau_m = 64$ ms (black correlation peaks) and $\tau_m = 256$ ms (red correlation peaks), recorded with a spinning rate of 20 kHz at 273 K: a) full range of ^{13}C spectra, b) selected fragment

Zdecydowanie lepsze rezultaty uzyskano wykorzystując sekwencję DARR. Analizując widma otrzymane tą techniką widać, że większość pików korelacyjnych pochodzących od peptydu **2'** i układu błona-peptyd pokrywa się (wyjątek stanowią dwa piki przy $\delta = 48$ ppm i 52 ppm od sygnałów atomów C41 i C21).



Rysunek 19. Obraz będący nałożeniem dwóch widm ^{13}C - ^{13}C DARR: mieszaniny peptydów 2 i 2' (9:1) (niebieskie piki korelacyjne) i układu DMPC : DMPG : peptyd 2' (czerwone piki korelacyjne) wykonanych przy $\tau_m = 128$ ms, w temperaturze 273 K z prędkości rotacji 10 kHz: a) cały zakres spektralny ^{13}C , b) obszar alifatyczny projekcji F2, c) obszar aromatyczny projekcji F2

Figure 19. Comparison of two spectra ^{13}C - ^{13}C DARR: peptides 2 and 2' mixture (9:1) (blue correlation peaks) and DMPC : DMPG : peptyd 2' (red correlation peaks) recorded with a spinning rate of 10 kHz, $\tau_m = 128$ ms at 273 K: a) full range of ^{13}C spectra, b) the aliphatic region of F2 projection, c) the aromatic region of F2 projection

PODSUMOWANIE

Badania X-Ray wykazały, że zarówno tripeptyd Tyr-Ala-Phe 3, jak i tetrapeptyd Tyr-Ala-Phe-Gly 4 z łatwością tworzą różne formy krystaliczne. Wynika z tego, że związki te charakteryzują się większą swobodą konformacyjną niż analogiczne peptydy posiadające w strukturze D-alaninę. Można więc przypuszczać, że jednym z ważniejszych czynników wpływających na proces „preorganizacji” poprzedzający tworzenie kryształu jest obecność wewnątrzcząsteczkowych oddziaływań CH- π pomiędzy pierścieniami aromatycznymi tyrozyny i/lub fenyloalaniny a grupą metylową alaniny. Jak wykazały badania rentgenograficzne tego typu interakcje możliwe są tylko w przypadku analizowanych przeze mnie układów posiadających alaninę o konfiguracji D. Fakt ten tłumaczyłby rolę D-alaniny w sekwencji sygnałowej dermorfiny, jak również brak aktywności biologicznej syntetycznych pochodnych zawierających enancjomer L tego aminokwasu. Można spekulować, że takie interakcje występują również podczas kontaktu liganda z receptorem opioidowym, zmniejszając labilność konformacyjną peptydu, a przez to zwiększając jego selektywność.

Pomiary ^{13}C CP-MAS potwierdziły istnienie: jednej formy krystalicznej tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly 2 i dwóch w przypadku analogu Tyr-Ala-Phe-Gly

4 oraz peptydu Tyr-Ala-Phe **3**. Ponadto na podstawie analizy widm ^1H UF MAS i temperaturowych widm ^{13}C CP-MAS wykazano nieodwracalne przejście formy **4b** tetrapeptydu Tyr-Ala-Phe-Gly w formę **4a**.

W oparciu o eksperymenty PISEMA MAS i PILGRIM wykazano, że łańcuch główny tri- i tetrapeptydów z D- i L-alaniną jest usztywniony, a dynamika molekularna związana jest z ruchem pierścieni aromatycznych tyrozyny i fenyloalaniny.

Analiza kształtu linii statycznych widm deuterowych tripeptydów **5**, **6**, **7**, **8**, w których jeden z pierścieni aromatycznych zawierał atomy deuteru, potwierdziła zróżnicowanie procesów dynamicznych pierścieni w łańcuchach bocznych tych aminokwasów i dodatkowo umożliwiła zdefiniowanie ich ruchu jako „ π -flip”.

Badania tetrapeptydu **2'** w środowisku biomimetycznym pozwoliły na dopracowanie procedury przygotowania błony fosfolipidowej i jej charakterystyki za pomocą eksperymentów ^1H i ^{31}P HR MAS, a także umożliwiły jedynie na sformułowanie przypuszczenia, że peptyd **2'** znajduje się na powierzchni błony fosfolipidowej (^1H - ^1H RFDR MAS). Analiza widm otrzymanych techniką DARR wykazała dużą zgodność pików korelacyjnych pochodzących od peptydu i układu peptyd-błona. Można zatem przypuszczać, że konformacja tetrapeptydu Tyr-D-Ala-Phe-Gly, określona za pomocą technik w ciele stałym jest zbliżona do tej, którą przyjmuje podczas kontaktu z układem fosfolipidowym. W tym miejscu warto przypomnieć, że w sieci krystalicznej tetrapeptyd **2** przyjmuje konformację „pseudocykliczną”. Obecność cząsteczki wody, która poprzez wiązania wodorowe spina N- i C-końce peptydu wydaje się kluczowa. Podobieństwo konformacyjne tetrapeptydu w formie krystalicznej i po wbudowaniu w błonę DMPC : DMPG sugeruje, że woda również w układzie biomimetycznym pełni funkcję medium sprzęgającego. Wynik ten można traktować jako kolejny argument potwierdzający, iż występujący w postaci jonu obojnaczego fragment Tyr-D-Ala-Phe-Gly, ulokowany jest w hydrofilowym obszarze błony.

Rozwijanie metodologii spektroskopii NMR w ciele stałym w badaniach produktów naturalnych i syntetycznych połączeń bioorganicznych stanowi element szerszej strategii badawczej od wielu lat realizowanej w Samodzielnej Pracowni Badań Strukturalnych CBMiM PAN. W związku z tym wartym podkreślenia jest fakt, że eksperymenty PILGRIM, PISEMA MAS, DCP, DARR czy PARIS, wykorzystane do prezentowanych badań, zostały wykonane po raz pierwszy w Polsce, a opublikowane prace NMR w ciele stałym dotyczące tej tematyki pochodzą wyłącznie z grupy prof. Marka Potrzebowskiego.

PODZIĘKOWANIA

Praca była realizowana w ramach grantu finansowanego przez MNiSzW pt. „Spektroskopia NMR w fazach nieizotropowych – rozwój metodologii, nowe zastosowania”.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] V. Erspamer, *Int. J. Dev. Neurosci.*, 1992, **10**, 3.
- [2] A. Jilek, G. Kreil, *Monatsh. Chem.*, 2008, **139**, 1.
- [3] M.M Słabicki, M.J. Potrzebowski, G. Bujacz, S. Olejniczak, J.J. Olczak, *Phys. Chem. B*, 2004, **108**, 4535.
- [4] K. Trzeciak-Karlikowska, A. Bujacz, W. Ciesielski, G.D. Bujacz, M. J. Potrzebowski, *J. Phys. Chem. B*, 2011, **115**, 9910.
- [5] K. Trzeciak-Karlikowska, A. Jeziorna, W. Ciesielski, A. Bujacz, G.D. Bujacz, J. Gajda, D. Pentak, M.J. Potrzebowski, *Cryst. Growth Des.*, 2009, **9**, 4051.
- [6] T. Pawlak, K. Trzeciak-Karlikowska, W. Ciesielski, M. J. Potrzebowski, *J. Phys. Chem. B*, 2012, **116**, 1974.
- [7] A. Jeziorna, T. Pawlak, K. Trzeciak-Karlikowska, P. Paluch, M.J. Potrzebowski, *BBA-Biomembranes*, 2012, **1818**, Issue 11, 2579.
- [8] K. Takegoshi, S. Nakamura, T. Terao, *Chem. Phys. Lett.*, 2001, **344**, 631.
- [9] J.-H. Yang, F.-C. Chou, D.-L.M. Tzou, *J. Mag. Reson.*, 2008, **195**, 116.
- [10] A. Ramamoorthy, Y. Wei, D.K. Lee, *Ann. R. NMR S.*, 2004, **52**, 1.
- [11] M. Hong, X. Yao, K. Jakes, D. Huster, *J. Phys. Chem. B* 2002, **106**, 7355.
- [12] D.D. Laws, H.-M.L. Bitter, A. Jerschow, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 3096.
- [13] R.A. Komorowski, *High Resolution NMR Spectroscopy of Synthetic Polymers in Bulk*, VCH Publishers Inc., Deerfield Beach, 1989.
- [14] S.W. Sparks, N. Budhu, P.E. Young, D.A. Torchia, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 3359.
- [15] W. Zhang, E. Crocker, S. McLaughlin, S.O. Smith, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 21459.
- [16] D. Aucoin, D. Camenares, X. Zhao, J. Jung, T. Sato, S.O. Smith, *J. Magn. Reson.*, 2009, **197**, 77.
- [17] S. Sul, Y. Feng, U. Le, D.J. Tobias, N.-H. Ge, *J. Phys. Chem. B*, 2010, **114**, 1180.
- [18] M. Weingarth, G. Bodenhausen, P. Tekely, *Chem. Phys. Lett.*, 2010, **488**, 10.

Praca wpłynęła do Redakcji 23 lipca 2012

**HIPERWALENTNE ZWIĄZKI SIARKI,
SELENU I TELLURU. CZĘŚĆ 3.
SULFURAN MARTINA, SULFURANY 10-S-5 I 12-S-6**

HYPervalent COMPOUNDS OF SULFUR,
SELENIUM AND TELLURIUM. PART 3.
MARTIN SULFURANE, SULFURANES 10-S-5
AND 12-S-6

Adrian Zając

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

Abstract

1. Sulfuran Martina
 2. Sulfurany 10-S-5
 3. Persulfurany 12-S-6
- Piśmiennictwo cytowane
-



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

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

ABSTRACT

In this part of the review one of the most famous 10-S-4 sulfurane called Martin sulfurane together with sulfuranes 10-S-5 and persulfuranes 12-S-6 will be presented.

Martin sulfurane has been well known for a relatively long time but it is still useful in organic synthesis as a dehydrating, coupling and oxidizing agent. Its use in selected substitution reactions will be also described.

Next, synthesis and selected properties of sulfuranes 10-S-5, mainly sulfurane oxides, and persulfuranes 12-S-6, will be shown. Besides synthetic methods, the review is focused on the investigations of the stability and isomerization of these types of compounds, which is particularly interesting for persulfuranes, because of the presence of three 3c-4e bonds.

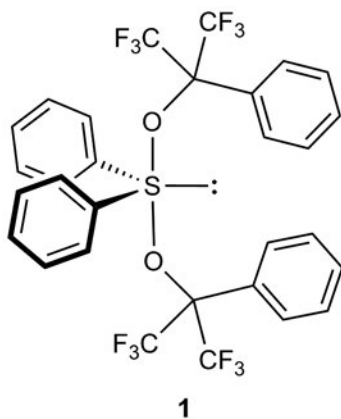
Keywords: hypervalency, 3c-4e bond, sulfurane, persulfurane, Martin sulfurane, trigonal bipyramid, tetragonal bipyramid, synthesis, chirality, optical activity, isomerization, ligand coupling

Słowa kluczowe: hiperwalentność, wiązanie 3c-4e, sulfuran, persulfuran, sulfuran Martina, bipyramida trygonalna, bipyramida tetragonalna, synteza, chiralność, aktywność optyczna, izomeryzacja, sprzężanie ligandów

1. SULFURAN MARTINA

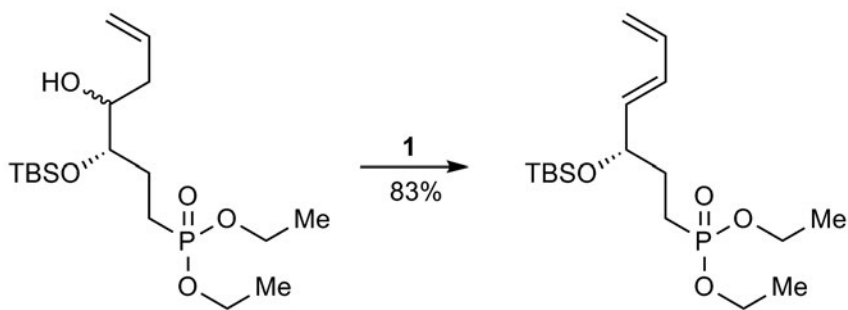
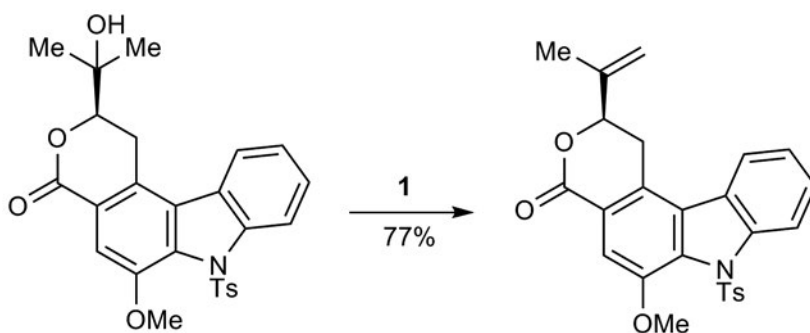
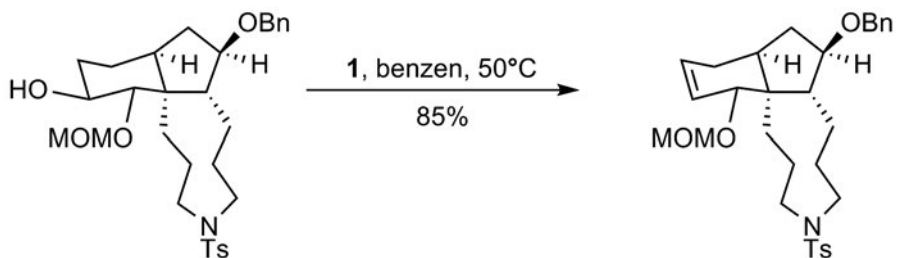
Wybrane trwałe chemiczne sulfurany znalazły zastosowanie jako odczynniki w syntezie organicznej. Na szczególną uwagę zasługuje tu bis[α,α -bis(trifluorometylo)benzyloksy]difenylsulfuran **1** (Rys. 1), zwany też od nazwiska jego odkrywcy sulfuranem Martina. Od kilkudziesięciu lat jest stosowany jak odczynnik w wielu reakcjach organicznych, np.:

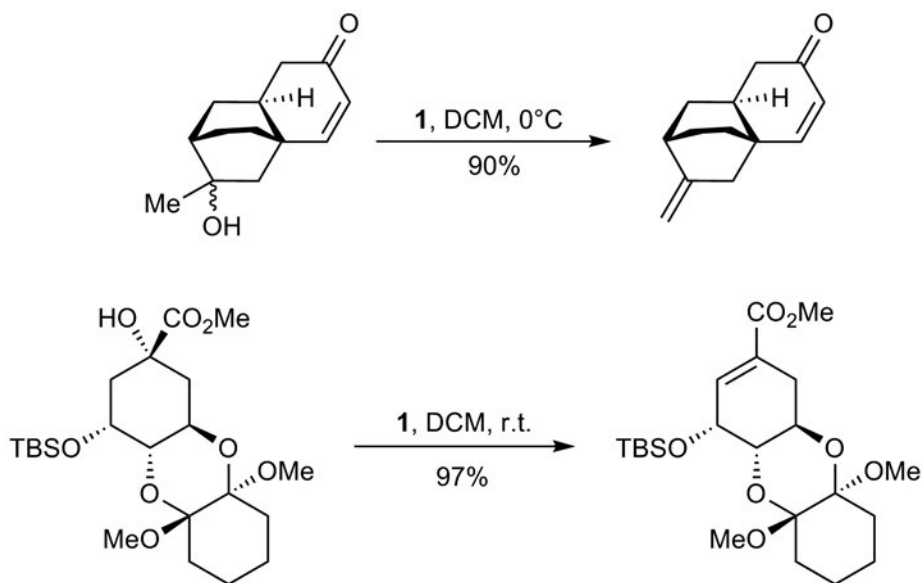
- eliminacji wody z alkoholi drugo- i trzeciorzędowych z utworzeniem odpowiednich olefin [1–18],
- epoksydacji 1,2-dioli [19],
- połączonej z cyklizacją dehydratacji β -hydroksy- α -aminokwasów [20],
- kondensacji aminokwasów – tworzenie wiązania peptydowego [21],
- deprotekcji anilidów – substytucji grupy amidowej grupą hydroksylową [22],
- substytucji grupy amidowej grupą metoksyłową [23],
- ekspansji pierścienia cyklopropanowego [24],
- utleniania alkoholi drugorzędowych [25],
- chemiluminescencyjnej reakcji z wodoronadtlenkiem tert-butylu [26].



Rysunek 1
Figure 1

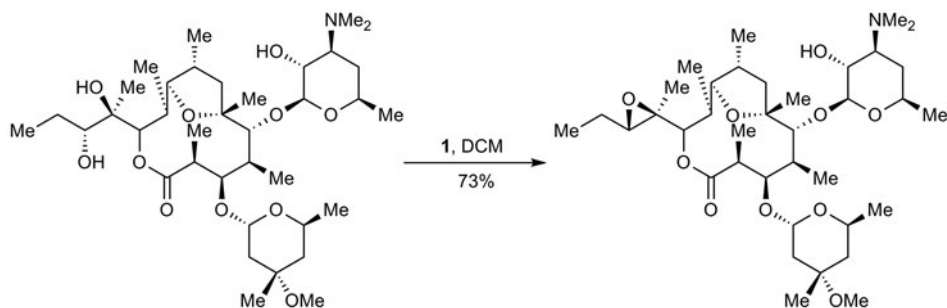
Sulfuran Martina jest bardzo użytecznym odczynnikiem dehydratującym w syntezach totalnych produktów naturalnych, a jest to spowodowane zarówno stosunkowo łagodnymi warunkami eliminacji, jak i wysoką lub ilościową wydajnością tych procesów. Tego typu eliminacji ulegają drugorzędowe alkohole acykliczne (Schemat 1) [1], trzeciorzędowe alkohole acykliczne (Schemat 2) [2], drugorzędowe alkohole cykliczne (Schemat 3) [3], a także trzeciorzędowe alkohole cykliczne (Schemat 4) [4, 5] dając odpowiednie acykliczne lub cykliczne olefiny.

Schemat 1
Scheme 1Schemat 2
Scheme 2Schemat 3
Scheme 3



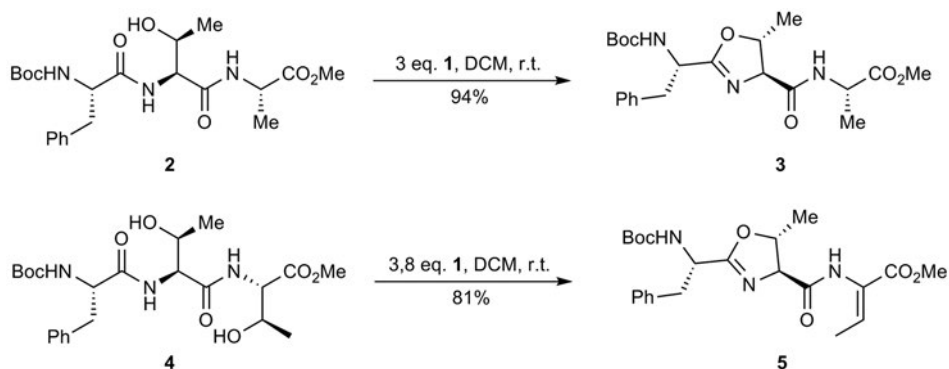
Schemat 4
Scheme 4

Transformacja 1,2-diolu do odpowiedniego epoksydu za pomocą sulfuranu Martina (Schemat 5) została wykorzystana w syntezie totalnej 9-deokso-4''-deoksy-6,9-epoksyerytromycyny – agonisty receptora motyliny [19].



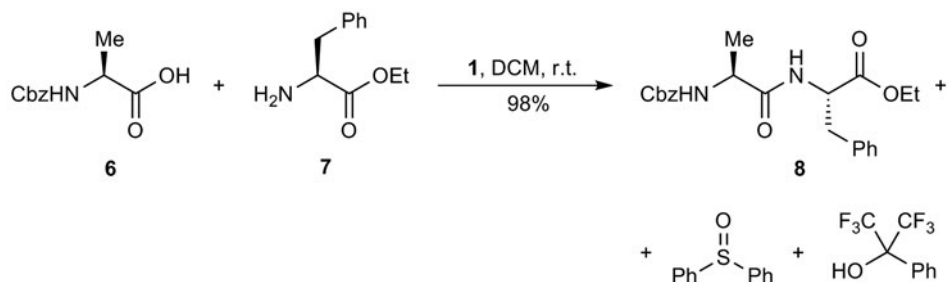
Schemat 5
Scheme 5

Oprócz klasycznej eliminacji wody sulfuran Martina może także powodować dehydratację połączoną z cyklizacją. Gdy β -hydroksy- α -aminokwas **2** potraktowano trzykrotnym nadmiarem tego odczynnika otrzymano produkt **3** zawierający pięcioczłonowy pierścień oksazolinowy (Schemat 6). Co interesujące, kiedy aminokwas **4** potraktowano 3,8-krotnym nadmiarem **1** zaszła klasyczna oraz połączona z cyklizacją dehydratacja skutkująca tworzeniem produktu **5** (Schemat 6) [20].



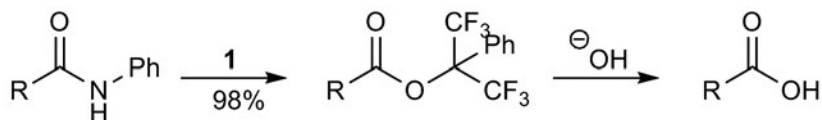
Schemat 6
Scheme 6

Dzięki swoim właściwościom odwadniającym sulfuran **1** może być użyty także w celu utworzenia wiązania peptydowego. Kondensacja Cbz-(*L*)-Ala-OH **6** z H₂N-(*L*)-Phe-OEt **7** w jego obecności skutkowałą tworzeniem pożądanego produktu **8** oraz produktów rozpadu sulfuranu – sulfotlenku difenyłowego i alkoholu α,α -bis(trifluorometylo)benzylowego (Schemat 7) [21].



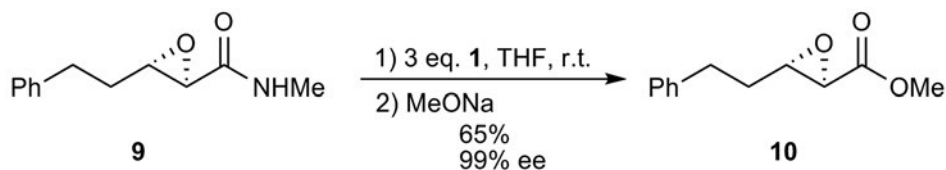
Schemat 7
Scheme 7

Anilidy traktowane tym sulfuranem ulegały transformacji do odpowiednich estrów, które następnie w wyniku zasadowej hydrolizy dostarczały odpowiednich kwasów karboksylowych (Schemat 8) [22].



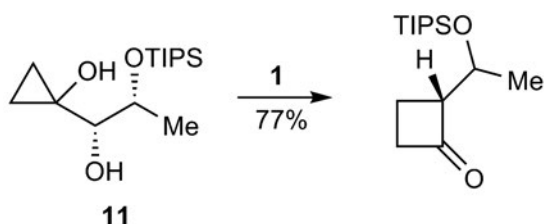
Schemat 8
Scheme 8

Jeśli natomiast anilid **9** potraktowano związkiem **1**, a następnie metanolanem sodu otrzymano ester metylowy **10** z dobrą wydajnością i bez żadnych oznak racemizacji (Schemat 9) [23].



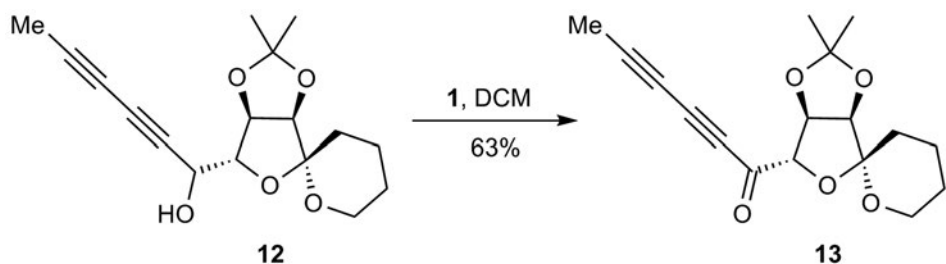
Schemat 9
Scheme 9

1-Cyklopropylo-1,2-diol **11** potraktowany sulfuranem **1** eliminował cząsteczkę wody z jednoczesną ekspansją pierścienia cyklopropylowego (Schemat 10) [24].



Schemat 10
Scheme 10

Badając reakcję drugorzędowego alkoholu **12** z sulfuranem **1** odkryto, że związek **12** niespodziewanie ulegał w tych warunkach utlenieniu do ketonu **13** (Schemat 11) [25].



Schemat 11
Scheme 11

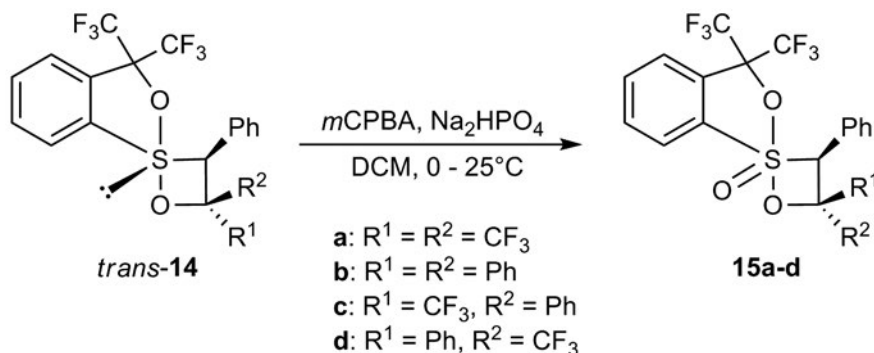
Zaobserwowano również, że reakcji sulfuranu Martina **1** z wodoronadtlenkiem *tert*-butylu w obecności 9,10-dibromoantracenu towarzyszyła dwuetapowa chemiluminescencja. Pierwszy etap występujący przy -40°C był związany z utworzeniem olefiny, natomiast drugi etap zaobserwowano w temperaturze od -20 do -10°C , kiedy z nadtlenku tworzył się aceton [26].

2. SULFURANY 10-S-5

Nie są to związki tak dobrze poznane i zbadane jak omawiane w poprzedniej części sulfurany 10-S-4, niemniej jednak są stosunkowo dobrze udokumentowane w literaturze.

W tej grupie najbardziej znane są S-tlenki sulfuranów 10-S-4. Nie różnią się one zasadniczo od związków 10-S-4, zarówno budową (podobna geometria cząsteczki, podobne długości i polaryzacja wiązań), jak i właściwościami spektralnymi [27, 28]. Są postulowane jako produkty przejściowe w wielu reakcjach [29].

Podstawową metodą syntezy S-tlenków sulfuranów jest utlenianie macierzystych sulfuranów. Na przykład reakcja sulfuranu *trans*-**14** z kwasem *meta*-chloronadbenzoesowym w obecności wodorofosforanu(V) sodu w dichlorometanie jako rozpuszczalniku w temperaturze od 0 do 25°C dostarczyła hiperwalentnych związków 10-S-5 **15** (Schemat 12). Związku **15b** ($R^1 = R^2 = \text{Ph}$) nie udało się wyizolować, natomiast pozostałe były oczyszczone chromatograficznie i izolowano je z wydajnością ok. 20% [28, 30].

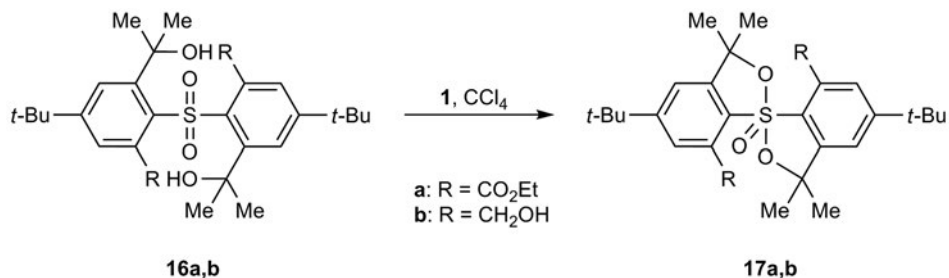


Schemat 12
Scheme 12

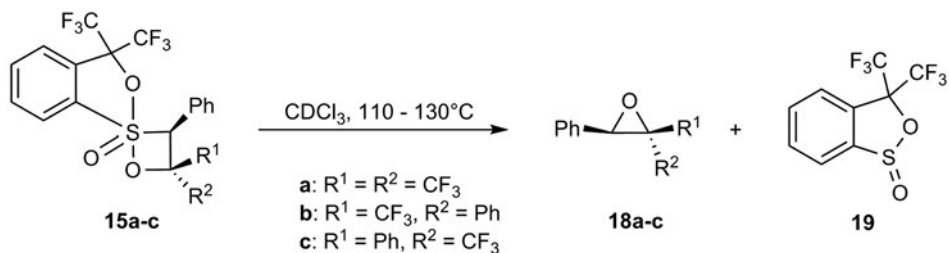
Inną drogą syntezy była dehydratacja dihydroksysulfonów **16a** i **b** z użyciem sulfuranu Martina **1** jako czynnika odwadniającego, co powodowało tworzenie S-tlenków **17a** i **b** (Schemat 13). Niestety związek **17b** ($R = \text{COOEt}$) ulegał dekompozycji podczas prób oczyszczenia. Produkt **17b** ($R = \text{CH}_2\text{OH}$) udało się wyizolować jako czysty chemicznie z niską wydajnością [31].

Związki te, podobnie do 10-S-4, ulegają reakcji sprzęgania ligandów. I tak, tlenki **15a-c** ogrzewane w zatopionej rurce NMR w temperaturze od 110 do 130°C w deuteriochloroformie jako rozpuszczalniku rozpadały się z utworzeniem odpowiednich oksiranów **18a-c** i sultinu **19** (Schemat 14) [28, 30].

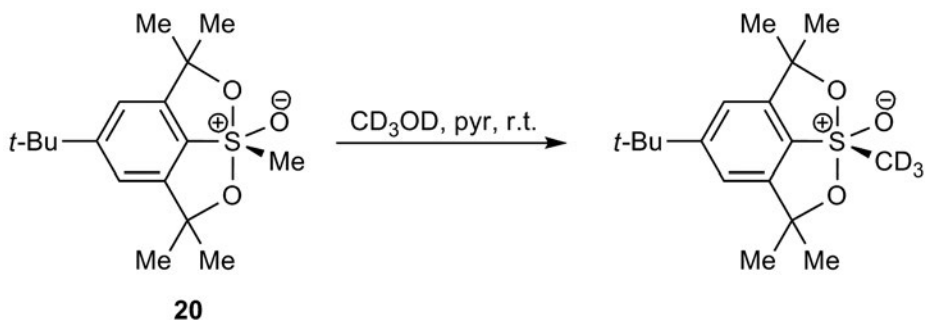
Zaobserwowano także reakcję substytucji atomów wodoru ekwatorialnej grupy metylowej tlenku sulfuranu **20** zachodzącą w mieszaninie metanol- d_4 /pirydyna w temperaturze pokojowej (Schemat 15). Co ciekawe, dla jego fluorowanego analogu nie zaobserwowano takiej wymiany [32].



Schemat 13
 Scheme 13

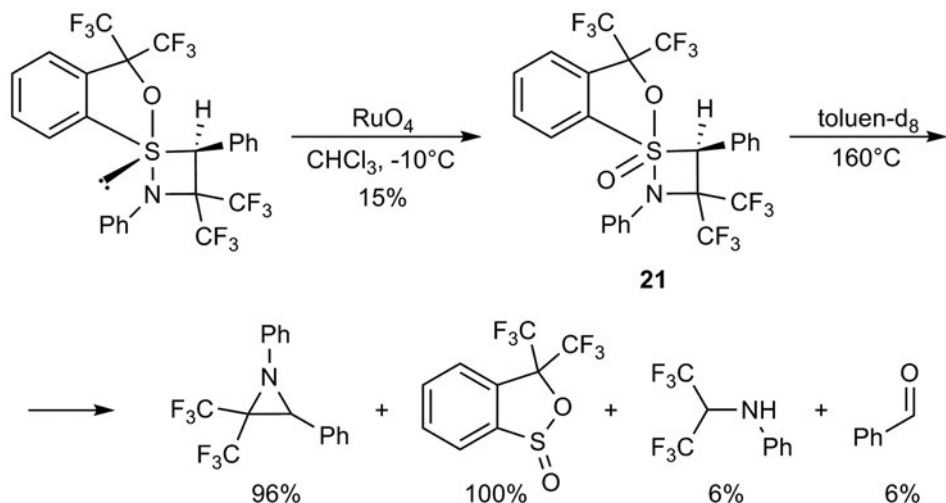


Schemat 14
 Scheme 14



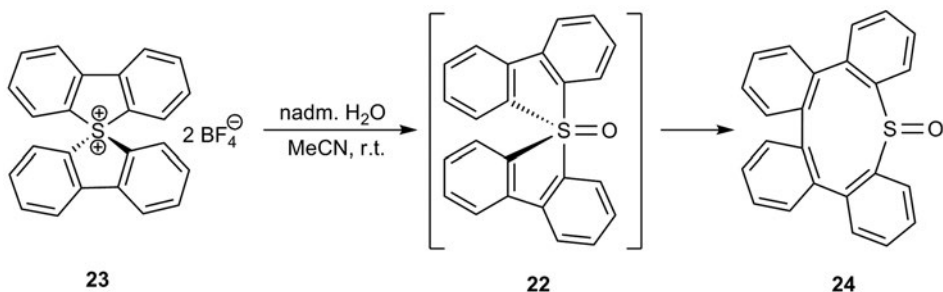
Schemat 15
 Scheme 15

Otrzymano także S-tlenek **21** posiadający atom azotu w pozycji apikalnej na drodze utleniania wyjściowego sulfuranu tetratlenkiem rutenu w chloroformie jako rozpuszczalniku w temperaturze -10°C (Schemat 16). Stwierdzono, że otrzymany produkt ulegał rozkładowi w perdeuterowanym toluenie przy 160°C dając produkty analogiczne do produktów rozpadu związków **15** (Schemat 16) [33].



Schemat 16
Scheme 16

Furukawa i współpracownicy zaobserwowali tworzenie się tlenku sulfuranu **22**, posiadającego cztery ligandy węglowe jako produktu pośredniego w reakcji dikationu **23** z nadmiarem wody w acetonitylu jako rozpuszczalniku (Schemat 17). Utworzony tlenek ulega natychmiast reakcji sprzężenia ligandów dając cykliczny sulfotlenek **24** [34, 35].

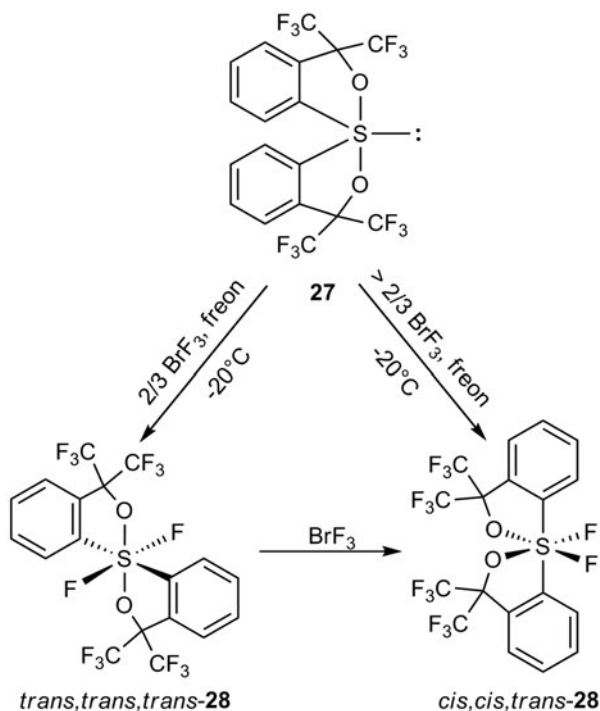
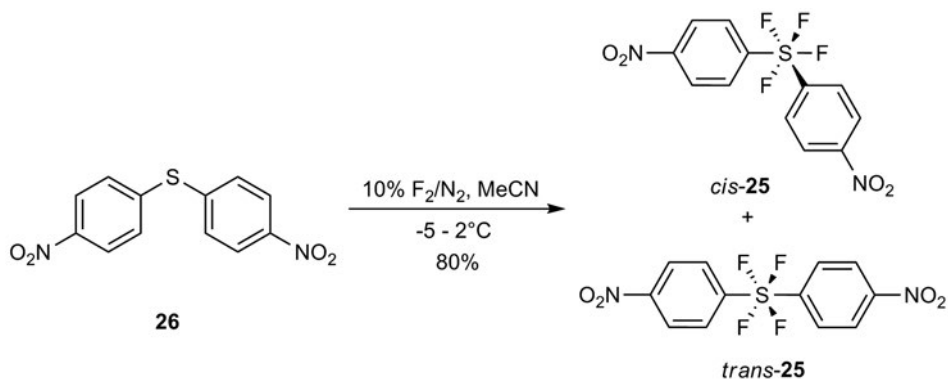


Schemat 17
Scheme 17

3. PERSULFURANY 12-S-6

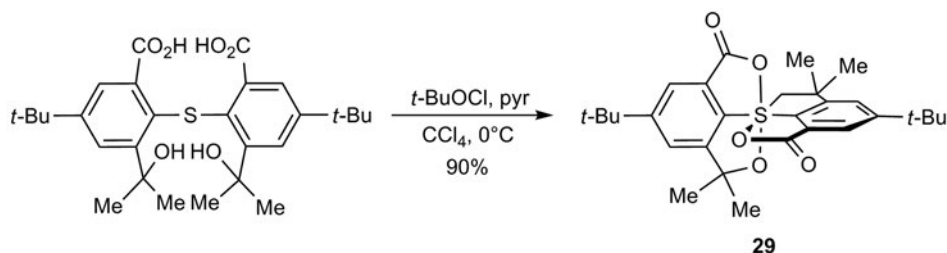
Persulfurany, ze względu na obecność aż trzech wiązań typu 3c–4e, wykazują ciekawe właściwości, ale przede wszystkim większą niż sulfurany 10-S-4 stabilność. Wynika to z faktu, że wiązania obecne w persulfuranach są słabiej spolaryzowane niż ich odpowiedniki w związkach typu 10-S-4 [27].

Heksafluorek siarki jest związkiem o potwierdzonej trwałości. Persulfuran **25** otrzymano w reakcji sulfidu **26** z gazowym fluorem rozcieńczonym azotem w acetonitrylu jako rozpuszczalniku przy obniżonej temperaturze z wydajnością 80% (Schemat 18). Otrzymany produkt był mieszaniną izomerów *cis* i *trans* w stosunku 85:15, które rozdzielano przez krystalizację. Zaproponowano również modyfikację metody w celu selektywnego uzyskiwania izomeru *trans* [36].



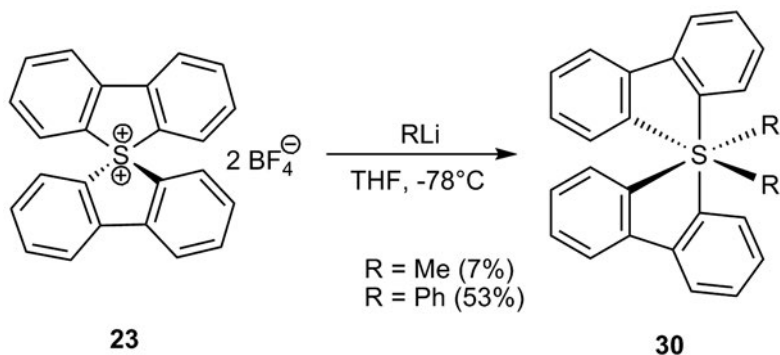
Sulfuran **27**, poddany działaniu trifluorku bromu we freonie w temperaturze -20°C został przekształcony w difluorodioksapersulfuran **28** z wydajnością 80% (Schemat 19). Dodatkowo zaobserwowano, że użycie molowego równoważnika trifluorku bromu daje tylko izomer *trans,trans,trans*-**28**, natomiast przy wykorzystaniu większej ilości powstaje izomer *cis,cis,trans*-**28**. Zaobserwowano również izomeryzację izomeru *trans,trans,trans*-**28** do izomeru *cis,cis,trans*-**28** w obecności trifluorku bromu [37–39].

Otrzymano także z wysoką wydajnością tetraoksapersulfuran **29** wychodząc z odpowiedniego podstawionego sulfidu i działając na niego chloranem(I) *tert*-butylu w obecności pirydyny w tetrachlorku węgla jako rozpuszczalniku (Schemat 20) [27, 40, 41].



Schemat 20
Scheme 20

Swego rodzaju zwieńczeniem badań nad persulfuranami była synteza stabilnego persulfuranu całkowicie podstawionego ligandami węglowymi. Potraktowanie dikationu **23** odczynnikami organolitowymi w tetrahydrofuranie jako rozpuszczalniku w temperaturze -78°C skutkowało tworzeniem bis(2,2'-bifenylo)dimetylo- i difenylopersulfuranu **30** (Schemat 21). Produkty otrzymane z niewielkimi wydajnościami okazały się stabilne i niewrażliwe na wilgoć [42, 43].



Schemat 21
Scheme 21

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G.R. Ott, C.H. Heathcock, *Org. Lett.* 1999, **1**, 1475.
- [2] T.P. Lebold, M.A. Kerr, *Org. Lett.* 2008, **10**, 997.
- [3] Y. Otsuka, F. Inagaki, C. Mukai, *J. Org. Chem.* 2010, **75**, 3420.
- [4] K. Tiefenbacher, J. Mulzer, *J. Org. Chem.* 2009, **74**, 2937.
- [5] L. Begum, J.M. Box, M.G.B. Drew, L.M. Harwood, J.L. Humphreys, D.J. Lowes, G.A. Morris, P.M. Redon, F.M. Walker, R.C. Whitehead, *Tetrahedron* 2003, **59**, 4827.
- [6] B.K. Albrecht, V. Berry, A.A. Boezio, L. Cao, K. Clarkin, W. Guo, J.-C. Harmange, M. Hierl, L. Huang, B. Janosky, J. Knop, A. Malmberg, J.S. McDermott, H.Q. Nguyen, S.K. Springer, D. Waldon, K. Woodin, S.I. McDonough, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 5209.
- [7] S. Gerber-Lemaire, P. Vogel, *C.R. Chimie* 2008, **11**, 1382.
- [8] O. Arjona, A.M. Gómez, J.C. López, J. Plumet, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 1919.
- [9] D.C. Beshore, A.B. Smith III, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 4148.
- [10] F. Ren, P.C. Hogan, A.J. Anderson, A.G. Myers, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 5381.
- [11] S.E. Reisman, J.M. Ready, M.M. Weiss, A. Hasuoka, M. Hirata, K. Tamaki, T.V. Ovaska, C.J. Smith, J.L. Wood, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 2087.
- [12] K.C. Nicolaou, Q.-Y. Toh, D.Y.-K. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 11292.
- [13] D.C. Beshore, A.B. Smith III, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 13778.
- [14] J.M. Richter, Y. Ishihara, T. Masuda, B.W. Whitefield, T. Llamas, A. Pohjakallio, P.S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 17938.
- [15] M.-L. Bennasar, E. Zulaica, D. Solé, T. Roca, D. García-Díaz, S. Alonso, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 8359.
- [16] L. Wang, J. Gong, L. Deng, Z. Xiang, Z. Chen, Y. Wang, J. Chen, Z. Yang, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 1809.
- [17] T.K.M. Shing, K.H. So, W.S. Kwok, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 5070.
- [18] I.L. Jones, F.K. Moore, C.L.L. Chai, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 5526.
- [19] R. Faghiih, H.N. Nellans, P.A. Lartey, A. Petersen, K. Marsh, Y.L. Bennani, J.J. Plattner, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, **8**, 805.
- [20] F. Yokokawa, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.*, 2002, **43**, 8679.
- [21] A. Slaitas, E. Yeheskiely, *J. Peptide Res.*, 2002, **60**, 283.
- [22] K.C. Nicolaou, Y.-L. Zhong, P.S. Baran, J. Jung, H.-S. Choi, W.H. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 2202.
- [23] S.-Y. Tosaki, T. Nemoto, T. Ohshima, M. Shibasaki, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 495.
- [24] S.Y. Cho, J.K. Cha, *Org. Lett.*, 2000, **2**, 1337.
- [25] A.M. Wensley, A.O. Hardy, K.M. Gonsalves, J.L. Koviach, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 2431.
- [26] P. D. Bartlett, T. Aida, H.-K. Chu, T.-S. Fang, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 3515.
- [27] W.Y. Lam, E.N. Duesler, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 127.
- [28] F. Ohno, T. Kawashima, R. Okazaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118**, 697.
- [29] *Chemistry of Hypervalent Compounds*, Kin-ya Akiba (Ed.), Wiley-VCH, New York, 1999.
- [30] a) T. Kawashima, *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **244**, 137; b) T. Kawashima, F. Ohno, R. Okazaki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1994, **33**, 2094.
- [31] W.Y. Lam, J.C. Martin, *J. Org. Chem.*, 1981, **46**, 4462.
- [32] J.C. Rongione, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, **112**, 1637.
- [33] N. Kano, Y. Daicho, T. Kawashima, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 4625.
- [34] N. Furukawa S. Sato, *Heteroatom Chem.*, 2002, **13**, 406.
- [35] S. Sato, H. Ameta, E. Horn, O. Takahashi, N. Furukawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 12374.
- [36] P. Kirsch, M. Bremer, A. Kirsch, J. Osterodt, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 11277.

- [37] R.S. Michalak, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 214.
[38] R.S. Michalak, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 1683.
[39] R.S. Michalak, S.R. Wilson, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 1529.
[40] W.Y. Lam, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 1659.
[41] W.Y. Lam, J.C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 120.
[42] Z. Pu, Q. Li, Y. Xie, H.F. Schaefer III, *Theor. Chem. Acc.*, 2009, **124**, 151.
[43] S. Sato, K. Matsunaga, E. Horn, N. Furukawa, T. Nabeshima, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 6778.

Praca wpłynęła do Redakcji 23 lutego 2012

**BIOMATERIAŁY STOSOWANE W INŻYNIERII
KOMÓRKOWEJ I MEDYCYNIE REGENERACYJNEJ**

**BIOMATERIALS FOR TISSUE ENGINEERING
AND REGENERATIVE MEDICINE**

Maria Nowacka

*Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk
ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź, Polska
e-mail: mnowacka@cbmm.lodz.pl*

Abstract

Wstęp

1. Polimery stosowane w medycynie
2. Biologia oddziaływań komórka-podłoże
3. Czynniki wpływające na zachowanie komórek
 - 3.1. Wpływ topografii powierzchni
 - 3.2. Wpływ szorstkości powierzchni
 - 3.3. Sztywność podłoża
 - 3.4. Wpływ hydrofilowości powierzchni i obecności specyficznych grup funkcyjnych
 - 3.5. Wpływ ładunku powierzchniowego

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



mgr Maria Nowacka, absolwentka wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Pracę dyplomową pt. „Chromatograficzna detekcja i oznaczanie związków arsenu i krzemu” wykonała w Katedrze Chemii Analitycznej i Nieorganicznej, w Zakładzie Analizy Instrumentalnej. Od 2011 roku jest słuchaczką studium doktoranckiego Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, gdzie pracuje pod kierunkiem dr hab. inż. Anny Kowalewskiej. Prowadzone przez nią badania dotyczą syntezy i właściwości nowych biomateriałów do zastosowań jako specyficzne podłoża

do hodowli komórek macierzystych.

ABSTRACT

Tissue engineering is a very rapidly developing domain of science. There is a huge interest in the biology of stem cells, especially in their proliferation, differentiation and spreading in the response to different factors. Biomaterials with properties similar to the natural environment of human body (accelerating wounds healing and not causing immunological response) as well as these that can control cells behavior are in constant need. This review presents the most popular polymeric biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine [3–5, 8–20], explains interactions between cells and biomaterials [3, 13, 22–33], describes the most important surface properties that can have an influence on cells i.e. topography [36, 43–47, 53–72], roughness [1, 5, 31, 51, 66, 73–84], stiffness [54, 84–102], hydrophobicity, chemistry [4, 11, 16, 20, 27, 31, 32, 36–38, 42, 58, 103–112] and surface charge [18, 37, 113–116].

Keywords: biomaterials, biopolymers, surface specificity, tissue engineering

Słowa kluczowe: biomateriały, biopolimery, inżynieria komórkowa, specyfika powierzchni

WSTĘP

Naukowcy poszukują biomateriałów o właściwościach imitujących naturę, o właściwościach maksymalnie zbliżonych do naturalnych warunków panujących w organizmie człowieka. Celem tych badań jest stworzenie materiału przyspieszającego gojenie się ran oraz niepowodującego odpowiedzi immunologicznej organizmu pacjenta. Idealnym rozwiązaniem byłoby stworzenie biomateriału o właściwościach zbliżonych do właściwości narządu, który ma zastępować lub wspomagać.

Konwencjonalnym materiałem na protezy, używanym od wielu lat są metale. Są one stosowane w celu uzupełnienia m.in. ubytków kostnych u pacjentów po skomplikowanych złamaniach kończyn lub operacjach kręgosłupa. Materiałem stosowanym od dawna standardowo w implantologii są stopy tytanu [1, 2]. Mają one dobre właściwości mechaniczne, jednak ich użycie wiąże się z ryzykiem odrzucenia implantu. Przede wszystkim jednak materiały te nigdy nie zastąpią utraconych tkanek i nigdy nie będą w pełni biokompatybilne z organizmem chorego. Dlatego w ostatnich latach rozpoczęto badania nad zastosowaniem materiałów polimerowych, jako tworzyw do produkcji implantów i protez. W konsekwencji, coraz szersze zastosowanie w chirurgii, medycynie i transplantologii znajduje wiele materiałów polimerowych [3–9]. Biomateriały te mogą być wykonane z polimerów czystych jak i kompozytów, czyli mieszanin kilku polimerów z dodatkiem metali (tj. srebro, złoto, cynk, chrom, miedź, kobalt, tytan), materiałów ceramicznych itp. [5, 9].

1. POLIMERY STOSOWANE W MEDYCYNIE

Polimery, zarówno pochodzenia naturalnego (np. kolagen, fibrynogen, kwas hialuronowy, chityna, chitozan), jak i te otrzymane sztucznie (np. polichlorek winylu PVC, polichlorek winylidenu PVDC, polialkohol winylowy PVAL, polietylen PE, polistyren PS, politetrafluoroetylen (teflon) PTEE, polipropylen PP, polimetakrylan metylu PMMA, poliwęglany PC, PA, politereftalan etylenu PET, silikon, poliuretany PU, żywice epoksydowe), znalazły szerokie zastosowanie w medycynie [5, 10]. Są one stosowane zarówno do wyspecjalizowanych zadań (implanty, nici chirurgiczne, soczewki kontaktowe, a także środki krwiozastępcze czy pomocnicze środki farmakologiczne), jak również wykonywane są z nich narzędzia chirurgiczne czy dreny. Biomateriały, zależnie od sposobu kontaktu z organizmem, powinny oprócz odpowiednich właściwości fizyczno-chemicznych, spełniać określone wymogi [3, 11, 12]. Polimery mające długotrwały kontakt z wewnętrznymi tkankami organizmu, np. implanty czy nici chirurgiczne lub wykorzystywane, jako leki, środki krwiozastępcze oraz pomocnicze środki farmakologiczne powinny być nietoksyczne. Polimery mające kontakt z zewnętrznymi częściami organizmu ludzkiego, muszą dodatkowo charakteryzować się odpornością na działanie środków czyszczących, odkażających oraz środków fizycznych m.in. wysokiej temperatury, które są niezbędne do ich wyjaławiania.

Ostatnio badania skupiają się na możliwości zastosowania w pełni biodegradowalnych, biokompatybilnych i bioresorbowalnych materiałów polimerowych: polilaktydu, polikaprolaktonu i poliglikolidów [13]. Monomery do ich syntezy mają centra chiralne, a czas rozkładu oraz właściwości polimerów zależą, oprócz masy cząsteczkowej, również od formy stereoizomeru [13]. Ponadto, polimery te mogą mieć specyficzne właściwości – na przykład racemiczna forma L,D-polilaktydu ma właściwości osteoindukcyjne [14].

Udoskonalą się także biodegradowalne materiały, które są wykorzystywane w przypadku uszkodzeń tkanki kostnej i chrzęstnej. Materiały polimerowe stosowane w ortopedii powinny ulegać rozkładowi powoli, stopniowo pozwalając na odtwarzanie się tkanki kostnej chorego i nie tracąc zbyt szybko swych właściwości mechanicznych [15–17]. Muszą się one charakteryzować odpowiednią sztywnością, odpornością mechaniczną oraz ulegać degradacji w określonym czasie, aby zapewnić prawidłową odbudowę uszkodzonych tkanek. Korzystne jest stosowanie materiałów o właściwościach mechanicznych, które nie będą lepsze od naturalnych właściwości tkanki kostnej. Dzięki temu rosnące komórki muszą od samego początku pracować, przez co nie ulegają osłabieniu, tak jak w przypadku implantów metalowych [15–17]. Inną dziedziną medycyny, gdzie korzysta się z bioresorbowalnych implantów jest kardiologia i neurochirurgia. Materiały tego typu stosuje się w procesach wymagających regeneracji małych naczyń krwionośnych i nerwów [15]. Obecnie produkowane są również stenty stosowane w kardiologii, które uwalniają w określonych odstępach czasowych różne substancje lecznicze [5]. Ze względu na wagę tych badań poszukuje się nie tylko materiałów, które nie powodowałyby odpowiedzi immunologicznej układu odpornościowego, ale także substancji, których zastosowanie zmniejszałoby właściwości trombogenne danego materiału [3]. Jedną z takich substancji jest od dawna stosowany polisacharyd – heparyna [3]. Znane i ogólnie stosowane są także polimery zawierające fosforylocholinę 2-metakryloksyetylu MPC [18]. Dzięki obecności zwitterjonu w grupach fosfolipidowych, które występują naturalnie w błonach komórkowych polimer ten jest nietrombogeniczny oraz wysoce biokompatybilny [18].

Stosunkowo nowym pomysłem jest wykorzystanie klatkowych polisilskwioksanów (POSS), jako dodatku do polimerów używanych, jako biomateriały. Na przykład zbadana została biokompatybilność poliwęglanourethanów z bocznymi ugrupowaniami silskwioksanowymi (POSS-PCU) z uwzględnieniem ewentualnej toksyczności oraz wpływu na czynności życiowe komórek [19]. Zgodnie z przedstawionymi wynikami badań materiały wykonane z POSS-PCU charakteryzowały się znacznie mniejszą hydrofobowością niż standardowo stosowane materiały tj. tytan, teflon, Dacron. Ułatwiały również adhezję komórek śródbłonna do powierzchni [20]. POSS-PCU został wykorzystany, jako surowiec do produkcji sztucznych zastawek serca [4, 8]. Polimerowe zastawki mają przewagę nad wszczepianymi często naturalnymi zastawkami, ponieważ nie ulegają one zwapnieniu ani degradacji, przy jednoczesnym niewielkim ryzyku odrzucenia ich przez organizm pacjenta [4, 8, 9]. Zastosowanie, jako materiału polimeru zawierającego POSS zamiast naturalnych

zwierzęcych tkanek, zwiększyło hydrofobowość powierzchni, tym samym zmniejszając podatność związków wapnia do adhezji, przy jednoczesnym wzroście wytrzymałości mechanicznej zastawki [4].

Pomimo ciągłego postępu badań, wciąż nierozwiązanym problemem pozostaje kwestia odrzucania implantów przez organizm pacjenta. Niezbędne jest też potwierdzenie braku właściwości toksycznych, mutagennych, nie powodowanie zmian chorobowych, nie zmienianie składu płynów ustrojowych zarówno przez sam polimer, jak i przez produkty jego rozkładu [3, 5]. W przypadku wielu chorób i uszkodzeń narządów wewnętrznych często jedynym możliwym rozwiązaniem jest transplantacja. Ma to miejsce m.in. w przypadku uszkodzeń serca, wątroby, skóry, małych naczyń krwionośnych [13]. Idealnym przypadkiem byłaby możliwość wyhodowania z komórek pacjenta nowych, zdrowych tkanek bądź też nawet całych narządów, którymi można by zastąpić uszkodzone bądź chore. Dlatego w ostatnich latach ogromnym zainteresowaniem cieszą się badania nad zastosowaniem komórek macierzystych w medycynie [21]. Związane jest to z ich wyjątkową zdolnością do różnicowania się na inne typy komórek występujące w ludzkim organizmie. Ma to szczególne znaczenie dla medycyny regeneracyjnej i rekonstrukcji patologicznych tkanek, powstałych na skutek chorób lub wad wrodzonych. Ogromną szansą dla chorych jest stworzenie biomateriałów w pełni biokompatybilnych, które będą mogły tworzyć środowisko sprzyjające rozwojowi komórek macierzystych. Z tego względu jednocześnie z badaniami nad implantami prowadzi się badania nad rozwojem komórek macierzystych.

W tym celu poszukuje się nie tylko idealnego materiału do produkcji trójwymiarowych rusztowań (*scaffolds*) do hodowli komórkowej, ale również ocenia się wpływ różnych czynników środowiskowych na funkcje życiowe różnych rodzajów komórek oraz możliwości sterowania ich wzrostem, podziałem i różnicowaniem się. Stwarza to również możliwość rozwoju badań nad transportem leków do organizmu pacjenta, gdzie badania prowadzone na zwierzętach nie dają wyników odzwierciedlających zachowanie organizmu człowieka [13].

2. BIOLOGIA ODDZIAŁYWAŃ KOMÓRKA-PODŁOŻE

Badania nad wytworzeniem biomateriałów, mogących służyć do kontrolowanej hodowli komórek macierzystych skupiają się nad wytworzeniem podłoża naśladujących struktury macierzy pozakomórkowej (ang. *extracellular matrix*, ECM), znajdującej się w organizmach żywych. Macierz pozakomórkowa jest to substancja wytwarzana przez komórki, wypełniająca przestrzeń między nimi. Zespala ją komórki sieć ECM jest swoistym rusztowaniem dla komórek i częścią składową tkanek. Jest zbudowana z makrocząsteczek kolagenu, proteoglikanów oraz białek wiążących integryny. Składa się z formy upostaciowionej (włókien) i bezpostaciowej.

Większość komórek występujących w organizmach ssaków wymaga przyłączenia się do podłoża dla prawidłowego funkcjonowania. Jedynie komórki zaadsorbo-

wane na powierzchni są zdolne do wzrostu, podziału i różnicowania się. W naturalnych warunkach jest to możliwe właśnie dzięki obecności macierzy pozakomórkowej [22]. ECM na całej swojej powierzchni zawiera różne domeny funkcyjne, tj. regiony odpowiedzialne za wysyłanie innych sygnałów warunkujących m.in. wzrost i adhezję komórek. Najlepiej poznanym regionem odpowiedzialnym za adhezję komórek do podłoża jest tripeptyd RGD (arginina-glicyna-kwas asparaginowy) [13, 23]. Taka sekwencja aminokwasów została określona, jako minimalna niezbędna do pośredniczenia w adhezji komórek do cząsteczek ECM.

Komórki posiadają na swej powierzchni transbłonowe białka adhezyjne, które uczestniczą w procesach łączenia między komórkami oraz ich oddziaływań z ECM [24]. Dzięki tym specyficznym oddziaływaniom, działają one, jako receptory i umożliwiają uzyskiwanie informacji z otoczenia. Do białek adhezyjnych zalicza się integryny, kadheryny, selektyny oraz białka immunoglobulinopodobne (z rodziny IgSF). Integryny łączą komórki z glikoproteinami podłoża (fibronektyną i lamininą) [13, 24–30]. Adhezja komórek przez integryny jest niezmiernie istotna dla prawidłowego funkcjonowania komórek. Są one receptorami, które mogą wiązać nie tylko pojedyncze komponenty macierzy zewnątrzkomórkowej ECM (oddziaływania *cell-matrix*), ale jednocześnie mogą wiązać kilka różnych komórek (oddziaływania *cell-cell*) [26]. Ponadto, integryny wraz z selektynami oddziałują z leukocytami biorąc udział w odpowiedzi immunologicznej organizmu na infekcję [29]. Kadheryny są glikoproteinami uczestniczącymi w oddziaływaniach między komórkami [26]. Są zdolne do rozpoznawania i tworzenia połączeń z kadherynami tego samego rodzaju. Główną ich rolą jest ułatwianie przylegania do siebie komórek tego samego typu (oddziaływania kadheryna-katenina-filamenty aktynowe). Te procesy życiowe mają niezwykle ważny wpływ na wynik oddziaływań między tworzywami sztucznymi a organizmami żywymi – zarówno w hodowlach komórek macierzystych jak i w implantologii.

Początkowa odpowiedź układu immunologicznego polega na wytworzeniu na powierzchni zetknięcia implantu z tkanką słabo unaczynionej, włóknistej warstwy komórek wskutek adhezji m.in. płytek krwi na powierzchni materiału [3, 13]. Wiadomo, że po umieszczeniu implantu w ciele, w ciągu kilku nanosekund pokrywa się on cienką warstwą wody. Oddziaływania woda–powierzchnia materiału zależą od jego charakteru i właściwości. Następnie obserwowane jest powstanie warstwy specyficznych białek, co trwa od kilku sekund do kilku godzin [31]. W płynach fizjologicznych znajduje się wiele różnych, rozpuszczalnych rodzajów białek, które mogą oddziaływać z powierzchnią podłoża [32]. Od zaadsorbowanej warstwy białek występujących naturalnie w serum w dużej mierze zależy zdolność komórek organizmu do adhezji, a także sposób ich późniejszego zachowania. Jednak należy podkreślić, że spośród ponad 200 rodzajów białek najłatwiej zachodzi adhezja albuminy, która nie sprzyja adhezji komórkowej lub nawet ją uniemożliwia. Kolejnym etapem jest pojawienie się oddziaływań komórki - białka związane z powierzchnią materiału, który może trwać od kilku minut do nawet kilku dni [31]. Ostatnim eta-

pem następującym po przyłączeniu się komórki do podłoża jest reorganizacja jej cytoszkieletu, która prowadzi m.in. do wypłaszczenia komórki [33].

Przedmiotem badań jest określenie wpływu różnych czynników na poszczególne etapy rozwoju komórek macierzystych [23]. Stwierdzono, że umieszczenie domen adhezyjnych na powierzchniach syntetycznych biomateriałów umożliwia regulowanie funkcjonowania integryn, a tym samym wpływa na zachowanie się komórek [13]. Udało się również ustalić, iż włączając fibronektynę w matrycę wykonaną z alkoholu poliwinylowego, można regulować adhezję i wzrost komórek śródbłonna [29].

4. CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA ZACHOWANIE KOMÓREK

W przypadku stosowania podłoży syntetycznych ważne jest zoptymalizowanie warunków dla hodowli komórkowej bądź wzrostu komórek na powierzchni implantu. Najważniejszymi parametrami charakteryzującymi powierzchnię są jej:

- specyfika chemiczna (hydrofilowość/hydrofobowość, obecność grup funkcyjnych),
- topografia (rodzaj wzorów, sposób rozmieszczenia, wielkość).

Przez długi okres czasu pomimo wiedzy, iż komórki macierzyste potrafią różnicować się na dowolny inny typ komórek, nie potrafiono określić, jakie czynniki i w jaki sposób wpływają na ich zachowanie. Wiele publikowanych obecnie artykułów naukowych dotyczy właśnie tego zagadnienia, przy czym najczęściej badany jest wpływ topografii powierzchni materiału, jej hydrofilowości, rodzaju grup funkcyjnych oraz środowiska [34, 35].

Modyfikacja powierzchni materiału może być przeprowadzona przez jej funkcjonalizację z wykorzystaniem różnych grup organicznych naturalnie występujących w organizmie tj. CH_3 , OH , NH_2 , COOH [31, 32, 36–38]. Stosując różne podstawniki funkcyjne można jednocześnie uzyskać pożądany wzór na powierzchni materiału, a przez to kontrolę stopnia adhezji komórek do podłoża. Wiadomo, że zdolność komórek do adhezji maleje na powierzchniach hydrofobowych, a rośnie na powierzchniach hydrofilowych [31, 39]. Na wzrost komórek wpływa również swobodna entalpia powierzchni i zwilżalność, jednak nie mają one wpływu na kształt komórek ani na ich orientację [40–42]. Zgodnie z wynikami badań przeprowadzonymi na powierzchni wykonanej z nanokrystalicznego diamentu, osteoblasty przyłączają się chętniej do powierzchni o wyższej entalpii swobodnej [40]. Dla takiego podłoża zaobserwowano także wzrost szybkości różnicowania się i namnażania tych komórek [40]. Podobny wynik uzyskano dla podłoża tytanowego [41]. Badania nad wpływem entalpii swobodnej powierzchni na adhezję białek oraz komórek kostnych przeprowadzono także dla podłoży wykonanych z polimerów [42]. Wykorzystano do tego celu polidimetylosiloksan PDMS, PMMA oraz PS [42]. Wyniki eksperymentu były zbieżne z opisanymi wcześniej [42].

Zwilżalność powierzchni jest bardzo ważna, ponieważ wpływa na zdolność białek adhezyjnych do przyłączania się do podłoża [31]. W czasie tego procesu następują po sobie etapy przyłączania mniejszych białek, które szybciej docierają do powierzchni, odrywania ich i zastępowania większymi [31]. Na ostateczną budowę i skład warstwy białek wpływa powinowactwo między tymi białkami a powierzchnią materiału [31]. Najważniejsze dla zdolności komórek do przyłączania się do podłoża, fibronektyna i witronektyna, przyłączają się znacznie łatwiej do powierzchni hydrofilowych [31].

Oprócz specyfiki chemicznej materiału, który w przyszłości mógłby zostać wykorzystany w produkcji biomateriałów na implanty ważne są też właściwości jego powierzchni. Topografia powierzchni w mikroskali odgrywa znaczącą rolę w procesie adhezji białek i tworzeniu wiązań, co jest ściśle związane z biokompatybilnością materiału [31, 39]. Od topografii powierzchni zależy zdolność komórek do adhezji, ich morfologia, orientacja w przestrzeni, podział i sposób różnicowania. Na zachowanie komórek wpływa nie tylko rodzaj wzorów na powierzchni, ale także jego wielkość, kształt oraz szorstkość [43–46].

4.1. WPŁYW TOPOGRAFII POWIERZCHNI

Istnieje wiele technik uzyskiwania powierzchni pokrytej wzorami w mikro- i nanoskali [47–51]. Tworzenie wzoru komórek na podłożu może być uzyskane na dwa sposoby: poprzez pokrycie wybranych fragmentów materiału czynnikiem ułatwiającym adhezję komórek lub zastosowanie warstwy materiału, która nie będzie sprzyjała przyłączaniu się do niej komórek, a następnie jej usunięciu [47]. Jedną z najbardziej popularnych metod tworzenia wzoru powierzchni jest litografia. W ogólnym podejściu polega ona na pokryciu podłoża substancją ochronną, której nadaje się pożądaný wzór. Jednym z rodzajów litografii jest fotolitografia [47–49, 51]. Polega ona na poddawaniu działaniu promieniowania UV fotoczułego polimeru [47–49, 51]. Cechuje się ona możliwością uzyskania różnego rodzaju wzorów z dużą rozdzielczością [51]. Wadą tej techniki jest możliwość jej stosowania tylko dla podłoży w stanie stałym, wysoka cena oraz używanie toksycznych odczynników, które mogą doprowadzić do denaturacji białka [49]. Znana jest także litografia, w której stosuje się promieniowanie RTG lub wiązkę elektronów [47–49, 51]. Bardziej biologicznie-przyjazną techniką tworzenia wzorów jest tzw. miękka litografia [47, 49, 51]. Polega ona na wytworzeniu stempla z PDMS, przy pomocy, którego tworzony jest następnie wzór na powierzchni podłoża [49, 51]. W ten sposób można uzyskać wzory o wielkości od 30 nm do 100 μm [49]. Ponieważ raz przygotowane stemple mogą być używane wielokrotnie, koszty wytwarzania ulegają obniżeniu w porównaniu z wcześniej wspomnianymi technikami [49]. W drukowaniu mikro-kontaktowym stemple z PDMS pokrywa się warstwą tioli, następnie przykłada do powierzchni złota [49, 52]. Można również wykorzystać stemple pokryte warstwą alkilosiłoksanów do utworzenia warstwy samoorganizujących się cząstek SAM na

powierzchni szkła (lub krzemionki) z grupami hydroksylowymi [49]. W ten sposób utworzona warstwa SAM układa się w taki wzór jak ten na stemplu. Rozdzielczość nie jest tak dobra jak w przypadku wzorów otrzymanych z użyciem stempla, ale udaje się otrzymać wzory o wielkości rzędu 50 nm [52]. W przypadku tej metody należy zawsze brać pod uwagę możliwość, iż komórki reagują nie tylko na wzór powierzchni, ale także na grupy funkcyjne na powierzchni materiału [47]. W niektórych tego typu przypadkach wzór powierzchni może okazać się wręcz bez znaczenia [47]. W mikroformowaniu kapilarnym stempel przykładają się do powierzchni polimeru w stanie ciekłym [52]. Wzór powierzchni utrwała się podczas twardnienia polimeru [52].

Topografia powierzchni materiału poprzez regulację czynności odpowiednich białek transmembranowych wpływa na zdolność komórek do adhezji [43]. Po raz pierwszy jej wpływ na zachowanie się komórek zaobserwował Carter w 1967 roku prowadząc badania nad fibroblastami [47]. W naturalnym środowisku komórki są poddawane wpływowi topografii w mikroskali i nanoskali, co związane jest z obecnością białek ECM oraz otoczeniem innych komórek [53]. Wyniki badań przeprowadzonych nad wpływem wielkości i rodzaju wzorów na powierzchni biomateriałów na czynności życiowe komórek (Tab. 1.) wskazują na dostosowywanie się komórek do specyfiki powierzchni materiału [36, 44, 45, 54, 55]. Biomateriały z kontrolowaną topografią w mikroskali stosowane są do kontroli kształtu oraz rozmieszczenia komórek na ich powierzchni [53]. Topografia w nanoskali dotyczy wzorów, których wielkość odpowiada rozmiarom pojedynczych białek. Wzór powierzchni w zakresie 0–250 nm wpływa przede wszystkim na adsorpcję i konformację białek w macierzy pozakomórkowej ECM, a co za tym idzie na ich funkcje biologiczne [53]. Wpływa to na przyłączenie oraz stopień rozpląszczenia komórek na powierzchni podłoża [53].

Tabela 1. Wzory powierzchni stosowane do hodowli komórkowych
Table 1. Nanopatterned surfaces for cell cultures

Odniesienie literaturowe	Tworzywo sztuczne = podłoże	Rodzaj wzoru powierzchni	Rodzaj badanych komórek
[45]	poliakrylamid	wzór plastra miodu, siatka	komórki macierzyste
[46]	poli(ϵ -kapolakton)	wzór plastra miodu	hepatocyty, komórki nerwowe, komórki skóry, komórki nowotworowe,
[54]	kopolimer blokowy PS-2-winylopirydyna	paski	komórki macierzyste
[56]	szkło pokryte filmem złota	paski, poduszki, siatka	komórki macierzyste
[57]	PS	kwadraty	osteoblasty
[58]	PDMS, PLLA, kopolimer politereftalanu tlenku etylenu z politereftalanem butylenu PEOT/PBT	paski	komórki macierzyste
[59]	Złoto lub srebro pokryte warstwą alkanotiolanów	paski	mioblasty

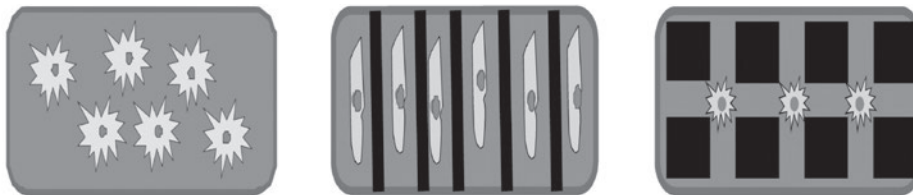
Odnosićnik literaturowy	Tworzywo sztuczne = podłoże	Rodzaj wzoru powierzchni	Rodzaj badanych komórek
[60]	PDMS, PET, PS, PMMA, polifluorek winylidenu PVDF, poli(N-izopropylakrylamid) PNIPAM	paski	komórki macierzyste
[61]	tytan, stop złoto-pallad	paski, dołki, poduszki, pory, cylindry, schody	fibroblasty, makrofagi, osteoblasty, neutrofile, komórki skóry, komórki nerwowe
[62]	PMMA, PDMS	paski	neutrofile
[63]	PS	paski	komórki mięśni gładkich
[64]	PMMA	paski	osteoblasty
[65]	PLLA	wyspy, paski, dołki	fibroblasty
[66]	PS	paski	osteoblasty
[67]	kopolimer laktydowo-glikolidowy PLGA	paski	fibroblasty
[68]	PDMS	paski	komórki macierzyste myszy
[69]	PU	paski	komórki macierzyste
[70]	PMMA, PDMS	paski	komórki mięśni gładkich naczyń krwionośnych
[71]	porowaty i nanokrystaliczny krzem	paski, poduszki	komórki macierzyste

Badania prowadzone *in vitro* nad wpływem nanotopografii powierzchni na komórki budzą duże zainteresowanie ze względu na podobieństwo do warunków *in vivo*, panujących w organizmie człowieka [70]. Określenie jak różne rodzaje komórek reagują na określony typ podłoża mogłoby pozwolić na przygotowanie konkretnego typu komórek lub też całych tkanek poza organizmem chorego. Dzięki temu można byłoby zrezygnować z konieczności podawania środków farmaceutycznych, których zadaniem jest stymulacja komórek do podziału i różnicowania się na określony typ [72].

W badaniach prowadzonych nad wpływem rozmiaru wzoru powierzchni na zachowanie się komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych na dwóch rodzajach podłoża użyto różniących się sztywnością polimerów: PDMS i polimetakrylanu metylu PMMA [70]. Zbliżone wyniki uzyskano dla obu typów podłoża. Odkryto, iż wzór odgrywał większą rolę niż właściwości zastosowanego polimeru. W przeciwieństwie do komórek na powierzchni gładkiej (Rys. 1a), na powierzchni pokrytej paskami zarówno całe badane komórki, jak i ich jądra komórkowe miały wydłużony kształt (Rys. 1b) [70]. Zaobserwowano także zorientowanie komórek równoległe do wzoru podłoża. Ponieważ komórki mięśni gładkich naczyń krwionośnych naturalnie mają wydłużony kształt stwierdzono, iż badania z ich udziałem powinny być prowadzone na wzorzystej powierzchni [70]. Negatywnym skutkiem wzrostu komórek

na wzorzystym podłożu był znaczny spadek szybkości podziału w porównaniu do komórek na gładkiej powierzchni, z $56.6 \pm 10.7\%$ na $47.7 \pm 12\%$. Zmianę kształtu oraz występowanie orientacji zaobserwowano także badając komórki macierzyste człowieka. Sprawdzono ich zachowanie się na podłożu z wzorem 1D (paski) oraz 2D (poduszki) [71]. Wypukłe części były wykonane z porowatego krzemu, natomiast pozostałe (wgnębienia) z mikrokrystalicznego krzemu. W przypadku wzoru 2D komórki lokowały się w przestrzeni pomiędzy poduszkami, na mikrokrystalicznym krzemie (Rys. 1c). Zbadano też zachowanie się komórek na podłożu pokrytym paskami o stałej szerokości $25 \mu\text{m}$ oraz o różnej szerokości zagłębień: 35 , 50 , $100 \mu\text{m}$ [71]. Na powierzchniach z dołkami $100 \mu\text{m}$ komórki przyłączały się wyłącznie do wypukłych pasków wykonanych z porowatego krzemu. Zmniejszenie rozmiaru wzoru do $50 \mu\text{m}$ skłaniało komórki do zajmowania również zagłębień powierzchni. Dla ostatniego typu wgnębień, spostrzeżono, iż szkielet aktynowy komórek znajdował się w zagłębieniu, podczas gdy jądro wraz z bliskim jego otoczeniem przyłączało się do wypukłych części powierzchni. Oprócz wpływu wzoru na ludzkie komórki macierzyste zbadano także jak wpływa on na zdolność tych komórek na różnicowanie się na osteoblasty [69]. Rozpatrywanym wzorem podłoża były paski o różnej szerokości na powierzchni PU [69]. Wraz ze wzrostem szerokości pasków obserwowano wzrost ilości przyłączonych do podłoża komórek. Stwierdzono, iż rozmiar wzoru ma wpływ na zdolność komórek do różnicowania się na komórki kostne, bez względu na to czy eksperyment prowadzony był w czy bez obecności czynnika stymulującego osteogenezę. Wzór o wielkości 400 nm (200 nm dołek i 200 nm górka) najefektywniej stymulował komórki do różnicowania się na osteoblasty. Podobne badania przeprowadzono na komórkach macierzystych myszy umieszczonych na wzorzystej powierzchni wykonanej z PDMS [68]. Udało się stwierdzić, iż wraz ze wzrostem odległości między kolejnymi elementami wzoru kształt komórek jest coraz bardziej kulisty. Jednocześnie okazało się, że najwięcej komórek różnicuje się na osteocyty przy najgęściej rozłożonych fragmentach wzoru.

W badaniach nad wpływem mikrotopografii na zachowanie się komórek nerwowych odkryto, że wraz ze zmniejszeniem powierzchni kontaktu między komórkami wzrasta liczba komórek różnicujących się na astrocyty, a maleje liczba tworzących się neuronów [56]. Stwierdzono także, że w sytuacji, kiedy powierzchnia materiału nie została wcześniej pokryta białkiem (lamininą) komórki nerwowe obumierały nie mogąc przyłączyć się do podłoża. Wykazano również, że w przypadku wzorów o rozmiarach powyżej $50 \mu\text{m}$ komórki nerwowe zachowywały się identycznie jak na powierzchni gładkiej.



Rysunek 1. Przykłady kształtów komórek na różnych powierzchniach a) gładka powierzchnia, b) paski, c) poduszki

Figure 1. Exemplary cell shapes on different micropatterned surfaces a) smooth surface, b) ridges, c) pillows

Wzór zawierający kwadraty sprzyja bardziej wydłużeniu kształtu komórek niż ten zawierający sześciokąty (tak jak w przypadku plastra miodu) [45]. Wynika to z faktu, że w przypadku sześciokątów komórki częściej muszą zmieniać kierunek swojego ruchu, co jest dla nich dodatkowym utrudnieniem. Ostatnio pojawia się jednak coraz więcej prac poświęconych wpływowi topografii o wzorze podobnym do plastra miodu na zachowanie się komórek. Przeprowadzono badania sprawdzające jak taki wzór powierzchni wpływa na funkcje życiowe komórek skóry, komórek nerwowych, hepatocytów, oraz zachowanie się komórek nowotworowych [46]. Wykazano przyspieszenie wzrostu oraz podziału zdrowych komórek oraz skuteczne spowolnienie wzrostu i podziału komórek patologicznych.

Oprócz wpływu samego wzoru istotna jest również jego wielkość. Komórki przyłączając się do powierzchni mają kontakt tylko z niewielkim fragmentem powierzchni, dlatego przy zastosowaniu wzorów o dużej wielkości komórki odbierają taką powierzchnię, jako całkowicie gładką. Podobna sytuacja ma miejsce, jeżeli wzór jest bardzo mały. Wówczas warstwa białek powoduje, że jest on praktycznie nierozpoznawalny dla komórek [43].

4.2. WPŁYW SZORSTKOŚCI POWIERZCHNI

Kolejnym czynnikiem, który może wpływać na zachowanie się komórek jest szorstkość powierzchni [1, 5, 31, 73, 74]. Większość badań prowadzona jest na podłożach wykonanych z tytanu, ale sprawdzany był także wpływ szorstkości na podłożach polimerowych, np. z PLLA, czy PS. Szorstkość powierzchni jest związana z topografią podłoża. Szorstkość jest to trójwymiarowy układ wzorów o różnych kształtach, wielkości i periodyczności występowania, podczas, gdy w przypadku topografii powierzchni wszystkie te elementy są dobrze określone i charakteryzują się regularnością występowania [51].

Powierzchnie materiałów wykorzystywanych w medycynie rzadko są gładkie na poziomie molekularnym. Znanych jest wiele sposobów ich modyfikacji, np. przez dodatek substancji aktywnych powierzchniowo, litografia, pokrycie materiału filmem samoorganizujących się cząsteczek (ang. *self assembling molecules*, SAM)

[31, 75, 76]. Adhezja komórek jest trudniejsza na bardziej gładkich powierzchniach ze względu na mniejszą rzeczywistą powierzchnię niż w przypadku podłoża szorstkiego [66]. Jednocześnie w wielu badaniach dowiedziono, że w początkowym etapie adhezja komórek zachodzi znacznie łatwiej na powierzchniach gładkich, po czym ta zależność ulega odwróceniu [1]. Wpływ szorstkości podłoża na czynności życiowe oraz morfologię komórek zależy przede wszystkim od rodzaju rozpatrywanych komórek. Szorstkość powierzchni znacząco wpływa na zdolność do osteointegracji implantu z tkankami kostnymi i chrzęstnymi [1]. W eksperymentach porównujących zachowanie się osteoblastów i fibroblastów na powierzchniach o różnej szorstkości wykazano, że preferują one podłoża o innych właściwościach [77]. Zgodnie z badaniami, osteoblasty wybierają powierzchnie o dużej szorstkości, ich podział następuje znacznie szybciej w takich warunkach niż na powierzchniach gładkich [77–79]. Odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku fibroblastów. Te komórki najszybciej namnażają się na powierzchniach gładkich [80–84]. Elementem wspólnym dla komórek jest spadek spłaszczenia wraz ze wzrostem szorstkości powierzchni podłoża [77, 79, 80, 82]. Przyczyną takiego zjawiska mogą być ograniczenia przestrzenne na powierzchniach szorstkich, jak również fakt, iż na powierzchniach gładkich komórki potrzebują przyłączyć się do większej ilości punktów na podłożu, żeby móc się na nim utrzymać [77]. Inną cechą wspólną jest spadek ruchliwości komórek na powierzchniach szorstkich [78, 81].

Stwierdzono też, że adhezja komórek nerwowych do powierzchni jest możliwa dla chropowatości w zakresie $R_a = 20\text{--}50\ \mu\text{m}$ [73]. W przypadku $R_a < 10\ \mu\text{m}$ lub $R_a > 70\ \mu\text{m}$ zdolność do adhezji była zdecydowanie zmniejszona. Jednocześnie stwierdzono, iż neurony samodzielnie potrafią rozpoznać fragmenty powierzchni o optymalnej dla siebie szorstkości i przemieszczają się w ich kierunku [73].

W przypadku badań nad wpływem szorstkości na zachowania komórek istnieje wiele sprzecznych wyników badań eksperymentalnych, czego przyczyną jest zastosowanie różnych typów komórek, różnych metali, stopów metali, polimerów, co znacząco utrudnia porównanie rezultatów. Jedną z rzeczy, które jednak potwierdzają wszystkie doniesienia jest fakt wpływu szorstkości powierzchni na orientację komórek. W przypadku szorstkości $R_a = 0,43\ \mu\text{m}$ orientacja komórek jest dobrze widoczna, dla szorstkości $R_a = 0,30\ \mu\text{m}$ słabo zauważalna, a dla powierzchni o $R_a < 0,16\ \mu\text{m}$ zanika [1].

4.3. SZTYWNOŚĆ PODŁOŻA

Należy również zwrócić uwagę na fakt, iż na funkcje życiowe oraz morfologię komórek wpływa także sztywność podłoża, z którym mają kontakt [84–99]. Różne typy komórek charakteryzują się różną elastycznością [84, 87–96, 98, 99]. Przykładowo najbardziej miękkimi, delikatnymi tkankami są te tworzone przez komórki nerwowe, dla których moduł sprężystości wynosi w granicach $0,1\text{--}10\ \text{kPa}$ [84, 90, 91, 94, 98]. W przypadku tkanek kostnych są to wartości $15\text{--}30\ \text{GPa}$ [90, 91, 94,

98]. Pośrednie właściwości sprężyste mają tkanki mięśni, dla których moduł Younga wynosi 10–100 kPa [90, 91, 94, 98]. Komórki odczuwają sztywność materiału podłoża poprzez oddziaływania z macierzą pozakomórkową ECM oraz z innymi komórkami [88, 98]. Dzięki oddziaływaniom międzykomórkowym wpływ otoczenia jest obserwowany nie tylko w najbliższym sąsiedztwie, ale ma charakter dalekozasięgowy [95]. Oprócz swoich naturalnych, charakterystycznych właściwości komórki mogą ulegać również usztywnieniu [88]. Ma to miejsce nie tylko na skutek chorób, ale także gojenia się ran [88]. Negatywnym skutkiem gojenia ran jest powstawanie blizn, które w niektórych miejscach organizmu nie mają większego znaczenia poza estetycznym, np. skóra [88]. Jednak w niektórych sytuacjach mogą być one bardzo groźne [88]. Szczególnie niebezpieczne są blizny powstające w centralnym układzie nerwowym, w mózgu i w rdzeniu kręgowym, ponieważ prowadzą do zaburzenia przewodzenia sygnałów nerwowych [88]. Nienaturalne sztywnienie komórek obserwuje się także w przypadku zmian nowotworowych, np. guzy piersi [91].

W celu badania wpływu elastyczności otoczenia na tkanki wykorzystuje się modele 2D i 3D [88–96, 100]. Do tworzenia modeli dwuwymiarowych wykorzystuje się najczęściej syntetyczne polimery np. poliakrylamid PA, PDMS, politlenek etylenu PEG, wielowarstwowe filmy polielektrolitów (ang. *polyelectrolyte multilayers*) PEM oraz naturalne substancje tj. kolagen, fibrynogen czy kwas hialuronowy [91]. W przypadku modeli trójwymiarowych, czyli syntetycznych macierzy pozakomórkowych ECM zastosowanie znalazły poliakrylamidy pokryte kolagenem oraz politlenek etylenu PEG [89, 92]. Główną wadą modeli 3D jest brak możliwości określenia jedynie wpływu sztywności takiego otoczenia z pominięciem wpływu właściwości biochemicznych oraz wpływu transportu substancji odżywczych [90, 96]. Dodatkowo wyniki eksperymentów prowadzonych z wykorzystaniem modeli 2D i 3D często nie są ze sobą zbieżne [90, 93, 96].

W wielu przypadkach stwierdzono różną zdolności komórek do różnicowania się wraz ze wzrostem sztywności materiału, jednak nie jest to regułą [87–96]. Przykładem odstępstwa od takiego założenia są neutrofile, które zachowują się tak samo bez względu na sztywność podłoża oraz miocyty, których zmiany cytoszkieletu są obserwowane jedynie powyżej określonej wartości sztywności [96, 99]. Komórki rosnące na sztywnym podłożu są sztywniejsze niż te znajdujące się na podłożu bardziej elastycznym [53, 90, 97]. Wraz ze wzrostem sztywności materiału podłoża rośnie organizacja cytoszkieletu komórkowego oraz oddziaływania komórki–podłoże [88, 90, 91, 95–98]. Budowa cytoszkieletu wpływa na kształt komórki oraz wpływa na jego zdolność do przekształcania sygnałów mechanicznych w chemiczne (transdukcja) [88, 90, 98]. Podczas badania wpływu sztywności podłoża na komórki macierzyste stwierdzono, że w zależności od elastyczności powierzchni materiału różnicowały się one na inne typy komórek [84, 98]. Do eksperymentu zastosowano żel z poliakrylonitrylu [84, 98]. Kiedy komórki znajdowały się na miękkim podłożu, o elastyczności odpowiedniej dla komórek nerwowych (0,1–10 kPa) różnicowały się

na neurocyty, dla żeli o elastyczności 11 kPa - w komórki mięśniowe, a dla 34 kPa w komórki kostne [84, 98].

Sztywne podłoże sprzyja też spłaszczeniu komórek, podczas gdy na miękkim przyjmują one kształt bardziej kulisty [88, 90, 91, 93–96, 101, 102]. Związane jest to właśnie z oddziaływaniem komórek z powierzchnią podłoża [87–96, 102]. Zaobserwowano, że fibroblasty rosnące na miękkim podłożu stykają się ze sobą i tworzą agregaty o strukturze przypominającej tkanki, natomiast wraz ze wzrostem sztywności materiału lokują się one z dala od siebie [90, 96, 102]. Takie zachowanie jest najprawdopodobniej spowodowane tym, że komórki „porównują” intensywność sygnałów, jakie odbierają z otoczenia [102]. Jeżeli rosną na sztywnej powierzchni wówczas oddziaływania komórka–podłoże są większe niż oddziaływania komórka–komórka, co powoduje, że unikają one kontaktu ze sobą [102]. Podobne wyniki uzyskano dla komórek naczyń krwionośnych oraz komórek śródbłonka [96, 102]. Sztywność otoczenia odgrywa również duże znaczenie w zdolności komórek do migracji [92, 93, 95, 96]. Ruchliwość komórek jest istotna dla procesów fizjologicznych [92, 93]. Jej zaburzenia prowadzą m.in. do chorób układu krwionośnego, immunologicznego, nowotworzenia komórek, jak również mogą być przyczyną chorób umysłowych [93]. Ciekawym zjawiskiem jest durotaksja (mechanotaksja), czyli przemieszczanie się komórek w kierunku fragmentów podłoża o większej sztywności [88, 90, 92, 93, 96, 100, 101]. Takie zjawisko obserwuje się dla fibroblastów oraz komórek mięśni gładkich [88, 90, 92, 93, 96, 100, 101]. Ogólnie przyjmuje się, iż wraz ze wzrostem sztywności podłoża zdolność komórek do migracji maleje [96]. Różnice we wpływie podłoża na różne typy komórek ma szczególne znaczenie w neurologii [99]. Komórki glejowe odpowiedzialne za tworzenie blizn w centralnym układzie nerwowym wymagają do przetrwania podłoża o dużej sztywności. Neurony preferują natomiast materiały elastyczne, miękkie. Doświadczalnie potwierdzono, iż zastosowanie miękkiego hydrożelu na miejsca uszkodzenia tkanki mózgu zapobiegło tworzeniu blizn [96, 101].

Dodatkowo przeprowadzając badania nad wpływem sztywności podłoża na zachowanie się komórek należy pamiętać, iż różne typy komórek są w różnym stopniu czułe na zmiany elastyczności materiału [99]. Przykładowo fibroblasty są komórkami bardzo czułymi, podczas gdy na neutrofile podłoże ma niewielki wpływ [99].

4.4. WPŁYW HYDROFILOWOŚCI POWIERZCHNI I OBECNOŚCI SPECYFICZNYCH GRUP FUNKCYJNYCH

Hydrofobowość i hydrofilowość powierzchni są cechami charakteryzującymi biomateriały i bezpośrednio wpływającymi na sposób oddziaływania komórek żywych z ich powierzchnią [4]. Hydrofilowość i hydrofobowość można regulować poprzez zastosowanie odpowiednich grup funkcyjnych na powierzchni materiału użytego do hodowli komórek. Do badań wykorzystuje się grupy funkcyjne, które

normalnie występują w organizmie człowieka. Generalnie komórki preferencyjnie przyłączają się, dzielą i rosną na hydrofilowych częściach powierzchni materiału [20, 31, 32, 36–38, 58, 103]. W badaniach komórek nerwowych myszy na powierzchniach o różnej topografii (pokrytych dwoma wzorami: poduszki i paski), stwierdzono, że komórki te przyłączają się wyłącznie do części hydrofilowych bez względu na wzór oraz to, która część wzoru była hydrofilowa (grupy hydroksylowe) a która hydrofobowa (grupy metylowe) [36]. Zaobserwowano też, że kiedy cała powierzchnia była hydrofilowa komórki przyłączały się równomiernie, a wzór nie miał istotnego znaczenia [36].

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na zasadnicze różnice w zachowaniu różnych typów komórek na różnych powierzchniach. Wynika to najprawdopodobniej z obecności różnych białek adhezyjnych na powierzchni komórek. Jednymi z najważniejszych komórek, których zachowanie bada się w oddziaływaniu z różnymi powierzchniami są leukocyty [104]. Są one szczególnie ważne ze względu na fakt, iż biorą one udział w odpowiedzi immunologicznej organizmu na wszczepiony implant lub urządzenie medyczne mające bezpośredni kontakt z krwią pacjenta, np. przy hemodializach. W badaniach nad oddziaływaniem leukocytów z powierzchniami posiadającymi grupy CH_3 , COOH i OH stwierdzono, że adhezja komórek zachodzi najłatwiej na powierzchniach hydrofobowych z grupami metylowymi, a najtrudniej na powierzchniach zawierających grupy hydroksylowe [104]. Limfocyty B posiadają na powierzchni immunoglobulinę G, która najchętniej oddziałuje z powierzchniami zawierającymi grupy: $\text{CH}_3 > \text{C}_6\text{H}_5\text{OH} > \text{COOH} > \text{NH}_2$ [104, 105]. Sugeruje to stosowanie w celu uniknięcia odpowiedzi immunologicznej organizmu materiałów zawierających grupy silnie hydrofilowe, które zdecydowanie utrudniają przyłączenie się leukocytów do powierzchni [104].

W przypadku albuminy obserwowane są stosunkowo niewielkie zmiany oddziaływań ze zróżnicowanymi chemicznie powierzchniami (grupy funkcyjne COOH , CH_3 , OH , COOCH_3) [106]. Inaczej dzieje się w przypadku fibronektyny, która jest dominującym czynnikiem odpowiadającym za adhezję komórek do podłoża. Najwięcej zaadsorbowanego białka stwierdzono na powierzchniach hydrofilowych zawierających grupy karboksylowe ($\text{COOH} > \text{CH}_3 > \text{OH} > \text{COOCH}_3$) [106]. W innych badaniach stwierdzono, że adhezja fibronektyny do powierzchni zachodzi najłatwiej dla materiału zawierającego następujące grupy funkcyjne: $\text{COOH} = \text{OH} > \text{CH}_3 = \text{NH}_2$ [27]. Fibronektyna jest głównym białkiem odpowiedzialnym za wiązanie osteoblastów do powierzchni materiału, podczas gdy w przypadku chondrocytów dominującą rolę dla adhezji ma witronektyna [37].

Adhezja fibroblastów zachodzi najłatwiej dla powierzchni zawierających grupy $\text{NH}_2 > \text{COOH} > \text{CH}_3 > \text{OH}$ [32, 107]. Z kolei mioblasty najchętniej przyłączają się do powierzchni zawierającej grupy: $\text{COOH} > \text{NH}_2 > \text{OH} > \text{CH}_3$, a różnicują się preferencyjnie na podłożach zawierających: $\text{OH} > \text{CH}_3 > \text{NH}_2 > \text{COOH}$ [38]. Adhezja komórek nabłonka rogówki jest znacznie łatwiejsza w obecności grup COOH i NH_2 niż dla bardziej hydrofobowych grup CH_3 i CF_3 [108].

Komórki kościotwórcze – osteoblasty – najsilniej wiążą się z powierzchnią zawierającą grupy: $\text{OH} > \text{COOH} > \text{NH}_2 > \text{CH}_3$ [103]. Komórki macierzyste najczęściej różnicują się na osteoblasty na powierzchniach zawierających grupy aminowe NH_2 [37]. Spowodowane to być może tym, że przeważający wpływ na adhezję osteoblastów do podłoża ma obecność witronektyny. Ponieważ w przypadku obecności na powierzchni materiału grup aminowych zdolność fibronektyny do przyłączenia się maleje, tym samym wzrasta prawdopodobieństwo adhezji witronektyny. W takich warunkach preferowane jest różnicowanie się komórek macierzystych na osteoblasty. W przypadku obecności grup NH_2 komórki były spłaszczone, podczas, gdy na podłożu z grupami COOH były kuliste [37]. Dodatkowo okazało się, iż w przypadku podłoża zawierającego grupy COOH zaobserwowano dominujące różnicowanie się komórek macierzystych w chondrocyty [37]. Przyczyną takiego zjawiska może być silny wpływ fibronektyny, która łatwo przyłącza się do tego typu powierzchni, na adhezję właśnie komórek chrzęstnych. W takich warunkach wykryto zwiększone wydzielanie markerów chondrogenyzy [37]. Pozostałe badane grupy tj. OH , SH , CH_3 nie wpływały na morfologię i zachowanie komórek – w badanych warunkach nie obserwowano różnicowania się komórek macierzystych [37].

Specyficzne chemicznie powierzchnie mają wpływ na zachowanie się komórek macierzystych w obecności oraz bez czynników stymulujących chondro- i osteogenezę [109]. Zgodnie z wynikami, można wyróżnić trzy kategorie oddziaływań. Na powierzchniach z grupami NH_2 i SH łatwiej zachodziła osteogeneza zarówno w obecności jak i bez czynnika biologicznie stymulującego różnicowanie się komórek. Chondrogenyza była z kolei wspierana przez obecność na powierzchni grup OH oraz COOH . W przypadku grup CH_3 oraz powierzchni niezmodyfikowanego szkła borokrzemowego komórki miały zdolność do różnicowania się zarówno na osteoblasty jak i na chondrocyty w zależności od obecności odpowiedniego czynnika stymulującego [109].

Oprócz badań nad wpływem określonego rodzaju grup funkcyjnych na zachowanie komórek nerwowych, przeprowadzone zostały też badania nad wpływem gęstości grup COOH na powierzchniach wykonanych z politereftalanu etylu szczepionego kwasem poliakrylowym (PAA-PET) [11]. W odpowiedzi, komórki preferowały miejsca o mniejszej gęstości grup COOH . Dzięki takiemu zachowaniu komórek zaobserwowano gradient ilości zaadsorbowanych neuronów wzdłuż gradientu gęstości grup karboksylowych na powierzchni materiału. Komórki rosnące przeciwko gradientowi stężenia grup funkcyjnych były dłuższe niż te rosnące zgodnie z gradientem (w kierunku obszarów o większej gęstości grup COOH) [11]. Podobne badania nad wpływem gęstości rozmieszczenia grup karboksylowych na powierzchni podłoża z poli(kwasu winylooctowego) na komórki śródbłonka wykazały, że wzrost stężenia badanych grup funkcyjnych poprawiał zdolność komórek śródbłonka do adhezji i różnicowania się [110].

Pomimo dużego wpływu hydrofilowości powierzchni na funkcje życiowe komórek nie jest to jedyny czynnik warunkujący ich zachowanie [16]. Stwierdzono,

że w niektórych przypadkach dla komórek nie jest korzystny zarówno zbyt silny charakter hydrofobowy powierzchni, jak i zbyt silne właściwości hydrofilowe [16]. Zaobserwowano, iż komórki nie przylegały do podłoża, dla których kąt zwilżania wynosił powyżej 80° lub poniżej 15° [16]. Wynik badań nie był jednoznaczny dla wszystkich przebadanych rodzajów podłoża [16]. Komórki chętnie przyłączały się do hydrofilowej powierzchni podłoża wykonanego z kwasu poliakrylowego PAA/bentonit oraz powierzchni modyfikowanych kolagenem pomimo kąta zwilżalności mniejszego niż 15° [16].

Inne badania wykazały, iż hydrofobowość powierzchni może w początkowym etapie sprzyjać adhezji komórek, ale ich podział i namnażanie zachodzi łatwiej na powierzchniach bardziej hydrofilowych i niewzorzystych [58]. Takie zachowanie można uzasadnić termodynamicznie [42]. Adhezja białek do podłoża wpływa na zdolność komórek do przyłączania się do materiału [13, 24–32, 42, 49]. W warunkach środowiska wodnego grupy polarne białek skierowane są na zewnątrz, podczas, gdy grupy apolarne skierowane są do wewnątrz cząsteczki [42]. W pobliżu powierzchni o właściwościach hydrofobowych cząsteczki białek zmieniają swoją konformację, kierując na zewnątrz (w kierunku powierzchni podłoża) swoje grupy apolarne [42]. W czasie adsorpcji białka do podłoża zarówno powierzchnia materiału jak i cząsteczka białka ulegają przynajmniej częściowej dehydratacji, która zachodzi najłatwiej, dla układów hydrofobowych [42].

Na powierzchniach hydrofobowych wzór powierzchni nie wpływał w początkowym etapie na zdolność komórek do przyłączenia się do podłoża [58]. Zbadano wpływ odstępów między wzorem poduszek na materiałach wykonanych z różnych polimerów tj. PDMS, poli-L-laktydu PLLA oraz kopolimeru politlenek etylenu/politereftalan butylenu TEOT/PBT na zachowanie się mioblastów [58]. Obecność poduszek o różnej wysokości, rozmieszczonych w różnej odległości od siebie wpływała na zwilżalność powierzchni badanego materiału. Okazało się, że na morfologię komórek wpływ miała topografia podłoża oraz właściwości samego materiału. W przypadku niewzorzystego podłoża wykonanego z PDMS komórki miały kształt kulisty i były słabo rozplaszczone, ale dobrze przylegały do podłoża z PLLA. W zależności od odstępów między wzorami komórki przyłączały się do powierzchni poduszek bądź lokowały się w przestrzeni między nimi. W przypadku odstępów $2\ \mu\text{m}$, czyli mniejszych niż szerokość pojedynczej komórki, mioblasty lokowały się na powierzchni poduszek. Podczas gdy komórki były spłaszczone i układały się na powierzchni kilku poduszek ich filopodia pozostawały pomiędzy wzorem, na podstawie materiału, rozciągając się w poszukiwaniu innych komórek. Dla większych odstępów, $14\ \mu\text{m}$, całe komórki znajdowały się na dolnej części materiału. W sytuacji, kiedy podłoże wykonane było z PDMS komórki dążyły do zmniejszenia powierzchni kontaktu z podłożem i zawsze przyłączały się do powierzchni poduszek, bez względu na odległość między nimi.

Obecnie pracuje się nad różnymi metodami pozwalającymi zmniejszyć hydrofobowość materiałów wykonanych z polimerów [112]. Jednymi z takich technik

jest poddanie materiału działaniu plazmy tlenowej (ang. *oxygen-plasma*) lub ozonu generowanego pod wpływem promieniowania UV (ang. *UV-ozone*) [112]. Ze względu na obecność cząstek o wysokiej energii kinetycznej ta pierwsza metoda utleniania jest bardziej drastyczna. Materiały zmienione w taki sposób nadal pozostają w pełni biokompatybilne. Używane do badań nad komórkami PC, PMMA, PDMS, PS oraz cykliczne kopolimery olefinowe COC są hydrofobowe [112]. Najczęściej stosowany PDMS jest popularny ze względu na niski koszt, łatwość otrzymania, dobrą przepuszczalność gazów oraz biokompatybilność. Jego wadą jest duże prawdopodobieństwo uwalniania do układu krótkich, nieusieciowanych oligomerów [112]. Właściwości powierzchni można zmienić utleniając ich powierzchnię, ale jest to zmiana czasowa. Materiały zawsze powracają do swojej pierwotnej hydrofobowości (ang. *hydrophobic recovery*), jedynie czas, na jaki udaje się zmienić właściwości powierzchniowe jest różny dla różnych materiałów. Uzyskana hydrofilowość najszybciej zanika dla PS, a najwolniej dla polimetakrylanu metylu [112]. W badaniach porównujących zdolność komórek wątrobiaka do adhezji i podziału na utlenionych obiema metodami powierzchniach wymienionych materiałów polimerowych stwierdzono, że najmniej komórek przyłączyło się do powierzchni wykonanej z PDMS, więcej do PMMA, a najwięcej do przygotowanej z PS, PC oraz cyklicznych kopolimerów olefinowych COC [112]. Dodatkowo stwierdzono, iż około 12% przyłączonych komórek obumarło na powierzchni PMMA. Zdolność do przepuszczalności gazu malała w szeregu PDMS>COC>PC>PS>PMMA. Udało się w ten sposób potwierdzić, iż takie polimery jak PS, PC i COC mogą stanowić alternatywę dla używanego najczęściej PDMS.

4.5. WPŁYW ŁADUNKU POWIERZCHNIOWEGO

W wielu pracach zajmowano się dodatkowo wpływem ładunku powierzchniowego na zachowanie komórek. Ogólnie, ładunek powierzchniowy powoduje niespecyficzne wiązanie białek z podłożem na podstawie oddziaływań elektrostatycznych [18]. Może być to niepożądanym zjawiskiem ze względu na gromadzenie się komórek w określonych rejonach podłoża, co z kolei może prowadzić do zbierania się komórek w grupy wewnątrz organizmu i wywołania odpowiedzi immunologicznej organizmu [18].

Grupami funkcyjnymi stosowanymi w tym celu do badań osteocytów i chondrocytów były dodatnio naładowane grupy NH_2 oraz ujemnie naładowane grupy COOH (przy $\text{pH} \approx 7,4$) rozmieszczone na płytkach szklanych modyfikowanych odpowiednimi silanami [37]. Wyniki badań wskazują, że osteocyty preferują powierzchnie naładowane dodatnio, a chondrocyty ujemnie. W badanych warunkach zaobserwowano nie tylko większą ilość przyłączonych komórek, ale także łatwiejsze warunki do podziału i różnicowania [37].

Szczególną uwagę należy poświęcić hydrożelom, które są syntetycznymi materiałami mogącymi naśladować funkcje, które w organizmie pełni ECM. Hydrożele

są idealnym materiałem w inżynierii tkankowej, są resorbowalne i znacznie obniżają ryzyko reakcji immunologicznej organizmu [113]. Dlatego są bardzo popularne i znalazły wiele zastosowań we współczesnej medycynie [113–115]. Badania porównawcze nad zachowaniem się chondrocytów na takich podłożach polimerowych prowadzono wykorzystując biodegradowalny, biokompatybilny i bioresorbowalny oligo[fumaran poli(glikolu etylenowego)] (OPF), jako matrycę obojętną elektrycznie [116]. Po zmodyfikowaniu OPF przy użyciu takich monomerów jak metakrylan sodu (SMA) czy chlorek 2-metakryloksyetylo-trimetyloamonowy (MAETAC) uzyskano hydrożele naładowane odpowiednio ujemnie i dodatnio. We wszystkich przypadkach, po podziale komórek, wykryto na powierzchni matrycy kolagen II, przy czym jego ilość na podłożu naładowanym ujemnie była większa. Podobna sytuacja miała miejsce przy badaniu obecności glikanu glukozaminy [116]. Odpowiedzialny za regulację ekspresji kolagenu typu I i II łańcuch odwrotnej transkryptazy powodował zwiększoną produkcję kolagenu II oraz zmniejszoną kolagenu I na hydrożelach z ładunkiem ujemnym na powierzchni. Obniżona ilość kolagenu II na hydrożelach naładowanych dodatnio została powiązana z anaplazją – odróżnicowywaniem się komórek charakterystycznym dla procesów nowotworzenia. Chondrocyty różnicowały się na coraz mniej wyspecjalizowane, aż do utworzenia fibroblastów.

Odwrotne wyniki uzyskano podczas badania wpływu ładunku powierzchniowego polimerowych hydrożeli HEMA (2-hydroksymetakrylan etylu) i PEG (poliglikol etylenowy) na osteocyty i fibroblasty pochodzące od myszy [113]. HEMA i PEG w normalnych warunkach są obojętne elektrycznie i nie oddziałują z komórkami. Jednak poprzez włączenie w ich strukturę naładowanych monomerów można zastosować je do badań nad wpływem ładunku powierzchniowego. Istnieje również możliwość włączenia w ich strukturę pożądaných ligandów adhezyjnych tj. tripeptydu RGD. Zgodnie z przeprowadzonymi badaniami oba hydrożele (HEMA i PEG) z ładunkiem dodatnim ułatwiały adhezję i rozplaszczanie się osteoblastów, w porównaniu z powierzchnią neutralną i ujemnie naładowaną. Jednocześnie stwierdzono, że badane hydrożele lepiej wspierają adhezję osteoblastów niż fibroblastów [113].

W czasie podobnych badań, w których zastosowano PU i PDMS stwierdzono, że dla tego pierwszego fibroblasty preferują dodatni ładunek powierzchni, podczas gdy przy zastosowaniu matrycy PDMS sytuacja ulegała odwróceniu [116]. W obu przypadkach zdolność komórek do adhezji była większa dla naładowanego podłoża niż dla obojętne elektrycznie.

PODSUMOWANIE

Pomimo prowadzonych badań nad zastosowaniem biomateriałów w inżynierii tkankowej nie udało się jak dotąd jednoznacznie wykryć wszystkich czynników wpływających na zachowanie się komórek oraz odpowiedzieć na pytanie, które z nich mają decydujący wpływ na procesy rozwoju komórek. Wszystkie dotychczasowe prace potwierdzają, że w czasie projektowania materiałów do hodowli komór-

kowej oraz materiałów na implanty należy brać pod uwagę wpływ topografii, hydrofilowości, szorstkości, grup końcowych, rodzaju materiału, ładunku powierzchni. Należy również mieć na uwadze inne czynniki oraz fakt, że reakcja komórek na poszczególne bodźce zależy przede wszystkim od typu badanych komórek.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H.-H. Huang, C.-T. Ho, T.H. Lee, T.-L. Lee, *Biomol. Eng.*, 2004, **21**, 93.
- [2] K. Anselme, H. Biggerelle, *Acta biomaterialia*, 2005, **1**, 3, 211.
- [3] *Chemia polimerów. Polimery naturalne i polimery o specjalnych właściwościach*, Z. Florjańczyk, S. Penczka [Eds], tom III, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1999, str. 159–178.
- [4] H. Ghanbari, H. Ghanbari, A.G. Kidane, G. Buriesci, B. Ramesh, A. Darbyshire, A.M. Seifalian, *Acta Biomaterialia*, 2010, **6**, 11, 4249.
- [5] E. Ołędzka, M. Sobczak, W.L. Kołodziejski, *Polimery*, 2007, **11–12**, 793.
- [6] S. Słomkowski, *Polimery*, 2006, **2**, 87.
- [7] A.G. Kidane, G. Burriesci, P. Cornejo, A. Dooley, S. Sarkar, P. Bonhoeffer, M. Edirisinghe, A.M. Seifalian, *J. Biomed. Mat. Res. B: Appl. Biomater.*, 2008, **88B**, 1, 290.
- [8] A.G. Kidane, G. Burriesci, P. Cornejo, A. Dooley, S. Sarkar, P. Bonhoeffer, M. Edirisinghe, A.M. Seifalian, *Acta Biomaterialia*, 2009, **5**, 7, 2409.
- [9] M.S. Motwani, Y. Rafiei, A. Tzifa, A.M. Seifalian, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2011, **58**, 1, 2.
- [10] B.D. Ulery, L.S. Nair, C.T. Laurencin, *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, 2011, **49**, 12, 832.
- [11] B. Li, Y. Ma, S. Wang, P.M. Moran, *Biomaterials* 2005, **26**, 4956.
- [12] M. Vert, *Macromol. Biosci.*, 2011, **11**, 1653.
- [13] L.G. Griffith, *Acta Mater.*, 2000, **48**, 263.
- [14] B.P. Robinson, J.O. Hollinger, E.H. Szachowicz, J. Brekke, *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1995, **112**, 707.
- [15] Y.H. An, S.K. Woolf, R.J. Friedman, *Biomaterials*, 2000, **21**, 2635.
- [16] W. Fabianowski, B. Polak, M. Lewandowska-Szumiel, *Polimery*, 2004, **49**, 7–8, 522.
- [17] J.C. Middleton, A.J. Tipton, *Biomaterials*, 2000, **21**, 2335.
- [18] Y. Xu, M. Takai, K. Ishihara, *Biomaterials*, 2009, **30**, 4930.
- [19] R.Y. Kannan, H.J. Salacinski, K.M. Sales, P.E. Butler, A.M. Seifalian, *Cell Biochem. Biophys.*, 2006, **45**, 129.
- [20] K. Sakakibara, J.P. Hill, K. Ariga, *Small*, 2011, **7**, 10, 1288.
- [21] O. Guillame-Gentil, O. Semenov, A.S. Roca, T. Groth, R. Zahn, J. Vörös, M. Zenobi-Wong, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 5443.
- [22] M. Mrksich, *Chem. Soc. Rev.*, 2000, **29**, 267.
- [23] S. Petersen, M. Gattermayer, M. Biesalski, *Adv. Polym. Sci.*, 2011, **240**, 35.
- [24] R.O. Hynes, *Trends Cell Biol.*, 1999, **9**, 12, M33.
- [25] A.J. Garcia, M.D. Vega, D. Boettiger, *Mol Biol Cell*, 1999, **10**, 3, 785.
- [26] G. Fuller, D. Shields, *Podstawy molekularne biologii komórki*, rozdział 8 (2005) Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- [27] M.H. Lee, P. Ducheyne, L. Lynch, D. Boettiger, R.J. Composto, *Biomaterials*, 2006, **27**, 1907.
- [28] B.J. Spargo, M.A. Testoff, T.B. Nielsen, D.A. Stenger, J.J. Hickman, A.S. Rudolph, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, **91**, 11070.
- [29] D.S.W. Benoit, K.S. Anseth, *Biomaterials* 2005, **26**, 5209.

- [30] K.C. Dee, T.T. Andersen, R. Bizios, *Biomaterials*, 1999, **20**, 221.
- [31] P. Roach, D. Eglin, K. Ronde, C.C. Perry, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2007, **18**, 1263.
- [32] K.B. McClary, T. Ugarova, D.W. Grainger, *J. Biomed. Res.*, 2000, **50**, 428.
- [33] C.A. Scotchford, C.P. Gilmore, E. Cooper, G.J. Leggett, S. Downes, *J. Biomed. Mat. Res.*, 2002, **59**, 1, 84.
- [34] Y. Xu, Y. Shi, S. Ding, *Nature*, 2008, **453**, 338.
- [35] A.M. Ross, Z. Jiang, M. Bastmeyer, J. Lahann, *Small*, 2012, **8**, 336.
- [36] K. Faid, R. Voicu, R. Tremblay, M. Bani-Yaghoub, R. Tremblay, G. Mealing, C. Py, R. Barjovanu, *Biomed. Microdev.*, 2005, **7**, 3, 179.
- [37] J.M. Curran, R. Chen, J.A. Hurt, *Biomaterials*, 2005, **26**, 7057.
- [38] M.A. Lan, C.A. Gersbach, K.E. Michael, B.G. Keselowsky, A.J. Garcia, *Biomaterials*, 2005, **26**, 4523.
- [39] P. Roach, T. Parker, M.R. Alexander, N. Gadegaard, *Surf. Sci. Rep.*, 2010, **65**, 145.
- [40] L. Yang, Y. Li, B.W. Sheldon, T.J. Webster, *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**, 205.
- [41] H.-C. Lai, L.-F. Zhuang, X. Liu, M. Wieland, Z.-Y. Zhang, Z.-Y. Zhang, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 2009, **93A**, **1**, 289.
- [42] J. Comelles, M. Estévez, E. Martínez, J. Samitier, *Nanomed. Nanotech. Biol. Med*, 2010, **6**, 1, 44.
- [43] Y. Yang, K.W. Leong, *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.*, 2010, **2**, 478.
- [44] D. Zahor, A. Radko, R. Vago, L.A. Gheber, *Mat. Sci. Eng. C*, 2007, **27**, 117.
- [45] M.J. Poellmann, P.A. Harrell, W.P. King, A.J. Wagoner Johnson, *Acta Biomaterialia*, 2010, **6**, 3514.
- [46] M. Tanaka, *Biochimica et biophysica acta*, 2011, **1810**, 3, 251.
- [47] A. Folch, M. Toner, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 2000, **02**, 227.
- [48] S. Tawfick, M. De Volder, D. Copic, S.J. Park, C.R. Oliver, E.S. Polsen, M.J. Roberts, A.J. Hart, *Adv. Mater.*, 2012, **24**, 1628.
- [49] F.L. Yap, Y. Zhang, *Biosens. Bioelectron.*, 2007, **22**, 775.
- [50] D. Falconnet, G. Csucs, H.M. Grandin, M. Textora, *Biomaterials*, 2006, **27**, 3044.
- [51] P.J. Hesketh, *BioNanoFluidic MEMS*, Springer, 2008, Chapter 10.
- [52] R. Sulima, *Prace instytutu Elektrotechniki*, 2003, **zeszyt 213**, 17.
- [53] C. Atwood, *Methodological Advances in the Culture, Manipulation and Utilization of Embryonic Stem Cells for Basic and Practical Applications*, InTech, 2011, Chapter 8.
- [54] T. Eklblad, B. Liedberg, *Curr. Opin. Coll. Int. Sci.*, 2010, **15**, 499.
- [55] G.R. Owen, J. Jackson, B. Chehroudi, H. Burt, D.M. Brunette, *Biomaterials*, 2005, **26**, 7447.
- [56] A. Solanki, S. Shah, K.A. Memoli, S.Y. Park, S. Hong, K.B. Lee, *Small*, 2010, **6**, 22, 2509.
- [57] E. Lamers, R. van Horssen, J. te Riet, R. Luttge, X.F. Walboomers, J.A. Jansen, *Eur. Cell Mater.*, 2010, **20**, 329.
- [58] B.J. Papenburg, E.D. Rodrigues, M. Wessling, D. Stamatialis, *Soft Matter*, 2010, **6**, 4377.
- [59] M. Mrksich, L.E. Dike, J. Tien, D.E. Ingber, G.M. Whitesides, *Exp. Cell Res.*, 1997, **235**, 305.
- [60] R.G. Flemming, C.J. Murphy, G.A. Abrams, S.L. Goodman, P.F. Nealey, *Biomaterials*, 1999, **20**, 573.
- [61] J. Tan, W.M. Saltzman, *Biomaterials*, 2002, **23**, 3215.
- [62] E.K.F. Yim, R.M. Reano, S.W. Pang, A.F. Yee, C.S. Cheng, K.W. Leong, *Biomaterials*, 2005, **26**, 5403.
- [63] K. Matzusaka, X.F. Walboomers, M. Yoshinari, T. Inoue, J.A. Jansen, *Biomaterials*, 2003, **24**, 2711.
- [64] M.J. Dalby, C.C. Berry, M.O. Riehle, D.S. Sutherland, H. Agheli, A.S. Curtis, *Exp. Cell Res.*, 2004, **295**, 387.
- [65] K. Matsuzaka, X.F. Walboomers, J.E. de Ruijter, J.A. Jansen, *Biomaterials*, 1999, **20**, 1293.
- [66] J.L. Ricci, J.C. Grew, H. Alexander, *J. Biomed. Mat. Res. A*, 2007, **85A**, 2, 313.

- [67] C.Y. Tay, M. Pal, H. Yu, S. Leong, N.S. Tan, K.W. Ng, S. Venkatraman, F. Boey, D.T. Leong, L.P. Tan, Small, 2011, 7, 10, 1416.
- [68] S.H. Seo, K. Furukawa, Y. Suzuki, N. Kasagi, T. Ichiki, T. Ushida, Macromol. Biosci. 2011, 11, 938.
- [69] S. Watari, K. Hayashi, J.A. Wood, P. Russell, P.F. Nealey, C.J. Murphy, D.C. Genetos, Biomaterials, 2012, 33, 128.
- [70] E.K.F. Yim, R.M. Reano, S.W. Pang, A.F. Yee, C.S. Chen, K.W. Leong, Biomaterials, 2005, 26, 5405.
- [71] V. Torres-Costa, G. Martínez-Munoz, V. Sánchez-Vaquero, A. Muñoz-Noval, L. González-Méndez, E. Punzón-Quijorna, D. Gallach-Pérez, M. Manso-Silván, A. Climent-Font, J.P. García-Ruiz, R.J. Martín-Palma, Int. J. Nanomed., 2012, 7, 623.
- [72] L.E. McNamara, R.J. McMurray, M.J.P. Biggs, F. Kantawong, R.O.C. Oreffo, M.J. Dalby, J. Tissue Eng., 2010, Article ID 120623, doi:10.4061/2010/120623.
- [73] Y.W. Fan, F.Z. Cui, S.P. Hou, Q.Y. Xu, L.N. Chen, I.S. Lee, J. Neurosci. Meth., 2002, 120, 17.
- [74] A. Diener, B. Nebe, P. Becker, U. Bech, F. Lüthen, H.G. Neumann, J. Rychly, Biomaterials, 2005, 26, 383.
- [75] W.A. Loesberg, *Mechanosensitivity of Fibroblasts Interaction between altered gravity conditions and surface topography*, PhD thesis (2008) Chapter 1, Radboud University Nijmegen, The Netherlands.
- [76] M.J.P. Biggs, R.G. Richards, M.J. Dalby, Nanomed. Nanotech. Biol. Med., 2010, 6, 619.
- [77] T.P. Kunzler, T. Drobek, M. Schuler, N.D. Spencer, Biomaterials, 2007, 28, 2175.
- [78] N.R. Washburn, K.M. Yamada, C.G. Simon Jr., S.B. Kennedy, E.J. Amis, Biomaterials, 2004, 25, 1215.
- [79] K. Kieswetter, Z. Schwartz, T.W. Hummert, D.L. Cochran, J. Simpson, S.D.D. Dean, B.D. Boyan, J. Biomed. Mater. Res., 1996, 32, 55.
- [80] C. Xu, F. Yang, S. Wang, S. Ramakrishna, J. Biomed. Mater. Res., Part A, 2004, 71A, 154.
- [81] J.M. Łopacińska, C. Gradinaru, R. Wierzbicki, C. Købler, M.S. Schmidt, M.T. Madsen, M. Skolimowski, M. Dufva, H. Flyvbjerg, K. Mølhave, Nanoscale, 2012, 4, 3739.
- [82] E.R. Takamori, R. Cruz, F. Gonçalves, R.V. Zanetti, A. Zanetti, J.M. Granjeiro, Artif. Organs, 2008, 32, 4, 305.
- [83] T.-W. Chung, S.-S. Wang, Y.-Z. Wang, C.-H. Hsieh, E. Fu, J. Mater. Sci. Mater. Med., 2009, 20, 397.
- [84] R.A. Marklein, J.A. Burdick, Adv. Mater., 2010, 22, 175.
- [85] T. Danino, D. Volfson, S.N. Bhatia, L. Tsimring, J. Hasty, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006, 103, 10889.
- [86] Y.A. Miroshnikova, D.M. Jorgens, L. Spirio, M. Auer, A.L. Sarang-Sieminski, V.M. Weaver, Phys Biol., 2011, 8, 2, 026013.
- [87] M.P. Lutolf, P.M. Gilbert, H.M. Blau, Nature, 2009, 462, 433.
- [88] S.K. Bhatia, *Engineering biomaterials for regenerative medicine: novel technologies for clinical applications*, Springer Science+Business Media, 2012, Chapter 2.
- [89] M. Ehrbar, A. Sala, P. Lienemann, A. Ranga, K. Mosiewicz, A. Bittermann, C.S. Rizzi, F.E. Weber, M.P. Lutolf, Biophys. J., 2011, 100, 2, 284.
- [90] R.G.M. Breuls, T.U. Jiya, T.H. Smit, The Open Orthopaedics Journal, 2008, 2, 103.
- [91] F. Rehfeldt, A.J. Engler, A. Eckhardt, F. Ahmed, D.E. Discher, Adv. Drug Deliv. Rev., 2007, 59, 1329.
- [92] C.M. Lo, H.B. Wang, M. Dembo, Y.-L. Wang, Biophys. J., 2000, 79, 144.
- [93] H.D. Kim, S.R. Peyton, Integr. Biol., 2012, 4, 37.
- [94] S.W. Moore, M.P. Sheetz, Dev. Neurobiol., 2011, 71, 11, 1090.

- [95] P. Kollmannsberger, C.M. Bidan, J.W.C. Dunlop, P. Fratzl, *Soft Matter*, 2011, **7**, 9549.
- [96] S. Nemir, J.L. West, *Ann. Biomed. Eng.*, 2010, **38**, 1, 2.
- [97] A.J. Engler, M.A. Griffin, S. Sen, C.G. Bönnemann, H.L. Sweeney, D.E. Discher, *The Journal of Cell Biology*, 2004, **166**, 6, 877.
- [98] A.J. Engler, S. Sen, H.L. Sweeney, D.E. Discher, *Cell*, 2006, **126**, 4, 677.
- [99] R.G. Wells, *Hepatology*, 2008, **47**, 4, 1394.
- [100] R.D. Sochol, A.T. Higa, R.R.R. Janairo, S. Lib, L. Lin, *Soft Matter*, 2011, **7**, 4606.
- [101] P.C. Georges, P.A. Janmey, *J. Appl. Physiol.*, 2005, **98**, 1547.
- [102] W.-h. Guo, M.T. Frey, N.A. Burnham, Y-l. Wang, *Biophys. J.*, 2006, **90**, 6, 2113.
- [103] B.G. Keselowsky, D.M. Collard, A.J. Garcia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, **25**, 5947.
- [104] J.N. Barbosa, M.A. Barbosa, A.P. Aguas, *J. Biomed. Mat. Res. A*, 2003, **65**, 4, 429.
- [105] V. Silin, H. Weetall, D.J. Vanderah, *J. Coll. Int. Sci.*, 1997, **185**, 1, 94.
- [106] B. Tarasevich, C. Tidwell, S.I. Ertel, S. Atre, *Langmuir*, 1997, **13**, 3404.
- [107] N. Faucheux, R. Schweiss, C. Werner, T. Groth, *Biomaterials*, 2004, **25**, 2721.
- [108] M. Franco, P.F. Nealey, *J. Biomed. Mat. Res. A*, 2000, **52**, 2, 261.
- [109] J.M. Curran, R. Chen, J.A. Hunt, *Biomaterials*, 2006, **27**, 4783.
- [110] D. Bhattacharyya, H. Xu, R.R. Deshmukh, R.B. Timmons, *J. Biomed. Mat. Res. A*, 2010, **94A**, 2, 640.
- [111] P.M. van Midwoud, A. Janse, M.T. Merema, G.M.M. Groothuis, E. Verpoorte, *Anal. Chem.*, 2012, **84**, 3938.
- [112] G.B. Schneider, A. English, M. Abraham, R. Zaharias, *Biomaterials*, 2004, **25**, 3023.
- [113] M.S. Shoichet, *Macromolecules*, 2010, **43**, 581.
- [114] B.V. Slaughter, S.S. Khurshid, O.Z. Fisher, A. Khademhosseini, N.A. Peppas, *Adv. Mater.*, 2009, **21**, 3307.
- [115] M. Dadsetan, M. Pumberger, M.E. Casper, K. Shogren, M. Giuliani, T. Ruesink, T.E. Hefferan, B.L. Currier, M.J. Yaszemski, *Acta Biomaterialia*, 2011, **7**, 5, 2080.
- [116] M.T. Khorasani, S. Moemenbellah, H. Mirzadeh, B. Sadatnia, *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, 2006, **51**, 112.

Praca wpłynęła do Redakcji 17 lipca 2012

**METODY SYNTEZY POCHODNYCH
ORGANICZNYCH ZAWIERAJACYCH WIĄZANIE
POTRÓJNE WĘGIEL-WĘGIEL**

**METHODS FOR THE SYNTHESIS OF ORGANIC
DERIVATIVES CONTAINING THE TRIPLE BOND
CARBON-CARBON**

Irena Bylińska*, Katarzyna Guzow

*Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii,
ul. J. Sobieskiego 18/19, 80-952 Gdańsk
e-mail: irma@chem.univ.gda.pl*

Abstract

Wprowadzenie

Metody syntezy pochodnych acetylenu

1. Symetryczne pochodne acetylenu
 - 1.1. Reakcja Glasera i jej modyfikacje
 - 1.2. Związki boru w syntezie pochodnych acetylenu
 - 1.3. Inne metody syntezy symetrycznych pochodnych acetylenu
2. Asymetryczne pochodne acetylenu
 - 2.1. Reakcja Cadiota-Chodkiewicza
 - 2.2. Modyfikacja reakcji Haya
 - 2.3. Reakcja Sonogashiry-Hagihary i jej modyfikacje
3. Inne metody syntezy

Grupy ochronne w syntezie pochodnych acetylenu

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Dr inż. Irena Bylińska w roku 2000 podjęła studia na kierunku Chemia (specjalność: chemia biologiczna), na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, które ukończyła w roku 2005 uzyskując tytuł magistra. W roku 2004 rozpoczęła studia na kierunku Technologie Ochrony Środowiska (specjalizacja Systemy Ochrony Środowiska), na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, które ukończyła w roku 2008, uzyskując tytuł inżyniera. Od roku 2005 była słuchaczką Stacjonarnych Studiów Doktoranckich Chemii i Biochemii na Wydziale Chemii UG, których owocem była praca doktorska obroniona

w roku 2011. W czasie studiów doktoranckich realizowała grant promotorski oraz projekt w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego. Od roku 2003 jest związana z Zakładem Fizykochemii Organicznej na Wydziale Chemii UG. Głównym obiektem jej zainteresowań jest synteza oraz właściwości fotochemiczne związków zawierających wiązanie potrójne między atomami węgla.



Dr Katarzyna Guzow urodziła się w 1977 r. w Malborku. W roku 2000 ukończyła z wyróżnieniem studia chemiczne na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie następnie podjęła studia doktoranckie. Rozprawę doktorską, wyróżnioną nagrodą Wydziału Chemii UG im. Prof. Janusza Sokołowskiego, obroniła w roku 2005. Od roku 2004 jest zatrudniona w Zakładzie Fizykochemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, początkowo jako asystent, a obecnie adiunkt. Jej główne zainteresowania naukowe dotyczą syntezy nowych fluoroforów, ze szczególnym uwzględnieniem

aminokwasów niebiałkowych opartych na szkielecie benzoksazolyloalaniny, ich właściwości oraz zastosowań. Jej dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje 35 publikacji, głównie o zasięgu międzynarodowym, oraz 58 komunikatów zaprezentowanych na krajowych i zagranicznych zjazdach naukowych. Ponadto dwukrotnie została wyróżniona zespołową Nagrodą Ministra Edukacji i Sportu (2002 i 2005 r.) oraz stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (2005 i 2006 r.) oraz Fundacji Rozwoju Uniwersytetu Gdańskiego (2004 r.).

ABSTRACT

Compounds containing triple bonds are lately in the centre of interest of many research groups. This is mainly connected with their usefulness as substrates to obtain complex compounds with various applications in different areas of science, industry and medicine [1–5]. Because of that many researchers are interested in methods of synthesis of such compounds. As the demand for derivatives with triple bonds is quite big and the one universal method of synthesis does not exist, the new ones are developed or these already known are improved. To enable choosing the best method for synthesis of acetylene derivatives, this review is presented. The oldest methods based on elimination reaction are mentioned [6–9], whereas those enabling incorporation of acetylene unit into more complicated compounds are described more thoroughly [10–92]. The latter methods based on homo- or heterocoupling lead to symmetrical [10–25] and unsymmetrical acetylene and bisacetylene derivatives [26–92]. The most popular reactions such as Glaser reaction (Scheme 1) [10–12], Cadiot-Chodkiewicz reaction (Schemes 11 and 12) [26–49], Hay reaction (Scheme 13) [13, 14] as well as Sonogashira-Hagihara reaction [50–69] and their modifications (Tab. 3) [57] are described. Moreover, the influence of main parameters such as type of substrate used, ratio of reagents, catalyst, base, solvent, reaction time and temperature on the reaction yield is presented (Tabs 1–4) [14, 18, 23, 25, 50–58, 69–78].

Keywords: triple bond, acetylene, synthesis, homocoupling, heterocoupling, Glaser reaction, Hay reaction, Cadiot-Chodkiewicz reaction, Sonogashira-Hagihara reaction

Słowa kluczowe: wiązanie potrójne, acetylen, synteza, homosprzęganie, heterosprzęganie, reakcja Glasera, reakcja Haya, reakcja Cadiota-Chodkiewicza, reakcja Sonogashiry-Hagihary

WPROWADZENIE

Chemia związków zawierających wiązanie potrójne węgiel-węgiel od dawna była przedmiotem wielu badań naukowych, jednak w ostatnich latach przeżywa swój renesans. Związane jest to przede wszystkim z wykorzystaniem prostych pochodnych acetyleny jako substratów do tworzenia bardziej skomplikowanych związków. Mnogość struktur, a przez to także i właściwości związków zawierających wiązanie potrójne powoduje, iż znajdują one szerokie zastosowanie w bardzo różnorodnych gałęziach przemysłu oraz medycyny. Pochodne alkinowe służą do syntezy fluorescencyjnych analogów biomolekuł [1], analogów zasad nukleinowych stosowanych w sekwencjonowaniu DNA [2], syntezie chromoforów typu „pull-push”, mających zastosowanie w optoelektronice [3], liniowych i rozgałęzionych polimerów [4] czy do tak spektakularnych syntez jak synteza nano-urządzeń, np. nano-samochodów („single molecule nanocars”) [5].

METODY SYNTEZY POCHODNYCH ACETYLENU

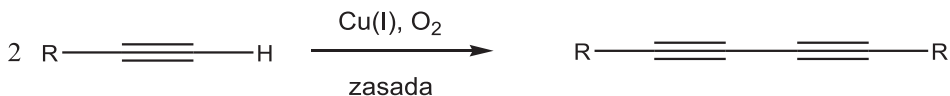
Podstawowymi metodami otrzymywania pochodnych acetyleny są dehydrohalogenacja halogenków winylowych bądź też podwójna dehydrohalogenacja pochodnych 1,2-dihalogenku wycinalnego prowadzona w środowisku silnej zasady, a także reakcja halogenoalkanów z metalopochodnymi acetylenkami [6]. W odpowiednie pochodne zawierające wiązanie bądź wiązania potrójne można również przekształcić 1,2-diaryloeten lub 1,4-diarylo-1,3-butadien w obecności t-butyloksylitu w środowisku DMF [7]. Stosując NaNO_2 w wodnym roztworze kwasu octowego można wyeliminować cząsteczkę CH_4 z pochodnych 2-metyloprop-1-enyłu otrzymując odpowiednią pochodną acetyleny [8, 9].

Do syntezy pochodnych zawierających wiązanie potrójne węgiel-węgiel pomiędzy atomami węgla, poza reakcjami eliminacji, wykorzystuje się także reakcje homo- bądź heterosprzęgania, prowadzące do otrzymania odpowiednio pochodnych: symetrycznych bisacetyleny oraz asymetrycznych zarówno bis- jak i mono-acetyleny. Reakcji heterosprzęgania prawie zawsze towarzyszy konkurencyjna reakcja homosprzęgania. Ze względu na fakt, iż jednym z substratów w tych reakcjach jest związek posiadający jednostkę acetylenową w swojej strukturze, nie generują one wiązania potrójnego, ale umożliwiają wprowadzenia takiego układu do bardziej skomplikowanych cząsteczek.

1. SYMETRYCZNE POCHODNE ACETYLENU

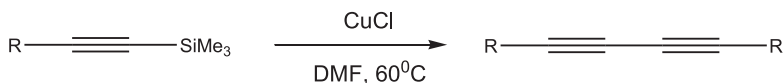
1.1. REAKCJA GLASERA I JEJ MODYFIKACJE

Najbardziej popularną metodą syntezy symetrycznych pochodnych bisacetyleny jest reakcja Glasera, opracowana na uniwersytecie w Bonn w 1869 r. Polega ona na sprzęganiu terminalnych alkinów w obecności katalizatora, jonów miedzi(I), w środowisku zasadowym [10, 11]. Tlen pochodzący z powietrza pełni w tej reakcji rolę reoksydanta [12] (Schemat 1).

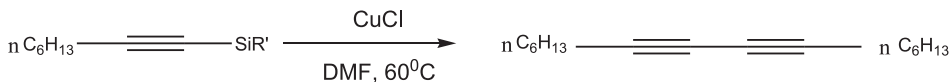


Schemat 1. Reakcja Glasera
Scheme 1. Glaser reaction

Modyfikację reakcji Glasera stanowi reakcja Haya, oparta na homosprzęganiu terminalnych alkinów przy użyciu katalizatora w postaci kompleksu jonu miedzi(I) z *N,N,N',N'*-tetrametyloetylenodiaminą (TMEDA), którego główną zaletą jest stosunkowo łatwa rozpuszczalność w wielu powszechnie stosowanych rozpuszczalnikach [13]. Ponadto obecność w środowisku reakcji sześciowodnego chlorku niklu(II) znacznie zwiększa wydajność tej reakcji (zjawisko synergii) [14].



R = C₆H₅-; 4-MeO-C₆H₄-; 4-MeCO-C₆H₄-; 2-tiofen; n-C₆H₁₃



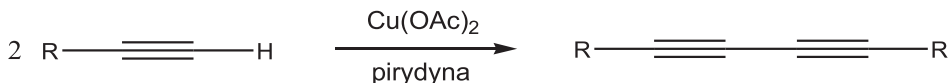
R' = -Me₃; -Et₃; -iPr₃; -PhMe₂; -(OMe)₃; -Me₂OSiMe₃; -Me₂(OH)

Schemat 2. Homosprzęganie sililowych pochodnych acetyleny
Scheme 2. Homocoupling reaction of alkynylsilanes

Substratami do otrzymywania symetrycznych pochodnych acetyleny, oprócz terminalnych alkinów, mogą być sililowe pochodne acetyleny. Katalizatorem w tej reakcji jest zwykle chlorek miedzi(I) w DMF, a wydajności reakcji osiągają 99% (Schemat 2) [15].

Do otrzymywania symetrycznych łańcuchowych oraz cyklicznych pochodnych acetyleny służy reakcja Eglintona, polegająca na homosprzęganiu terminalnych alki-

nów w obecności stechiometrycznych ilości soli miedzi(II) w środowisku pirydyny (Schemat 3) [16, 17].

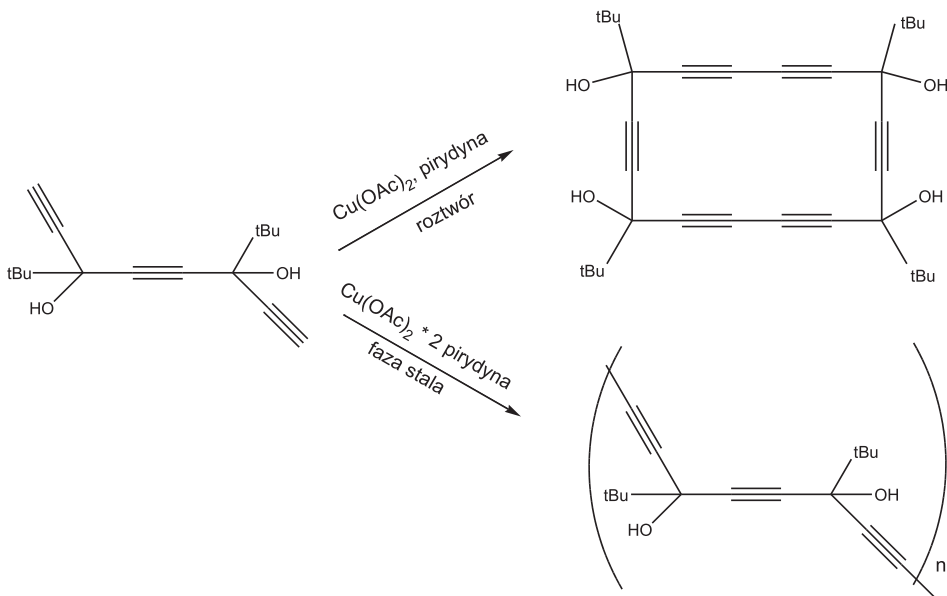


Schemat 3. Reakcja Eglintona

Scheme 3. Eglinton reaction

W niektórych reakcjach homosprzęgania terminalnych pochodnych acetylenu oprócz katalizatora miedziowego stosuje się dodatkowo katalizator palladowy (bez ligandów fosfinowych) oraz reoksydant, którego rolę pełni *N*-tlenek trimetyloaminy (Me_3NO), przy czym duży wpływ na wydajność reakcji ma rodzaj zastosowanej zasady (Et_3N czy NaOAc) [18]. Metoda ta umożliwiła sprzęganie terminalnych substratów alkilowych i arylowych zarówno z podstawnikami mającymi deficyt elektronowy (grupami akceptorowymi), jak i z podstawnikami bogatymi w elektrony (grupami donorowymi), dzięki czemu stanowi uniwersalną metodą syntezy symetrycznych pochodnych bisacetylenu [18].

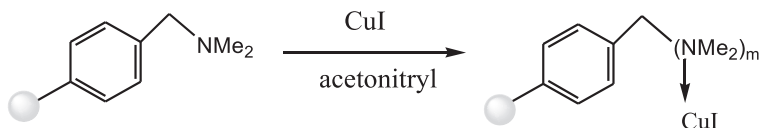
Reakcje Glasera i Eglintona zachodzą także w fazie stałej, przy czym w przypadku tej drugiej ważny jest wybór fazy środowiska, która może determinować kierunek reakcji. Prowadzenie reakcji w roztworze promuje uzyskanie produktu cyklicznego, natomiast faza stała pozwala na otrzymanie polimeru (Schemat 4) [19].



Schemat 4. Produkty otrzymane w reakcji Eglintona w roztworze oraz w fazie stałej

Scheme 4. Products of Eglinton reaction in solution and solid phase

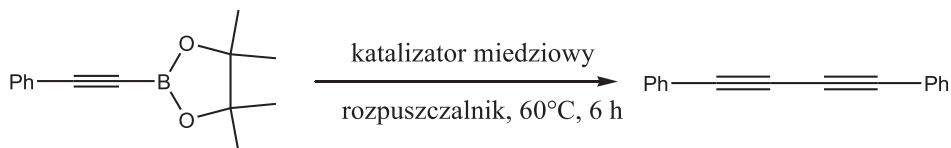
Prowadzenie reakcji homosprzęgnięcia w obecności jodku miedzi zakotwiczonego na nośniku stałym (Schemat 5) możliwe jest bez rozpuszczalnika, ale w obecności zasady, przy dostępie powietrza i w temperaturze pokojowej. Najwyższe wydajności uzyskuje się stosując jako zasadę *n*-butyloaminę [20].



Schemat 5. Zakotwiczenie katalizatora CuI na nośniku stałym
Scheme 5. Preparation of polymer-supported copper catalyst

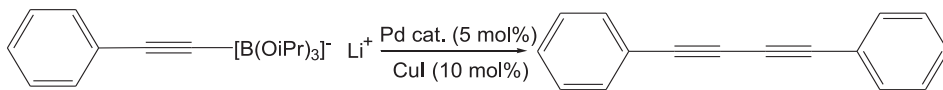
1.2. ZWIĄZKI BORU W SYNTEZIE POCHODNYCH ACETYLENU

Substratami do otrzymywania symetrycznych pochodnych bisacetyleny mogą być również odpowiednie pochodne boranowe [21], które charakteryzują się stosunkowo małą toksycznością oraz stabilnością na powietrzu, a także niską ceną [22]. Jako katalizatory w tym wypadku stosuje się głównie jodek miedzi(I) (Schemat 6), ale również tiofeno-2-karboksylan miedzi(I), octan miedzi(II), cyjanek miedzi(I), chlorek miedzi(I), natomiast środowiskiem reakcji jest zwykle 1,2-dimetylo-imidazol (DMI), DMF lub DMSO [22].



Schemat 6. Homosprzęgnięcie fenyloetynyloboranu
Scheme 6. Homocoupling of phenylethyneboronate

Symetryczne pochodne acetyleny można również otrzymać na drodze łagodnego i wydajnego sprzęgnięcia alkynylotriizopropylloksyboranu litu, otrzymywanego *in situ*, w obecności katalizatorów miedziowego oraz palladowego (Pd(0) i Pd(II)) (Schemat 7, Tab. 1) [23]. Optymalnym rozpuszczalnikiem jest THF bez konieczności użycia zasady albo utleniacza (Tab. 1), przy czym mechanizm tej reakcji nie jest do końca poznany. Metoda ta jest wysoce efektywna zarówno w przypadku użycia substratów alkilowych jak i arylowych z podstawnikami o charakterze elektron-akceptorowym oraz elektronodonorowym, z wyjątkiem ugrupowania estrowego, nitylowego oraz pirydynowego [23].



Schemat 7. Reakcja homosprzęgania z zastosowaniem alkynylotriizopropoxyboranu litu
 Scheme 7. Homocoupling of alkynyltriisopropoxyborates

Tabela 1. Wydajność reakcji homosprzęgania alkynylotriizopropoxyboranu litu w różnych warunkach prowadzenia reakcji (Schemat 7) [23]

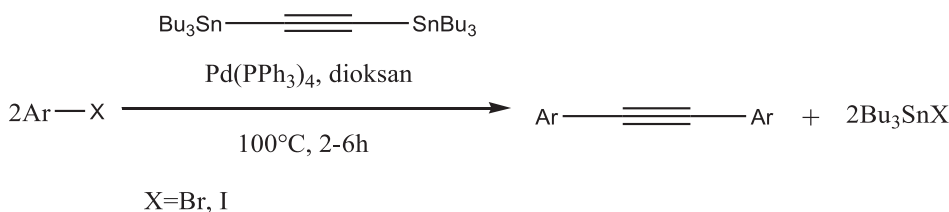
Table 1. Reaction yields for homocoupling using lithium alkynyltriisopropoxyborate in different conditions (Scheme 7) [23]

Katalizator	Rozpuszczalnik	T [°C]	Czas reakcji [h]	Wydajność [%]
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos*	DMF	120	10	58
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	CH ₃ CN	60	10	63
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	CH ₃ CN/H ₂ O ^a	60	8	68
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	THF/H ₂ O ^a	60	8	72
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	THF	60	6	93
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	1,4-dioksan	80	8	73
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	THF	25	6	45
Pd(PPh ₃) ₄	THF	60	6	62
PdCl ₂ /2PPh ₃	THF	60	6	59
Pd(OAc) ₂ /2PPh ₃	THF	60	6	71
Pd(OAc) ₂ /DPEPhos	THF	60	6	71 ^b

* DPEPhos – eter bis[(2-difenylofosfino)fenylowy]; a – użyto w stosunku 10:1; b – reakcja prowadzona w nieobecności CuI

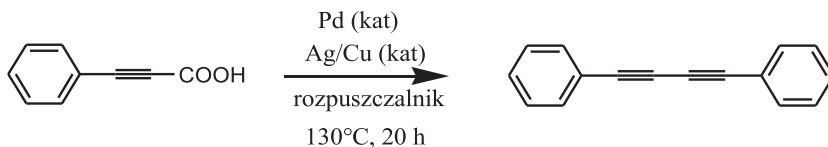
1.3. INNE METODY SYNTEZY SYMETRYCZNYCH POCHODNYCH ACETYLENU

Symetryczne diarylowe pochodne acetyleny można otrzymać w jednoetapowej reakcji bis(tri-*n*-butylocyno)acetyleny z dwiema cząsteczkami odpowiedniej halogenowej pochodnej arylowej (Schemat 8), przy czym jej wydajność zależy od rodzaju tej pochodnej (ArI > ArBr, a z ArCl – reakcja nie zachodzi) [24].



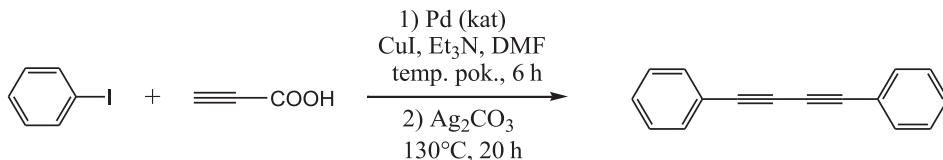
Schemat 8. Synteza symetrycznej diarylowej pochodnej acetyleny
 Scheme 8. Synthesis of diarylacetylene

Reakcją prowadzoną w jednym naczyniu (ang. *one-pot*) jest homosprzęgnięcie kwasowych pochodnych acetylenu połączone z dekarboksylacją, przy użyciu katalizatora palladowego lub srebrowego (AgCO_3 lub Ag_2O) lub ewentualnie CuCO_3 (nieco niższe wydajności) (Schemat 9), przy czym duże znaczenie ma stosunek molowy reagentów [25].



Schemat 9. Homosprzęgnięcie z dekarboksylacją fenylovej pochodnej kwasu propiolowego
Scheme 9. Decarboxylative homocoupling of 3-phenylpropionic acid

Pochodne te można także wykorzystywać do heterosprzęgnięcia z halegonopochodnymi, a następnie homosprzęgnięcia otrzymanego produktu (Schemat 10) [25].



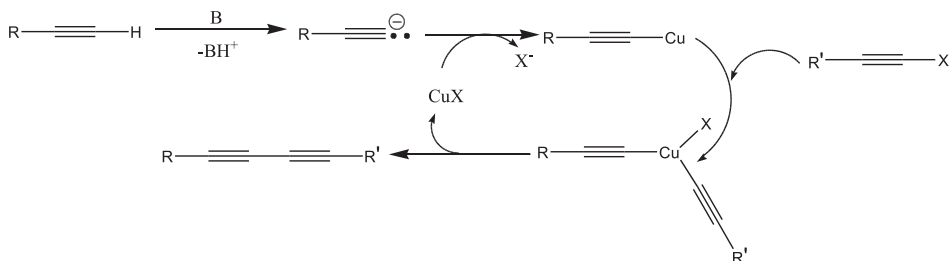
Schemat 10. Jednonaczyniowa synteza 1,4-difenylo-1,3-diyneu
Scheme 10. One-pot synthesis of 1,4-diphenyl-1,3-diyne

2. ASYMETRYCZNE POCHODNE ACETYLENU

Metody prezentowane w tym rozdziale są bardziej uniwersalne niż omówione wcześniej metody syntezy symetrycznych pochodnych acetyleny. Przy odpowiednim doborze substratów pozwalają one na otrzymanie zarówno symetrycznych, jak i niesymetrycznych pochodnych mono-, jak i bisacetyleny.

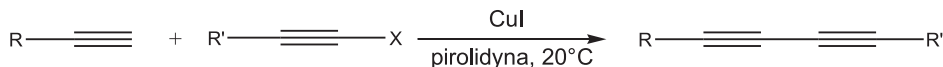
2.1. REAKCJA CADIOTA-CHODKIEWICZA

Reakcja Cadiota-Chodkiewicza służy do otrzymywania asymetrycznych pochodnych bisacetyleny w wyniku sprzęgnięcia terminalnej pochodnej acetyleny z halegonopochodną acetyleny w obecności katalizatora miedziowego(I) w środowisku zasadowym. Jej mechanizm polega na deprotonacji terminalnej pochodnej acetyleny, po której zachodzi utleniająca addycja oraz redukcyjna eliminacja powstałego kompleksu miedziowego (Schemat 11) [26, 27].



Schemat 11. Mechanizm reakcji Cadiota-Chodkiewicza
 Scheme 11 Mechanism of Cadiot-Chodkiewicz reaction

Zastosowanie ko-katalizatora palladowego ($\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$) oraz pirolidyny jako środowiska reakcji korzystnie wpływa na wydajność reakcji oraz znacznie skraca czas jej trwania (Schemat 12) [28]. Najwyższą reaktywność w sprzęganiu Cadiota-Chodkiewicza wykazują jodopochodne alkinowe [29], natomiast najniższą chloropochodne [30]. Reakcja Cadiota-Chodkiewicza jest metodą uniwersalną i pozwala otrzymywać szeroką gamę zarówno alifatycznych, jak i aromatycznych buta-1,3-dienów [31, 32], będących pochodnymi m.in. alkoholi, polioli [33, 34], nadtlenków [35], hydrochinonów [36], epoksydów [37, 38], amin [39, 40], acetalii [41], soli kwasów karboksylowych [42, 43], estrów kwasów karboksylowych [44, 45], amidów [46], disulfidów [29a] czy rodników nitroksylowych [47, 48]. Wyższe wydajności otrzymuje się w przypadku pochodnych aromatycznych niż alifatycznych [49].



X = I, Br

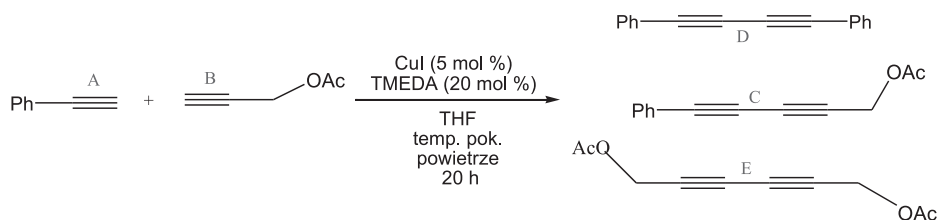
R = C_6H_5 , C_5H_{11} , $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{CH}(\text{OH})$

R' = CH_2OH , $(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_4\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_3\text{Cl}$, $(\text{CH}_2)_2\text{COOMe}$, C_6H_5 , C_5H_{11} , CH_2NMe_2

Schemat 12. Reakcja Cadiota-Chodkiewicza
 Scheme 12. Cadiot-Chodkiewicz reaction

2.2. MODYFIKACJA REAKCJI HAYA

Reakcja Haya prowadzi do otrzymania symetrycznych pochodnych bisacetyleny. Stwierdzono jednak, iż reakcja sprzęgania dwóch różnych terminalnych pochodnych acetyleny prowadzona w obecności CuI, TMEDA oraz $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ w THF w warunkach aerobowych (Schemat 13) umożliwia otrzymanie asymetrycznego produktu, przy czym wydajność tej reakcji w dużej mierze zależy od stosunku ilościowego substratów (Tab. 2) [14].



Schemat 13. Sprzężenie dwóch różnych terminalnych pochodnych acetyleny z wykorzystaniem katalizatora Cu/Ni

Scheme 13. Heterocoupling of alkynes catalyzed by Cu/Ni

Tabela 2. Wydajność sprzężenia fenyloacetyleny oraz octanu prop-2-ynu w zależności od stosunku ilościowego reagentów [14]

Table 2. Dependence of the reaction yields for heterocoupling of phenylacetylene and prop-2-yn acetate on the ratio of reagents [14]

	A (mmol)	B (mmol)	NiCl ₂ ·6H ₂ O	Et ₃ N	C (%) ^a	D (%) ^b	E (%) ^c
1	1	1	5 mol %	3	46	41	54
2 ^d	1	5	5 mol %	3	50	8	63
3	5	1	5 mol %	3	86	64	5
4 ^e	5	1	brak	3	30	20	7
5	5	1	5 mol %	brak	82	64	7

a – wydajność produktu D uzyskana z chromatogramu GC; b – wydajność podano w odniesieniu do substratu A; c – wydajność podano w odniesieniu do substratu B; d – 42% substratu A nie przereagowało; e – 60% substratu B nie przereagowało.

2.3. REAKCJA SONOGASHIRY-HAGIHARY I JEJ MODYFIKACJE

Ogólnie znaną i często wykorzystywaną reakcją do syntezy asymetrycznych pochodnych acetyleny jest reakcja Sonogashiry-Hagihary. Polega ona na substytucji fluorowca w aromatycznych lub winylowych halogenkach, przez terminalną grupę alkinową. Klasycznie reakcję tę prowadzi się w różnych rozpuszczalnikach (acetonitryl [50, 51], THF [52], DMF [53, 54], DMSO, metanol, etanol [54], woda [55], dioksan lub mieszaniny THF:woda, dioksan:woda [51], acetonitryl:woda [51, 56]) w obecności katalizatorów: tetrakis(trifenylfosfino)palladu (Pd(PPh₃)₄) i jodku miedzi(I) (CuI) oraz zasady, której rola polega na zobojętnianiu powstającego w wyniku reakcji HX (gdzie X = halogen). Najczęściej stosowanymi zasadami są aminy (*i*-Pr₂NH, *i*-Pr₂NEt, Et₃N [57], *n*-BuNH₂ lub benzyloamina [58]), a także np. sproszkowany NaOH w toluenie [59], Cs₂CO₃ [56], Na₂CO₃, octan tetrabutylamoniowy (Bu₄NOAc) [60] oraz octan sodu (NaOAc) [18].

Znane są także modyfikacje tej reakcji (Tab. 3), polegające głównie na zastosowaniu różnego środowiska reakcji, które może jednocześnie pełnić funkcję zasady

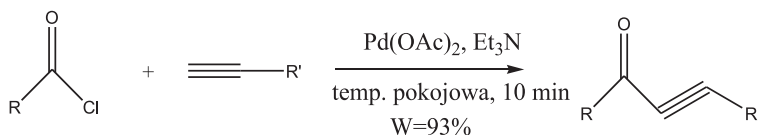
(np. piperodyna, diizopropylamina, 2,2,6,6-tetrametylopiperodyna) [57], oraz różnych źródeł grupy acetylenowej (gazowy acetylen, trimetylosililoacetylen, triizopropylsililoacetylen) [57].

Tabela 3. Modyfikacje reakcji Sonogashiry-Hagihary
Table 3. Modifications of Sonogashira-Hagihara reaction

Metoda	Źródła grupy acetylenowej	Katalizatory	Stosunki molowe reagentów a*:b:c:d	Rozpuszczalniki	T [°C]	t [h]
A	gazowy acetylen	Pd(PPh ₃) ₄ CuI	1:b:0,03:0,06	piperodyna	25–80	0,3–20
B	gazowy acetylen	Pd(PPh ₃) ₄	1:b:0,03	piperodyna	25–80	0,3–20
C	(trimetylosililo)-acetylen	Pd(PPh ₃) ₄ CuI	1:2,2:0,05	piperodyna (diizopropylamina)	80	2,5–12
D	(triizopropylsililo)-acetylen	Pd(PPh ₃) ₄	1:1,2:0,05	piperodyna (diizopropylamina) lub 2,2,6,6-tetrametylopiperodyna	80	17–50
E	aryloacetylen	Pd(PPh ₃) ₄ CuI	1:1:0,05:0,1	piperodyna (diizopropylamina)	25–80	1–50
F	aryloacetylen	Pd(PPh ₃) ₄	1:1:0,05	piperodyna (diizopropylamina)	25–80	1–50

*a – halogenopochodna; b – źródło grupy acetylenowej; c – Pd(PPh₃)₄; d – CuI.

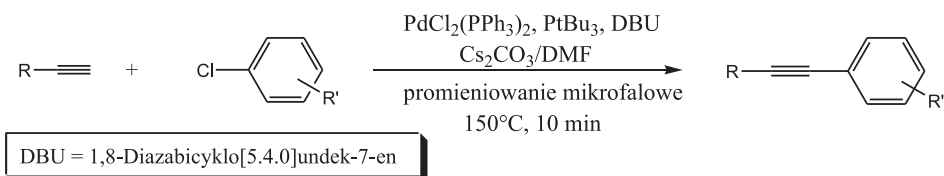
W reakcji Sonogashiry-Hagihary wyższe wydajności (w odniesieniu do bromopochodnych) otrzymuje się stosując jodopochodne [61] jako substraty halogenowe. Ponadto, wykazano, że jako substratów halogenowych można użyć chlorków kwasowych (Schemat 14) [62].



Schemat 14. Sprzęganie chlorku kwasowego z terminalną pochodną acetylenu
Scheme 14. Synthesis of ynone by coupling of acid chlorides with terminal alkynes

Reakcje sprzęgania pochodnej alkenylowej z acetylenową, alkenylową oraz z alkilową metalopochodną w obecności palladu zachodzą stereospecyficznie, dając wiązanie węgiel–węgiel. Jednak w syntezie Sonogashiry i Suzuki, podczas sprzęgania może dojść do retencji konfiguracji, przy czym zaobserwowano zależność stereochemii produktu od zastosowanego rozpuszczalnika [63]. Reakcje sprzęgania nie zawsze są więc stereospecyficzne, natomiast są stereoselektywne.

W syntezie pochodnych acetyleny wykorzystuje się także promieniowanie mikrofalowe, które umożliwia otrzymanie pożądanego produktu sprzężenia nawet dla najmniej reaktywnych pochodnych chlorkowych [64] w klasycznych warunkach reakcji Sonogashiry-Hagihary [65, 66] (Schemat 15). Reakcję prowadzi się w bardzo wysokich temperaturach, ale krótko (od kilku do kilkunastu minut) [67] oraz przy użyciu odmiennych rozpuszczalników, np. glikolu polietylenowego (PEG) czy wody [68].



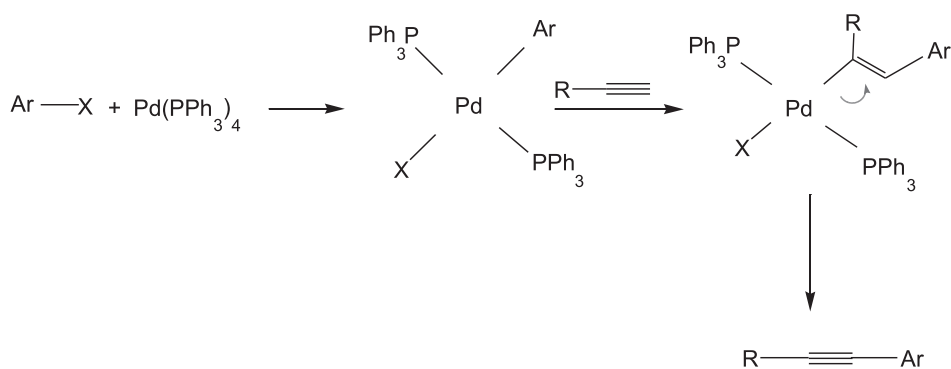
Schemat 15. Sprzężenie halogenowej pochodnej z terminalną pochodną acetyleny z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego

Scheme 15. Microwave-assisted cross-coupling of terminal alkynes with various aryl chlorides

2.3.1. Katalizatory w klasycznej reakcji Sonogashiry-Hagihary

W reakcjach tworzenia wiązania węgiel-węgiel często stosuje się katalizatory zawierające pallad na różnym stopniu utlenienia [69]. W klasycznej reakcji Sonogashiry-Hagihary jako katalizatory stosuje się $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ oraz CuI , równocześnie lub tylko jeden z nich.

Zastosowanie katalizatora palladowego podczas sprzężenia prowadzi do uzyskania produktu z dużą wydajnością. Mechanizm działania najczęściej stosowanego katalizatora, tetrakis(trifenylfosfino)palladu przedstawia Schemat 16 [70].



Schemat 16. Mechanizm działania katalizatora palladowego w reakcji Sonogashiry-Hagihary

Scheme 16. Mechanism of action of palladium catalyst in Sonogashira-Hagihara reaction.

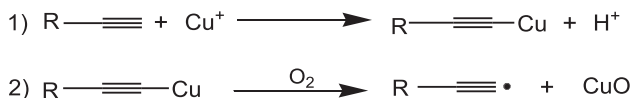
Poza związkami palladu z ligandami fosfinowymi (PPh_3), których wadą jest wysoka cena oraz wrażliwość na obecność tlenu, alternatywnie stosuje się PdCl_2

wraz z CuI i Me₃NO. Do innych stosowanych katalizatorów palladowych należą także m.in. Pd(dba)₂ (dba-dibenzylidenoaceton) [71], Pd(OAc)₂/PPh₃, Pd/C [58], PdCl₂(CH₃CN)₂ [56], Pd(PPh₃)₂Cl₂ [66,72].

W syntezie Sonogashiry-Hagihary zamiast katalizatorów palladowych, stosuje się również katalizatory niklowe, których najlepszym prekursorem okazał się kompleks Ni(PPh₃)₂Cl₂. W reakcjach z zastosowaniem katalizatorów niklowych niską wydajność stwierdzono w przypadku użycia jako rozpuszczalnika bezwodnego THF, dioksanu oraz acetonitrylu, a także piperydiny (która w reakcjach z zastosowaniem katalizatorów palladowych daje wysokie wydajności) [51].

Innymi alternatywnymi katalizatorami są tlenek żelaza (stosowany wraz z katalizatorem miedziowym) [53] oraz związku złota [73–75].

Drugim najczęściej stosowanym w klasycznej reakcji Sonogashiry-Hagihary katalizatorem jest jodek miedzi(I), który reaguje ze źródłem grupy acetylenowej dając wysoce reaktywny produkt pośredni w postaci acetylenku miedzi(I) [76] (Schemat 17).



Schemat 17. Mechanizm działania katalizatora miedziowego

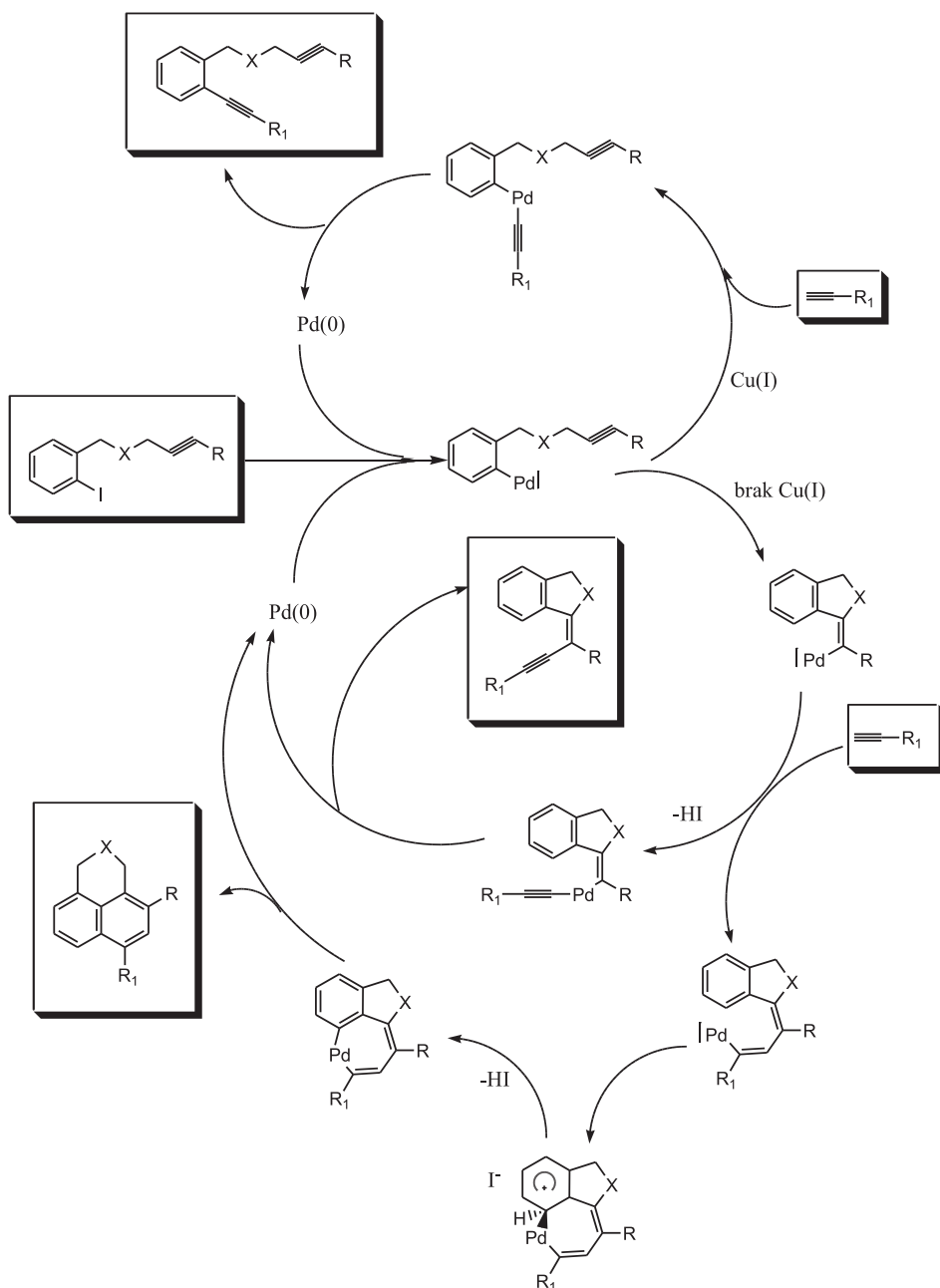
Scheme 17. Mechanism of action of copper catalyst in Sonogashira-Hagihara reaction

Pierwszy etap, tworzenie się układu pochodna acetylenowa–miedź, jest etapem bardzo szybkim, natomiast etap drugi (tworzenie się bardzo reaktywnego rodnika) decyduje o szybkości tej reakcji i zachodzi on w obecności tlenu (Schemat 17) [76]. Stwierdzono, iż rodzaj halogenowej pochodnej miedzi nie ma dużego wpływu na wydajność reakcji (Tab. 4). Natomiast obecność lub brak katalizatora miedziowego determinuje kierunek przebiegu reakcji [58].

Tabela 4. Porównanie wydajności reakcji bromobenzenu z 2-metylobut-3-yn-2-olem w zależności od rodzaju zastosowanego katalizatora miedziowego [58]

Table 4. Influence of copper catalyst on the yield of the reaction of bromobenzene with 2-methylbut-3-yn-2-ol [58]

Katalizator miedziowy	Brak	CuI	CuBr	CuCl	CuCl×2H ₂ O	Cu(OAc) ₂ ×H ₂ O
Wydajność [%]	5	72	74	75	74	76

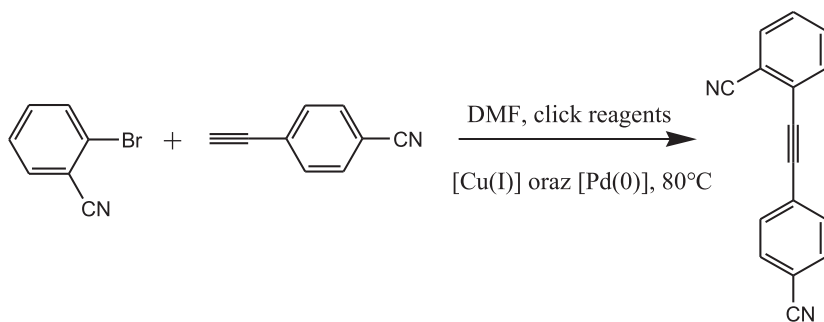


Schemat 18. Wpływ obecności katalizatora miedziowego na przebieg reakcji Sonogashiry-Hagihary
 Scheme 18. Influence of copper catalyst on Sonogashira-Hagihara reaction

W syntezie pochodnych bisacetyleny metodą Sonogashiry-Hagihary obecność katalizatorów $Pd(0)/Cu(I)$ sprzyja reakcji między dwoma różnymi cząsteczkami (heterosprzęgnięcie), natomiast brak $Cu(I)$ promuje reakcję sprzęgnięcia w „obrębie

cząsteczki” (homosprzęganie) (Schemat 18) [77]. Poza pochodnymi halogenowymi miedzi w reakcji Sonogashiry-Hagihary stosuje się też nanocząsteczki tlenku miedzi(I) [78].

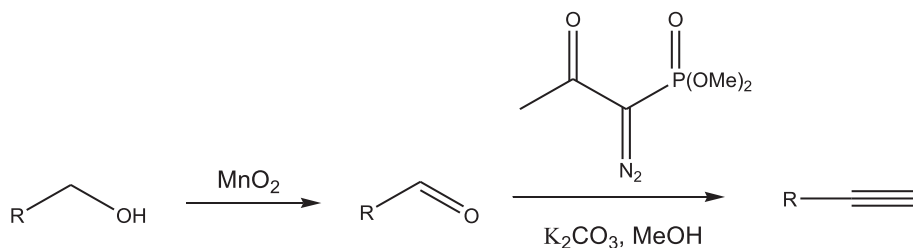
Stosowanie w reakcji Sonogashiry-Hagihary większości wymienionych katalizatorów bywa kłopotliwe, głównie ze względu na ich małą stabilność chemiczną oraz wrażliwość na światło lub powietrze (Pd(0) łatwo utlenia się do Pd(II), a Cu(I) do Cu(II)). Drogą do eliminacji tych czynników jest zastosowanie ‘click-reagents’: askorbinianu sodu oraz siarczanu(VI) miedzi(II) (Schemat 19). Zadaniem tych związków jest: generowanie aktywnej Cu(I) *in situ*, zahamowanie utleniania Cu(I) do Cu(II) poprzez usuwanie tlenu pochodzącego ze środowiska reakcji, który może powodować niestabilność katalizatora Pd(0). Przyczynia się to do zdecydowanego obniżenia ilości produktu ubocznego, będącego wynikiem homosprzęgania terminalnej pochodnej acetyleny oraz umożliwia stosowanie przyjaznych dla środowiska rozpuszczalników [79].



Schemat 19. Zastosowanie ‘click reagents’ w sprzęganiu halogenopochodnej z terminalną pochodną acetyleny
Scheme 19. Click-reagent version of coupling of aryl halides with terminal alkynes

2.4. INNE METODY SYNTEZY

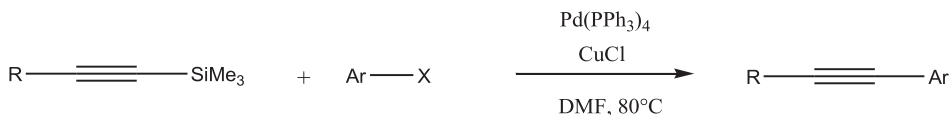
Obok wymienionych metod syntezy pochodnych acetyleny opartych głównie na sprzęganiu alkilowej pochodnej halogenowej z terminalną pochodną acetyleny stosuje się również metody wykorzystujące inne substraty, np. pochodne zawierające grupę hydroksylową. W pierwszym etapie reakcji pochodne alkoholowe utleniane są za pomocą tlenku manganu(IV) do odpowiednich aldehydów, które są następnie przekształcane za pomocą odczynnika Bestmanna-Ohiry (dimetylo(1-diazo-2-oksopropyl)fosfonianu) w pochodne acetyleny [80,81] w obecności węgla potasu i metanolu w temperaturze pokojowej (Schemat 20) [81].



Schemat 20. Wykorzystanie odczynnika Bestmanna-Ohiry w syntezie pochodnych acetyleny

Scheme 20. Bestmann-Ohira reagent in synthesis of acetylene derivatives

Asymetryczne pochodne acetyleny otrzymuje się także sprzęgając, w warunkach reakcji Sonogashiry-Hagihary ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuCl , DMF), trimetylosililową pochodną acetyleny z aryłową pochodną halogenową lub trifluorometanosulfonianową (Schemat 21) [15].



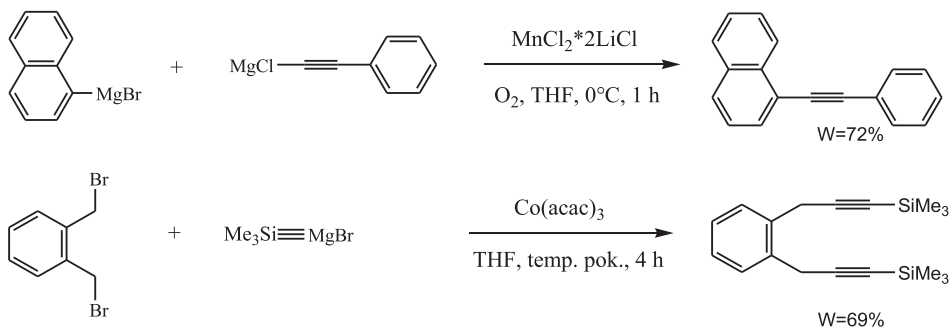
X - trifluorometanosulfonian, jod, brom, chlor

Schemat 21. Heterosprzęganie alkiynylosilanu z halogenową lub trifluorometanosulfonianową pochodną arenu

Scheme 21. Reaction of alkyne-silane with aryl halides or triflate

Warunkiem koniecznym zajścia powyższej reakcji jest obecność zarówno katalizatora palladowego, jak i miedziowego. Podobnie zachowują się pochodne z osłoną *p*-nonafluorobutanosulfonianową, natomiast reakcja nie zachodzi dla pochodnych z podstawnikiem *p*-toluenosulfonianowym oraz metanosulfonianowym [15].

W syntezie pochodnych acetyleny wykorzystuje się także związki metaloorganiczne, które sprzęgają się z aryłowymi halogenopochodnymi [15, 82, 83], pochodnymi ftalowymi [15] oraz acetylenowymi związków metaloorganicznych [84]. Katalizatorami w reakcjach tego typu są związki palladu oraz miedzi [15] lub manganu, a także kobaltu [82, 84] (Schemat 22). W wyniku sprzęgania halogenoacetylenowej pochodnej związków metaloorganicznych ze związkiem metaloorganicznym, poza produktem pożądanym, otrzymuje się również dwa produkty uboczne. Powstają one z niewielką wydajnością przez homosprzęganie substratów [82].

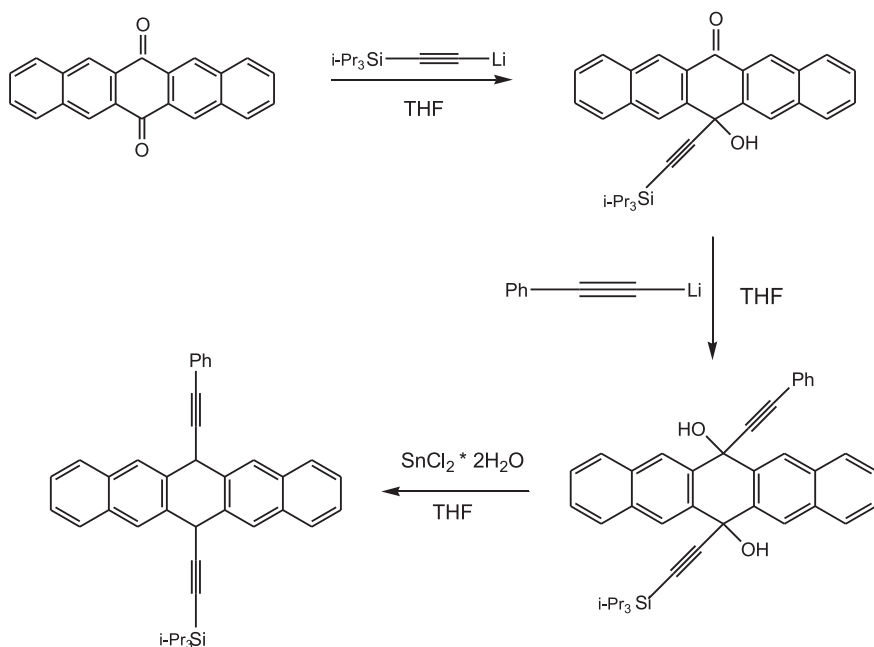


Schemat 22. Przykładowe wykorzystanie związków metaloorganicznych w syntezie pochodnych acetyleny
 Scheme 22. Use of organometallic compounds in synthesis of acetylene derivatives

Wykorzystując reakcje sprzęgania krzemowych pochodnych acetyleny z halogenowymi (chloro-)pochodnymi acetyleny można otrzymać pochodne zawierające dwie jednostki acetyleny. Badania grupy Nishihary [15] wykazały, iż największe wydajności uzyskuje się stosując 1,5-krotny nadmiar chloropochodnej acetyleny względem krzemowej pochodnej acetyleny oraz w obecności wyłącznie CuCl jako katalizatora (dodatek katalizatora palladowego nie podwyższał wydajności reakcji). Reakcja ta jest dobrą alternatywą dla reakcji Cadiota-Chodkiewicza, zwłaszcza ze względu na wykorzystanie chloropochodnych, które są mało reaktywne we wspomnianej reakcji [30].

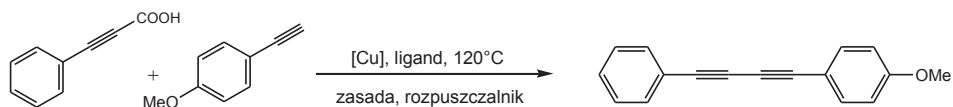
W syntezie pochodnych acetyleny wykorzystuje się także aromatyczne związki dikarbonylowe [85]. Reakcje tych związków prowadzi się z triizopropylsilyloacetylenkiem litu w THF. Otrzymany produkt pośredni zawierający ugrupowanie hydroksylowe redukuje się z wykorzystaniem dwuwodnego chlorku cyny(II) (Schemat 23) [85].

Pochodne bisacetyleny można także otrzymać sprzęgając terminalny alkin z karboksylową pochodną acetyleny. Reakcja ta prowadzona jest w obecności ligandu (tetrametyloetylenodiaminy, 2,2'-bipirydylu, 1,10-fenantroliny lub 2,9-dimetylo-1,10-fenantroliny), zasady, powietrza atmosferycznego oraz w wysokiej temperaturze, a katalizatorami są związki miedzi (Schemat 24). Kwas fenylpropionowy sprzęga się także z klasycznymi substratami reakcji Sonogashiry-Hagihary – pochodnymi halogenowymi. Jest to dwuetapowa reakcja prowadzona w jednym naczyniu, w której pierwszy etap to heterosprzęganie, zachodzące z warunkach klasycznej reakcji Sonogashiry-Hagihary, natomiast drugi etap to homosprzęganie połączone z dekarboksylacją otrzymanego produktu z wykorzystaniem 2-krotnego nadmiaru Ag_2CO_3 [25].



Schemat 23. Sprzęganie związków dikarbonylowych ze związkami metaloorganicznymi acetylenu

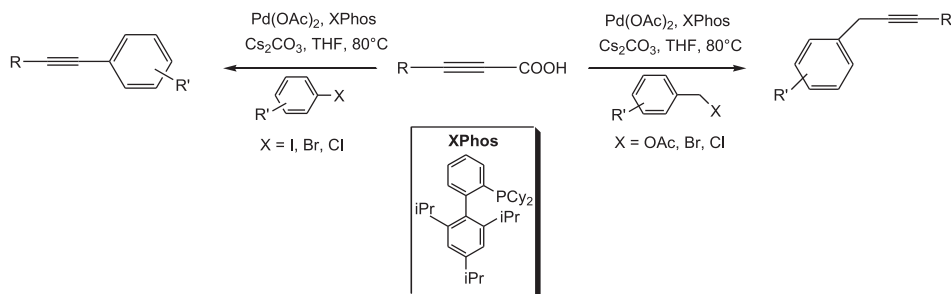
Scheme 23. Coupling reaction of dicarbonyl aryl and acetylene organometallic derivatives



Schemat 24. Sprzęganie kwasu fenylopropionowego z 4-metoksyfenyloacetylenem

Scheme 24. Coupling reaction of phenyl-propionic acid and 4-methoxyphenylacetylene

Wykorzystując acetylenowe pochodne kwasów karboksylowych można otrzymać także alifatyczne lub aromatyczne pochodne monoacetyleny [87] (Schemat 25).

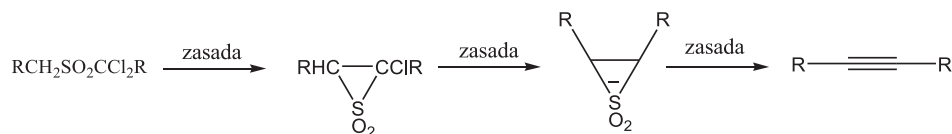


Schemat 25. Sprzęganie alkinowych pochodnych kwasów karboksylowych z halogenowymi pochodnymi benzyłowymi lub aryłowymi

Scheme 25. Coupling reaction of carboxylic acid and benzyl or aryl halides

Zaletami tej reakcji jest możliwość uzyskania szerokiej gamy różnorodnych pochodnych z łatwo osiągalnych i stosunkowo niedrogich substratów, w tym także mniej aktywnych chlorków aryłowych. Reakcja ta nie wymaga stosowania katalizatora miedziowego, co pozwala uniknąć konkurencyjnej reakcji homosprzęgania, a uboczny produkt reakcji dekarboksylacji CO_2 jest związkiem mało uciążliwym [87a].

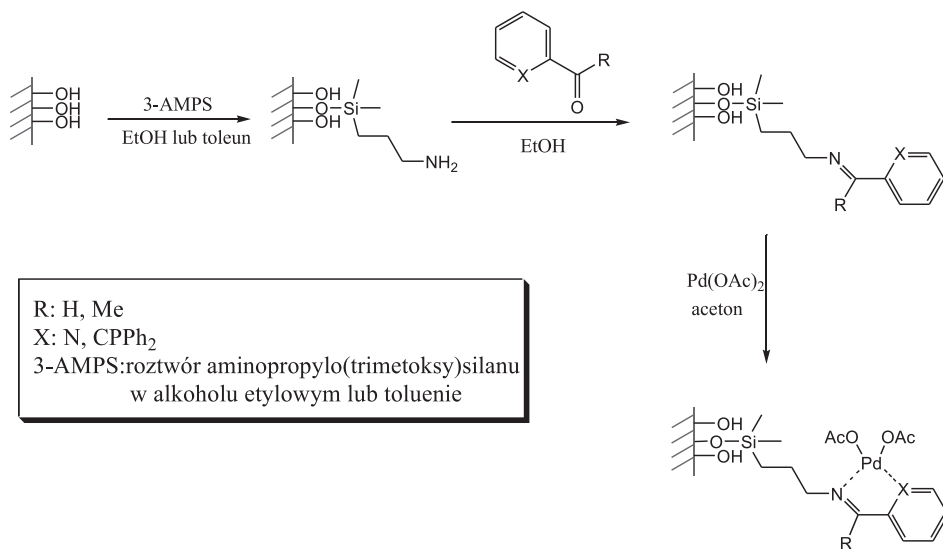
Substratami pozwalającymi otrzymać pochodne acetyleny są także związki siarki. Sulfony w wieloetapowej reakcji z zasadą dają związki zawierające wiązanie potrójne (Schemat 26) [88, 89]. Chcąc przekształcić sulfidy w pochodne acetyleny reakcje prowadzi się z PPh_3 oraz $t\text{-BuOK}$ w THF [90].



Schemat 26. α, α -Dichlorosulfony w syntezie pochodnych acetyleny

Scheme 26. α, α -Dichlorosulphones in synthesis of acetylene derivatives

Alternatywną do prezentowanych metod syntezy pochodnych acetyleny jest synteza prowadzona na nośniku stałym. Syntezy te można podzielić na dwie grupy. Pierwsza z nich polega na wiązaniu katalizatora palladowego z podłożem krzemionkowym (Schemat 27) [91]. Druga polega na osadzeniu terminalnej pochodnej acetyleny na żywicy Merrifielda, a następnie na sprzęganiu jej z odpowiednio dobranymi pochodnymi i tworzeniu oligomerów [92].

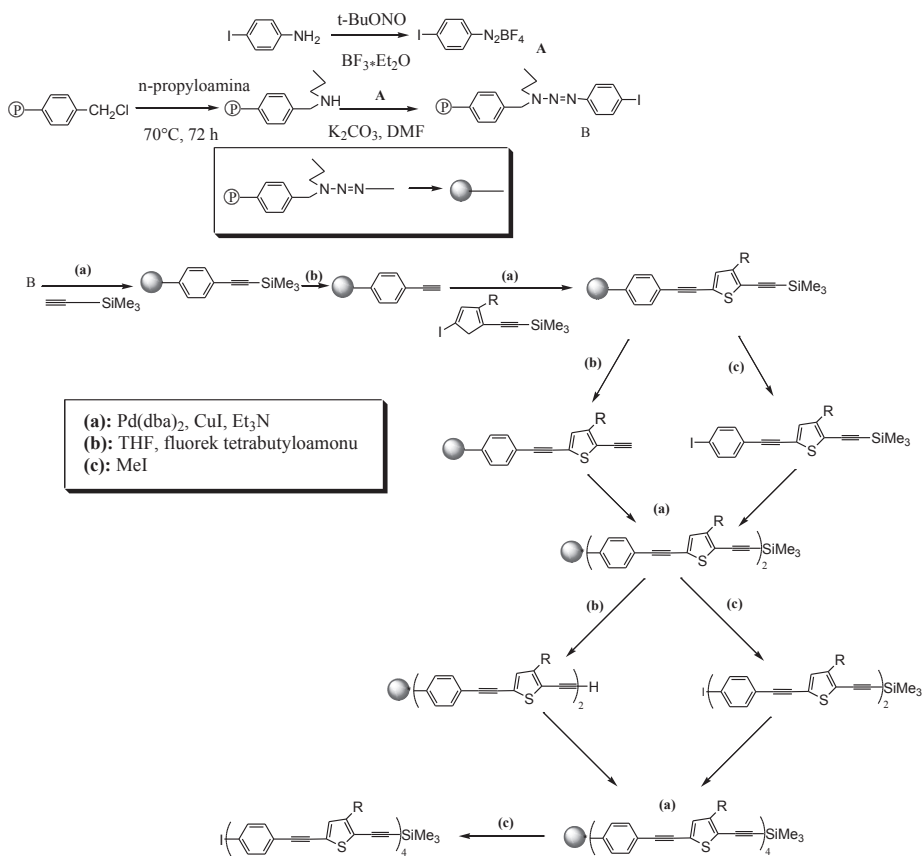


Schemat 27. Schemat wiązania katalizatora palladowego z żelem krzemionkowym

Scheme 27. Synthetic strategy for the preparation of the silica gel loaded palladium catalysts

Pierwsza z wymienionych metod pozwala na eliminację rozpuszczalników organicznych, ko-katalizatora (katalizatora miedziowego), oraz nietrwałych ligandów fosfinowych, często towarzyszących katalizatorowi palladowemu, co ma bardzo korzystny wpływ na syntezę zarówno ze względów ekologicznych, jak i praktycznych. Inną zaletą stosowania immobilizowanego kompleksu palladowego jest fakt, iż prowadzenie reakcji terminalnej pochodnej acetyleny w jego obecności zdecydowanie promuje heterosprzęganie nad konkurencyjną reakcją homosprzęgania.

Metoda syntezy wykorzystująca żywicę Merrifielda jest szczególnie cenna w przypadku syntezy sprzężonych pochodnych acetyleny oraz oligomerów (Schemat 28), a główną jej zaletą jest stosunkowo łatwa izolacja pożądanego produktu [92].

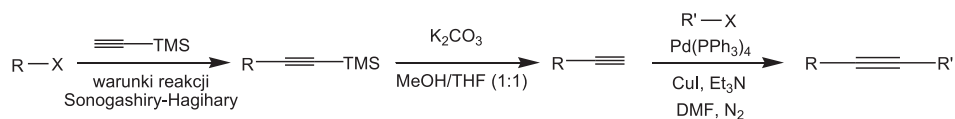


Schemat 28. Synteza sprzężonych pochodnych acetyleny na żywicy Merrifielda
 Scheme 28. Synthesis of conjugated acetylene derivatives on Merrifield's resin

3. GRUPY OCHRONNE W SYNTEZIE POCHODNYCH ACETYLENU

W syntezie chemicznej często pojawia się potrzeba stosowania grup ochronnych. Umożliwia to nie tylko selektywne sterowanie kierunkiem reakcji, ale także pozwala na otrzymywanie związków polimerowych, a w przypadku pochodnych acetyleny - sprzężanie dwóch różnych pochodnych halogenowych.

W syntezie pochodnych acetyleny najczęściej stosowaną grupą ochronną jest grupa trimetylosililowa (TMS). Wprowadzanie grupy ochronnej opiera się na reakcji Sonogashiry-Hagihary, natomiast jej usuwanie odbywa się w obecności K₂CO₃ w metanolu lub mieszaninie metanolu i THF (Schemat 29) [71, 93, 94].



Schemat 29. Wykorzystanie grupy ochronnej trimetylosililowej w syntezie pochodnych acetylenu

Scheme 29. Trimethylsilyl as the protecting group in synthesis of acetylene derivatives

Alternatywną metodą usuwania tej grupy ochronnej jest użycie fluorku potasu w roztworze alkoholu metylowego [95] bądź też w DMF [96] lub zastosowanie fluorku tetra-*n*-butyloamoniowego w THF w temperaturze -40°C [72]. Pochodna acetyleny posiadająca grupą ochronną TMS może być również bezpośrednio sprzężana z pochodną halogenową w obecności octanu palladu, węglanu cezu oraz chlorowodoru 1,3-(2,4,6-trimetylofenylo)imidazolu [97].

Analogiczną grupą ochronną jest grupa triizopropylsililowa (TIPS). Jest ona ortogonalna względem grupy ochronnej TMS, a do jej usunięcia wymagane jest użycie silnej zasady [98].

Kolejną często stosowaną grupą ochronną w syntezie pochodnych acetyleny jest grupa 2-metylopropionowa. Wprowadza się ją w warunkach reakcji Sonogashiry-Hagihary, natomiast usuwa się w bardziej drastycznych warunkach (silna zasada w toluenie [94, 99] lub benzenie [100]).

Odmienne warunki usuwania grupy ochronnej trimetylosililowej oraz 2-metylopropionowej poszerzają możliwości syntezy pochodnych acetyleny i pozwalają na syntezę dużych, skomplikowanych molekuł takich jak na przykład „nanoludzi” (nanokids) [101] czy „nanosamochody” (nanocars) [5b, 102].

PODSUMOWANIE

Pochodne acetyleny w ostatnich latach są obiektem zainteresowania wielu ośrodków badawczych. Duże zapotrzebowanie na związki zawierające wiązanie potrójne generuje rozwój metod syntezy tego typu pochodnych, pomimo opracowania już wielu procedur. Nie istnieje bowiem jedna uniwersalna metoda, wykonywająca dowolne substraty, pozwalająca otrzymać symetryczne i asymetryczne pochodne acetyleny zawierające dowolne podstawniki. Dlatego też zaprezentowany przegląd umożliwia dobranie optymalnej metody syntezy. Należy jednak pamiętać, iż nieustające rozszerzanie repertuaru wyjściowych substratów czy też pożądaných produktów rodzi nowe problemy, stąd ciągła potrzeba udoskonalania istniejących już procedur oraz szukania nowych metod.

Niniejsza publikacja nie wyczerpuje zagadnień związanych z syntezą pochodnych organicznych posiadających w swojej strukturze wiązanie potrójne między atomami węgla. Dodatkowe cenne informacje zawiera szereg publikacji przeglądowych m.in. [103–112].

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana w ramach Grantu NCN nr 2011/01/B/ST4/06094.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R.W. Sinkeldam, J. Greco, Y. Tor, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 2579.
- [2] J. Guo, L. Yu, N.J. Tirro, J. Ju, *Acc. Chem. Res.*, 2010, **43**, 551.
- [3] M. Kivala, F. Diederich, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 235.
- [4] U.H.F. Bunz, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1605.
- [5] a) G. Vives, J.M. Tour, *Acc. Chem. Res.*, 2009, **42**, 473; b) G. Vives, J. Kang, K.F. Kelly, J.M. Tour, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 5602; c) S. Khatua, J.M. Guerrero, K. Claytor, G. Vives, A.B. Kolomeisky, J.M. Tour, S. Link, *ACS Nano*, 2009, **3**, 351.
- [6] a) J. McMurry, *Chemia Organiczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000; b) G. Kupryszewski, *Wstęp do chemii organicznej*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1979; c) T. Drapała, *Chemia Organiczna*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1982.
- [7] S. Akiyama, K. Tajima, S. Nakatsuji, K. Nakashima, K. Asiru, M. Watanabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1995, **68**, 2043.
- [8] S.L. Abidi, *Tetrahedron Lett.*, 1986, **27**, 267.
- [9] S.L. Abidi, *J. Org. Chem.*, 1986, **51**, 2687.
- [10] C. Glaser, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1869, **2**, 422.
- [11] C. Glaser, *Ann. Chem. Pharm.*, 1870, **154**, 137.
- [12] K.C. Nicolaou, N.A. Petasis, R.E. Zipkin, J. Uenishi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 5555.
- [13] A.S. Hay, *J. Org. Chem.*, 1962, **27**, 3320.
- [14] W. Yin, C. He, M. Chen, H. Zhang, A. Lei, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 709.
- [15] Y. Nishihara, K. Ikegashira, K. Hirabayashi, J. Ando, A. Mori, T. Hiyama, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 1780.
- [16] G. Eglinton, A.R. Galbraith, *Chem. Ind. (London)*, 1956, 737.
- [17] G. Eglinton, A.R. Galbraith, *J. Chem. Soc.*, 1959, 889.
- [18] J.H. Li, Y. Liang, X.D. Zhang, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 1903.
- [19] F. Toda, Y. Tokumaru, *Chem. Lett.*, 1990, 987.
- [20] Y. He, C. Cai, *Catal. Sci. Technol.*, DOI: 10.1039/c2cy20096a.
- [21] M. Srebnik, N.G. Bhat, H.C. Brown, *Tetrahedron Lett.*, 1988, **29**, 2631.
- [22] N. Yasushi, O. Masanori, I. Yoshiaki, M. Mikihiro, M. Mitsuru, T. Kentaro, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 8661.
- [23] C.H. Oh, V.R. Redy, *Tetrahedron Lett.*, 2004, **45**, 5221.
- [24] A.E. Brown, B.E. Eicher, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 1960.
- [25] J. Park, E. Park, A. Kim, S.-A. Park, Y. Lee, K.-W. Chi, Y.H. Jung, I.S. Kim, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 2214.
- [26] W. Chodkiewicz, P. Cadiot, C.R. Hebd, *Seances Acad. Sci.*, 1955, **241**, 1055.
- [27] W. Chodkiewicz, *Ann. Chim. (Paris)*, 1957, **2**, 819.
- [28] M. Alami, F. Ferri, *Tetrahedron Lett.*, 1996, **37**, 2763.
- [29] a) M.D. Mowery, C.E. Evans, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **38**, 11; b) N.E. Porter, D.R. Magnin, B.T. Wright, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 2787; c) A. Singh, J.M. Schnur, *Synth. Commun.*, 1986, **16**, 847; d) J. Tsibouklis, C. Pearson, Y.P. Song, J. Warren, M. Petty, J. Yarwood, M.C. Petty, *W.J. Feast, J. Mater. Chem.*, 1993, **3**, 97.
- [30] P. Siemsen, R.C. Livingston, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2000, **39**, 2632.

- [31] K. Naemura, Y. Hokura, M. Nakazaki, *Tetrahedron Lett.*, 1986, **42**, 1763.
- [32] T. Ogawa, M. Sotelo, G. Burillo, C.S. Marvel, *J. Polym. Sci. Part C*, 1989, **27**, 167.
- [33] E. Barbu, J. Tsibouklis, *Tetrahedron Lett.*, 1997, **37**, 5023.
- [34] S. Okada, H. Matsuda, M. Otsuka, N. Kikuchi, K. Hayamizu, H. Nakanishi, M. Kato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1994, **67**, 455.
- [35] A.P. Yuvchenko, K.L. Moiseichuk, E.A. Dikusar, *J. Org. Chem. USSR*, 1989, **25**, 1045.
- [36] J.C. Cognacq, W. Chodkiewicz, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1966, 1999.
- [37] D. Grandjean, P. Pale, J. Chucho, *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 5355.
- [38] D. Grandjean, P. Pale, J. Chucho, *Tetrahedron*, 1993, **49**, 5225.
- [39] S. Ohba, J.F.J. Engbersen, *Tetrahedron*, 1991, **47**, 9947.
- [40] R. Rodriguez-Abad, J. Tsibouklis, *Synth. Commun.*, 1998, **28**, 4333.
- [41] F. Bohlmann, R. Wener, *Chem. Ber.*, 1972, **105**, 3036.
- [42] B. Tieke, G. Lieser, G. Wegner, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, 1979, **17**, 1631.
- [43] D. Villemin, P. Cadot, M. Kuétegan, *Synthesis*, 1993, 230.
- [44] A.G. Fallis, M.T.W. Hearn, E.R.H. Jones, V. Thaller, J.L. Turner, *J. Chem. Soc.*, 1973, 743.
- [45] M. Rösner, G. Köbrich, *Angew. Chem.*, 1975, **87**, 715; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1975, **14**, 708.
- [46] a) M. Ahmed, M.Y. Jarrah, E.R.H. Jones, A.F. Magalhães, M.G. Roberts, V. Thaller, *J. Chem. Res. Synop.*, 1981, 262; b) L. Crombie, A.J.W. Hobbs, M.A. Horsham, R.J. Blade, *Tetrahedron Lett.*, 1987, **28**, 4875; c) L. Fomina, A. Vega, S. Fomine, R. Gaviño, T. Ogawa, *Macromol. Chem. Phys.*, 1996, **197**, 2653.
- [47] D.W. Wiley, J.C. Calabrese, R.L. Harlow, J.S. Miller, *Angew. Chem.*, 1991, **103**, 459; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1991, **30**, 450.
- [48] G.P. Hamil, E.A. Yost, D.J. Sandman, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 1992, **211**, 339.
- [49] P. Cadot, W. Chodkiewicz, [w:] *Chemistry of Acetylenes*, H.G. Viehe (Ed.), Dekker, New York, 1969, rozdział 9, 597.
- [50] A. Soheili, J. Albanze-Walker, J.A. Murry, P.G. Dormer, D.L. Hughes, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 4191.
- [51] I.P. Beletskaya, G.V. Latyshev, A.V. Tsvetkov, N.V. Lukashev, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 5011.
- [52] A. Kuno, N. Saino, T. Kamach, S. Okamoto, *Tetrahedron Lett.*, 2006, **47**, 2591.
- [53] H. Huang, H. Jiang, K. Chen, H. Liu, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 9061.
- [54] P. Li, L. Wang, H. Li, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 8633.
- [55] a) E.A. Reddy, D.K. Barange, A. Islam, K. Mukkanti, M. Pal, *Tetrahedron*, 2008, **64**, 7143; b) V.R. Batchu, V. Subramanian, K. Parasuraman, N.K. Swamy, S. Kumar, M. Pal, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 9869; c) B. Liang, M. Dai, J. Chen, Z. Yang, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 391.
- [56] K.W. Anderson, S.L. Buchwald, *Angew. Chem.*, 2005, **117**, 6329.
- [57] I.G. Stará, I. Starý, A. Kollárovič, F. Telpý, D. Šaman, P. Fiedler, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 11209.
- [58] G. Menchi, A. Scrivanti, U. Matteoli, *J. Mol. Catal. A:Chem.*, 1999, **152**, 77.
- [59] J.G. Rodriguez, J.L. Tejedor, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 2047.
- [60] S. Urgaonkar, J.G. Verkade, *J. Org. Chem.*, 2004, **69**, 5752.
- [61] S. Thorand, N. Krause, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 8551.
- [62] S.S. Palimkar, P.H. Kumar, N.R. Jogdand, T. Daniel, R.J. Lahti, K.V. Srinivasan, *Tetrahedron Lett.*, 2006, **47**, 5527.
- [63] J. Uenishi, K. Matusi, M. Ohmi, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 225.
- [64] H. Huang, H. Liu, H. Jiang, K. Chen, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 6037.
- [65] J.W. Han, J.C. Castro, K. Burgess, *Tetrahedron Lett.*, 2003, **44**, 9359.
- [66] V.P. Mehta, A. Sharma, E. Van der Eycken, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 1147.
- [67] U.S. Sørensen, E. Pombo-Vilar, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 2697.
- [68] N.E. Leadbeater, M. Marco, B.J. Tominack, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 3919.

- [69] L. Xue, Z. Lin, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 1692.
- [70] J. Skarżewski, *Mechanizmy reakcji organicznych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Łódź, 1999.
- [71] S.H. Chanteau, J.M. Tour, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 3057.
- [72] O.H. Omar, F. Babudri, G.M. Farinola, F. Naso, A. Operamolla, *Eur. J. Org. Chem.*, 2011, 529.
- [73] C. González-Arellano, A. Abad, A. Corma, H. Garcíá, M. Iglesias, F. Sánchez, *Angew. Chem.*, 2007, **119**, 1558.
- [74] C. González-Arellano, A. Abad, A. Corma, H. Garcíá, M. Iglesias, F. Sánchez, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 1536.
- [75] H. Plenio, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 6954.
- [76] P. Tomasik, *Mechanizmy reakcji organicznych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Łódź, 1998.
- [77] F. Telpý, I.G. Stará, I. Starý, A. Kollárovič, D. Šaman, P. Fiedler, *Tetrahedron*, 2002, **58**, 9007.
- [78] B.X. Tang, F. Wang, J.H. Li, Y.X. Xie, M.B. Hang, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 6294.
- [79] S.S. Bag, R. Kundu, M. Das, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 2332.
- [80] S. Ohira, *Synth. Commun.*, 1989, **19**, 561.
- [81] E. Quesada, R.J.K. Taylor, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 6473.
- [82] A. Kuno, N. Saino, T. Kamach, S. Okamoto, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **47**, 2591.
- [83] G. Cahiez, O. Gager, J. Buendia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **48**, 1278.
- [84] G. Cahiez, C. Duplais, J. Buendia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 6734.
- [85] D. Lehnher, J. Gao, F.A. Hegmann, R.R. Tykwinski, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 4779.
- [86] M. Yu, D. Pan, W. Jia, W. Chen, N. Cáo, *Tetrahedron Lett.*, 2010, **51**, 1287.
- [87] a) W. Zhang, X. Zhang, J. Li, *J. Org. Chem.*, 2010, **75**, 4554; b) J. Moon, M. Jeong, H. Nam, J. Ju, J.H. Moon, H.M. Jung, S. Lee, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 945; c) J. Moon, M. Jang, S. Lee, *J. Org. Chem.*, 2009, **74**, 1403.
- [88] L.A. Paquette, L.S. Wittenbrook, V.V. Kane, *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, **89**, 4487.
- [89] J.C. Philips, J.V. Swisher, D. Haidukewych, O. Morales, *Chem. Commun.*, 1971, 22
- [90] R.H. Mitchell, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1973, 955.
- [91] M. Bandini, R. Luque, V. Budarin, D.J. Macquarrie, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 9860.
- [92] G. Li, X. Wang, J. Li, X. Zhao, F. Wang, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 2576.
- [93] W.B. Austin, N. Bilow, W.J. Kelleghan, K.S.Y. Lau, *J. Org. Chem.*, 1981, **46**, 2280.
- [94] G. Rodriguez, J.L. Tejedor, T. La Parra, C. Díaz, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 3355.
- [95] V. Grossshenny, F.M. Romero, R. Ziessel, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 1491.
- [96] A. de Meijere, S. Kozhushkov, T. Haumann, R. Boese, C. Puls, M.J. Cooney, L.T. Scott, *Chem. Eur. J.*, 1995, **1**, 124.
- [97] C. Yang, S.P. Nolan, *Organometallics*, 2002, **21**, 1020.
- [98] D. Lehnher, R. McDonald, R.R. Tykwinski, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 4163.
- [99] Q. Xiao, R.T. Ranasinghe, A.M.P. Tang, T. Brown, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 3483.
- [100] K. West, C. Wang, A.S. Batsanov, M.R. Bryce, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 1934.
- [101] S.H. Chanteau, J.M. Tour, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 8750.
- [102] a) Y. Shirai, A.J. Osgood, Y. Zhao, Y. Yao, L. Saudan, H. Yang, C. Yu-Hung, L.B. Alemany, T. Sasaki, J.F. Morin, J.M. Guerrero, K.F. Kelly, J.M. Tour, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 4854; b) J.M. Tour, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 7477; c) A.V. Akimov, A.V. Nemukhin, A.A. Moskovsky, A.B. Kolomeisky, J.M. Tour, *J. Chem. Theory Comput.*, 2008, **4**, 652; d) T. Sasaki, A.J. Osgood, L.B. Alemany, K.F. Kelly, J.M. Tour, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 229.
- [103] A. Orita, J. Otera, *J. Chem. Rev.*, 2006, **106** (12), 5387.
- [104] R. Chinchilla, C. Najera, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 5084.
- [105] J. Liu, J.W.Y. Lam, B.Z. Tang, *Chem. Rev.*, 2009, **109** (110), 5799.

- [106] Y. Yoshinori, I.D. Gridnev, N.T. Patil, T. Jin, *Chem. Commun.*, 2009, 5075.
- [107] I. Omea, *Apel. Organometal. Chem.*, 2008, **22**, 149.
- [108] U. Halbes-Letinois, J.M. Weibel, P. Pale, *Chem. Soc. Rev.*, 2007, **36**, 759.
- [109] A. Fürstner, P.W. Davies, *Chem. Commun.*, 2005, 2307.
- [110] P.G. Cozzi, R. Hilgraf, N. Zimmermann, *Eur. J. Org. Chem.*, 2004, 4095.
- [111] J. Kawakami, m. Takeba, I. Kamiya, N. Sonoda, A. Ogawa, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 6559.
- [112] C.S. Chin, G. Won, D. Chong, M. Kim, H. Lee, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 218.

Praca wpłynęła do Redakcji 9 sierpnia 2012

**JUBILEUSZE – SYLWETKI UCZONYCH
– PREZENTACJE PLACÓWEK NAUKOWYCH**

**JUBILEUSZ 80-LECIA URODZIN
PROFESORA IGNACEGO Z. SIEMIONA**

THE 80th BIRTHDAY ANNIVERSARY
OF PROFESSOR IGNACY Z. SIEMION

Kazimiera Lukjan

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: kazimiera.lukjan@chem.uni.wroc.pl*

Wspaniały człowiek, naukowiec, wybitna osobowość, mistrz, mędrzec – tak mówiono o Jubilationie **prof. Ignacym Zenonie Siemionie** na uroczystych obchodach 80. urodzin na Wydziale Chemii naszej uczelni. Jubilat doczekał tego święta w doskonałym zdrowiu.



Profesor Ignacy Siemion podczas uroczystości urodzinowych

Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, w szczególności Zespół chemii i stereochemii peptydów i białek, na czele z prof. Zbigniewem Szewczukiem, kierownikiem zespołu, stanęli na wysokości zadania organizując dostojnemu Jubilatowi seminarium wydziałowe.

Dziekan Wydziału Chemii prof. Anna Trzeciak otworzyła uroczyste seminarium poświęcone działalności naukowej Jubilata.

Prof. Szewczuk przypomniał życiorys prof. Ignacego Siemiona urodzonego w 1932 roku w Krzczonowie. Studia chemiczne ukończył na Uniwersytecie Moskiewskim. W 1955 roku uzyskał magisterium publikując pracę o syntezie homologów tauryny. W latach 1955–1958 pracował w Katedrze Chemii Organicznej Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierownictwem prof. Henryka Kuczyńskiego, zajmując się chemią terpenów, a w latach 1958–1969 w Zakładzie Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej we Wrocławiu, kierowanym przez prof. Tadeusza Baranowskiego. Jedenastoletni pobyt w tym zakładzie ukierunkował pracę Profesora w stronę chemii bioorganicznej, dokładniej – chemii i stereochemii białek. Po doktoracie (1964 r.) i habilitacji (1968 r.), w 1969 roku powrócił na Uniwersytet Wrocławski, w roku 1974 został profesorem nadzwyczajnym, a w 1981 roku – profesorem zwyczajnym na naszej uczelni.

Prof. Zbigniew Szewczuk omówił pokrótce przebieg pracy badawczej Profesora i Jego główne osiągnięcia. Przypomniał, że początek prac Profesora Ignacego Siemiona w dziedzinie chemii peptydów, wiąże się z ważnym na początku lat 60. XX wieku problemem racemizacji podczas syntezy wiązań amidowych. Dalsze jego zainteresowania badawcze zwracają się w stronę badania konformacji peptydów. W 1963 roku Profesor przeprowadził pierwszą w Polsce syntezę hormonu peptydowego. Była to synteza bradykininy, nonapeptydowego regulatora ciśnienia krwi.

Pod koniec lat 70. Zespół Profesora Ignacego Siemiona zajmował się syntezą analogów enkefaliny, peptydu tkanki mózgowej o działaniu przeciwbólowym. Najważniejszym jednak polem działania Profesora w obszarze peptydów naturalnych stały się peptydowe immunomodulatory. We współpracy z prof. Zbigniewem Wieczorkiem z Instytutu Immunologii PAN, Zespół Profesora odkrył nową grupę peptydowych immunosupresorów, a z grupą prof. Macieja Wiewiórowskiego pracował nad chemią kodu genetycznego.



Prof. Zbigniew Szewczuk

Profesor był stypendystą Fundacji im. A. Humboldta, odbył staże badawcze na Politechnice Monachijskiej i w Instytucie Badań Medycznych im. Maxa Plancka w Heidelbergu.

Wygłaszał wykłady w Tufts University w Bostonie, Nowym Jorku, Madison, Bethesda. Prezentował wykłady w CEN w Saclay pod Paryżem oraz na Uniwersytecie Lille, w Instytucie Chemii Organicznej i Biochemii w Pradze.

Profesor jest znanym oraz cenionym organikiem, specjalistą chemii i stereochemii peptydów i białek. Wypromował dwudziestu trzech doktorów chemii, spośród których pięcioro się habilitowało, a czworo uzyskało tytuł profesora. Profesor ma bogaty dorobek naukowy, jest autorem 9 książek, 275 prac oryginalnych i blisko 150 artykułów przeglądowych oraz dotyczących historii nauki.

Jego prace były cytowane 1737 razy w czasopiśmie zagranicznych, gdzie Indeks Hirscha jest bardzo wysoki.

Wraz z Zespołem prezentował 72 komunikaty na krajowych zjazdach i konferencjach naukowych oraz około 50 komunikatów na zjazdach międzynarodowych. Wygłaszał wykłady także na Europejskim Sympozjum Peptydowym, na IUPAC Symposium on the Chemistry of Natural Products, International Symposium on Peptide Inhibitors of Proteolytic Enzymes w Montpellier i inne. Współorganizował Europejskie Sympozjum Peptydowe, Polskie Sympozjum Peptydowe, Polsko-Czeską Szkołę Stereochemii Peptydów, Sympozjum Satelitarne 9. Kongresu Biofizycznego w Jerozolimie, Szkołę Historii Chemii.

Był przez wiele lat członkiem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN, Komitetu Nauk Chemicznych PAN, Europejskiego i Amerykańskiego Towarzystwa Peptydowego.

Był również członkiem Komitetu Redakcyjnego czasopisma *Acta Biochimica Polonica*, Rady Redakcyjnej Postępów Biochemii, miesięcznika *Człowiek i Światopogląd*, członek Komitetu Redakcyjnego, a potem Redaktor Naczelny *Wiadomości Chemicznych*, członek Komitetu Redakcyjnego *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy* i *Polish Journal of Chemistry*.

Za swoją działalność naukową dostał wiele nagród i odznaczeń. Nie sposób wymienić wszystkie, należy choć wspomnieć o Nagrodzie Naukowej PAN im. M. Curie-Skłodowskiej, którą otrzymał dwukrotnie, nagrodzie Ministra Szkolnictwa Wyższego I. i II. stopnia, nagrodzie Sekretarza Naukowego PAN i wielu innych. Profesor został odznaczony Krzyżem Kawalerskim Odrodzenia Polski, otrzymał Medal Komisji Edukacji Narodowej i wiele tytułów i zaszczytów.

Prof. Ignacy Z. Siemion jest już na emeryturze. W 2006 roku powstał na prawach laboratorium wydziałowego Gabinet Historii Chemii, gdzie twórcą i w pierwszych latach jego opiekunem był Profesor, teraz Gabinetem opiekuje się prof. Kazimierz Orzechowski

Emerytura dla Profesora to nic takiego, gdyż Profesor ciągle dba o to, by nie przeszkadzała mu w pracy, wręcz przeciwnie, jego niestrudzona aktywność na polu historii chemii jest „motorem napędowym” działalności Gabinetu.

W 1995 roku zainicjował publikowanie w „Wiadomościach Chemicznych” stałego felietonu pod tytułem „Notatki chaotyczne”. Ze swadą i dużą znajomością historii chemii prof. Siemion opowiada o różnych wydarzeniach ze świata chemicznego, umiejętnie przemieszcza się w czasie, znajdując trafne i głębokie porównania faktów historycznych ze współczesnymi. Ukazało się już sześćdziesiąt felietonów. Pierwszą „trzydziestkę” prof. Siemion zebrał w tomie pt. „Lutium sapientiae, czyli Notatek chaotycznych część pierwsza”. Drugą zatytułował „Viridarium chymicum, czyli Notatek chaotycznych część druga”. Profesor pisze kolejne felietony, które ukazują się w „Wiadomościach Chemicznych” pt. „Okruczy”. Większość czytelników zaczyna lekturę czasopisma od felietonów prof. Siemiona.

W 2009 roku ukazała się książka prof. Ignacego Siemiona pt. „Wilno chemiczne do połowy XIX stulecia”. Została ona wydana przez Komitet Historii Nauki i Techniki PAN w ramach serii „Rozprawy z dziejów nauki i techniki”. Książka traktuje o nauczaniu chemii i pracach badawczych chemików w Wilnie. Znaleźć w niej można także szkice o uczniach Śniadeckiego, do których należeli m.in. Ignacy Fonberg i Ignacy Domeyko. Jest to, jak dotąd, najobszerniejsze dzieło, jakie powstało w Gabinetcie Historii Chemii.

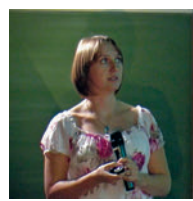
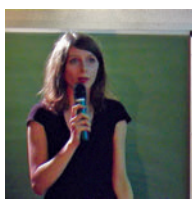
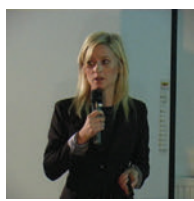
W 2010 roku została wydana książka „Rady zdrowotne wrocławskiego lekarza dla króla polskiego” autorstwa Baltazara Ludwika Trallesa, którą z języka łacińskiego przełożył prof. Kazimierz Ignacy Orzechowski, a wyboru dokonał i wstępem opatrzył prof. Ignacy Siemion.

Najnowszym zadaniem podjętym przez Gabinet Historii Chemii jest przygotowanie do druku tłumaczenia XVII-wiecznego dzieła elbląskiego lekarza i chemika Jakuba Barnera pt. „Chemia filozoficzna”. Tłumaczenie jest efektem wspólnej pracy prof. Kazimierza Ignacego Orzechowskiego, prof. Kazimierza Władysława Orzechowskiego, prof. Ignacego Siemiona i prof. Alicji Szastyńskiej-Siemion. To ważne dla historii chemii dzieło ma się ukazać w tym roku w serii „Fontes ad Historiam Scientiae” wydawanej przez Instytut Historii Nauki PAN w Warszawie.

W 2011 roku prof. Ignacy Siemion został uhonorowany przez Konsorcjum Sigma Aldrich i Polskie Towarzystwo Biochemiczne oraz redakcję czasopisma „Wiadomości Chemiczne” nagrodą za badania naukowe i zasługi wydawnicze.

Prof. Siemion jest niezwykle ciekawym człowiekiem i badaczem. Jego największą pasją jest historia nauki, w szczególności historia chemii. Pasja ta urosła do rangi powołania i realizowana jest z zapałem porównywalnym do fascynacji chemią aminokwasów, peptydów i białek. Profesor ceni sobie stare książki i dokumenty i uważa że „kontakt z żywą książką to szczególnie doznanie czytelnika, a ze starą książką – podwójnie szczególnie”.

Po prezentacji dorobku naukowego Profesora doktoranci prof. Szewczuka prezentowali wybrane publikacje, w których autorzy cytowali prace prof. Ignacego Z. Siemiona i wykorzystali jego odkrycia.



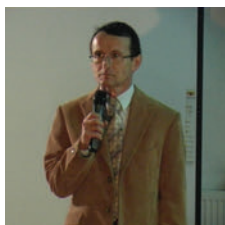
dr Mariola Kuczer, mgr Marta Cal, mgr Martyna Kielmas, mgr Magdalena Rudowska



dr Monika Kijewska, mgr Maciej Modzel, mgr Remigiusz Bąchor, mgr Bartosz Setner

Seminarium wydziałowe było innowacyjne, zaplanowano bowiem pięciominutowe wystąpienia, które rozpoczęła dr Mariola Kuczer, mówiąc o racemizacji aminokwasów. Kolejni mówcy poruszyli tematy: mgr Marta Cal – NMR i struktura peptydów, dr Alicja Kluczyk – peptydy, układ odpornościowy i nerwowy, mgr Martyna Kielmas – usztywnione analogi enkefalin, mgr Magdalena Rudowska – enkefalin

i jony wapnia, dr hab. Marek Lisowski – badania nad heksapeptydowym fragmentem PRP, dr Monika Kijewska – aktywność biologiczna CLA, dr hab. Piotr Stefanowicz – periodyczność kodu genetycznego, mgr Maciej Modzel – antamanid, dr Marek Cebrat – cyklolinopeptyd i jego analogi, mgr Remigiusz Bąchor – peptydy tymopen-tynopodobne, mgr Bartosz Setner – strukturalne analogi CLA.



dr hab. Marek Lisowski



dr Alicja Kluczyk



dr hab. Piotr Stefanowicz



dr Marek Cebrat

Uczniowie Pana Profesora

List gratulacyjny prof. Stefana Jankowskiego, dziekana z Politechniki Łódzkiej, opisujący dokonania Jubilata i zawierający podziękowania za ogromny wkład w rozwój chemii bioorganicznej, w szczególności chemii peptydów, oraz wysiłek włożony w wychowanie wielu pokoleń specjalistów w tych dziedzinach odczytał prof. Zbigniew Kamiński. Do życzeń dołączył się prof. Michał Zimecki z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

Gratulacje od rektora naszej uczelni prof. Marka Bojarskiego odczytał i złożył życzenia prorektor prof. Adam Jezierski.

Szczególnie ciepłe słowa zawarte były w liście gratulacyjnym rektora Uniwersytetu Gdańskiego prof. Bernarda Lammka, który napisał, że pokolenia badaczy, naukowców i studentów zawdzięczają Dostojnemu Jubilatowi powstanie polskiej szkoły chemii peptydów, a dzisiejsze osiągnięcia nauki polskiej w tej dziedzinie nie byłyby możliwe, gdyby nie zaangażowanie, znakomita znajomość zagadnień naukowych i profesjonalizm Profesora.

Rektor życząc Jubilatowi zdrowia oraz wszystkiego najlepszego w życiu osobistym jeszcze raz podziękował Profesorowi szczególnie za to, że kierował się zawsze dobrem środowiska uniwersyteckiego.

Równie piękne gratulacje otrzymał prof. Siemion od dr. Krzysztofa Bańkowskiego, który w swoim liście napisał, że jest pełen podziwu i uznania dla dorobku naukowego Profesora stanowiącego niebywały wkład do polskiej chemii peptydów, podkreślił, że Profesor jest wspaniałym naukowcem, dydaktykiem oraz niezwykle ciepłym człowiekiem, życzliwym światu, przyjaznym ludziom, ze wspaniałym poczuciem humoru.

Do życzeń dołączyli także Dziekan Wydziału Chemii prof. Anna M. Trzeciak; członek rzeczywisty PAN prof. Lucjan Sobczyk z małżonką; prof. Elwira Lisowska z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN oraz prof. Piotr Hawranek, członek Rady Redakcyjnej „Wiadomości Chemicznych”. Z pięknymi życzeniami wystąpili także prof. Kazimierz Orzechowski, prof. Jerzy Mroziński z małżonką Danutą, która na tę uroczystość napisała wiersz, dr Krystyna Marks, prof. Mikołaj Rudolf, dr hab. Maria J. Korabik i panie z biblioteki wydziałowej.



Gratulacje składają: prof. Adam Jezierski, prof. Jerzy Hawranek, prof. Zbigniew Szewczuk, prof. Kazimierz Orzechowski, prof. Henryk Ratajczak, prof. Anna Trzeciak

Prof. Ignacy Siemion, niezwykle wzruszony, podziękował pracownikom Wydziału Chemii za zorganizowanie uroczystości, szczególnie prof. Zbigniewowi Szewczukowi za trud włożony w piękną oprawę jubileuszu akcentującą fakt, że wieloletnia praca dla wydziału powinna przynieść satysfakcję. Jubilat wyraził radość z obecności licznych gości przybyłych także spoza Wrocławia, z zaprzyjaźnionych instytucji naukowych, cieszył się z obecności miłej jego sercu rodziny i z „przyjazni widocznej w ich oczach”. Jubilat skierował też ciepłe słowa do wszystkich obecnych z Zespołu chemii i stereochemii peptydów i białek, podkreślając, że siłę do pokonywania trudów dawała mu przez te wszystkie lata „ludzka przyjaźń”, która czyni lepszymi jednostki, grupy ludzkie, a nawet całe zespoły.

Prof. Zbigniew Szewczuk wręczył Jubilatowi pracę zespołową autorstwa Alicji Kluczyk, Marzeny Cydzik, Moniki Biernat, Remigiusza Bąchora, Pawła Pasińskiego, Piotra Stefanowicza, Jolanty Artym, Michała Ozimeckiego i Zbigniewa Szewczuka pt. „Dimeric analogs of immunosuppressive decapeptide fragment of ubiquitin”, opublikowaną w najnowszym numerze czasopisma „Journal of Peptide Science”, 2012, vol. 18, 456–465, dedykowaną prof. Ignacemu Siemionowi z okazji 80. urodzin.

Uroczystość zwieńczył występ uroczej wnuczki Jubilata Agnieszki Siemion, która odśpiewała znany song Bertolda Brechta o bandycie Mackie Majchrze.



Jubilat w towarzystwie prof. Henryka Ratajczaka i wnuczki Agnieszki

Jubileuszową uroczystość dopełniły wiersze. Pierwszy napisany przez dr Katarzynę Sobczyk-Kojiro, uczennicę Profesora mieszkającą obecnie w USA został odczytany przez dr Alicję Kluczyk.

Za górami, za lasami
W świecie węgla i azotu,
Tlenu siarki i wodoru
Mieszkał sobie dzielny chemik
Nie z przymusu acz z wyboru

Modele budował
Układał struktury
Gdy był wesoły i
Gdy był ponury

Nigdy nie wzdrygał się przed
Nauki trudami wyzwaniem
I wszyscy z nas Panowie i Panie
Od lat go darzymy wielkim uznaniem
Proliny zawijał w cis-trans izomery
Rozgryzał zwycięsko ich NMR-y
Nie bał się ni Tyftsyn, ni żadnej syntezy
Analiz, czyszczenia i elektroforezy.

I choć nie była to zawsze
Najłatwiejsza praca
Nic od niej nie odstraszało
Dostojnego Ignaca

A teraz historię nauki
Z radością się zajmuje
I coraz to nową
Gawędę nam publikuje

I choć praca ta ciągle
Jest nieskończona
To nic nie zatrzyma
Naszego Zenona.

Wiwat nasz Mistrzu!!!
I zacyjny mentorze,
Żyj nam w zdrowiu sto lat,
A my wszyscy maluczcy
W głębokiej pokorze
Bezdenną i dozgonną wdzięcznością
Obdarzyć będziemy drogiego waszmościa.

A tłum wychowanków
Rozsianych po świecie zakrzyknie:
Chowajcie się potomni Piastów, Wazów i Sasów,
Przed Siemionem, królem aminokwasów!!!

Katarzyna Sobczyk-Kojiro

Następnie także odczytano wiersz jednej ze współpracownic Pana Profesora,
Pani Danusi M.

Motto: „Czy to bessa czy hossa wychwalamy swego Bossa...”
80 twórczych lat,
Profesorze, to nie żart!
80 lat wspaniałych
To doprawdy nie do wiary!
Wciąż ten wigor, bez „zadęcia”
Non – stop ku nauce chęci,
Wciąż ze swadą, rześki, krzepki,
I choć z cukrem – nigdy lepki!
W Viridarium swym chemicznym
Wciąż studiuje i wertuje,
na bieżąco myśl odświeża,
by nie błądzić po obrzeżach...
Niech następcy, nasze dziadki
Wciąż studiują Twe Notatki
Chaotyczne acz wspaniałe,
do przemyśleń i zadumy
(Tu Jubilat pęka z dumy)
To są wzorce wprost z Krzczonowa
Choć nowina to nie nowa
Jak być Mistrzem w życia sztuce?

Jak odnaleźć się w nauce?
 Uczyć młodych jak nie kwękać
 Wszak nauka to nie męka!
 Drogi Jubilate, Profesorze nasz,
 Niech Los kłania Ci się w pas,
 I niech będzie wciąż łaskawy,
 A Mistrz Siemion – nigdy stary

Danuta M.

Drugą część obchodów świętowano w klubie wydziału. Dostojny Jubilat pokroił tort i w miłej atmosferze, w tle wyświetlanego filmu dokumentującego najważniejsze konferencje i zjazdy naukowe, i cichej muzyki, pito kawę, częstowano się słodkościami i gawędzono.



Jubilat kroi tort urodzinowy w obecności Pani Dziekan prof. Anny Trzeciak



Profesor w towarzystwie swojej uczennicy dr Alicji Kluczyk



Jubilat z panią Dziekan i zespołem

Zdjęcia do artykułu wykonali dr Alicja Kluczyk i dr Władysław Wrzeszcz.

Kazimiera Lukjan

Wielce Szanowny Panie Profesorze,

z okazji Jubileuszu 80-lecia urodzin życzymy Panu wszelkiej pomyślności oraz dalszych sukcesów zarówno na polu zawodowym jak i rodzinnym. Jednocześnie dziękujemy za trud systematycznego przygotowywania unikatowych i bezcennych publikacji dla naszych czytelników.

Redakcja Wiadomości Chemicznych

INFORMACJE

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

CENY PRENUMERATY NA ROK 2012

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

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

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

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2013 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi **70 zł** (składka – 50 zł, prenumerata – 20 zł);
- emeryci, doktoranci oraz studenci płacą **35 zł** (składka – 15 zł, prenumerata – 20 zł); a nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą **40 zł** (składka – 20 zł, prenumerata – 20 zł).

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

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

Wyróżnione prace doktorskie lub habilitacyjne

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

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

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

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



WYBORY W POLSKIM TOWARZYSTWIE CHEMICZNYM

1. DZIAŁALNOŚĆ POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Polskie Towarzystwo Chemiczne to jedno z najstarszych i najznamienitszych towarzystw naukowych w Polsce. Powołane zostało przez wybitnych Profesorów Leona Marchlewskiego, Tadeusza Miłobędzkiego, Wojciecha Świętosławskiego, Stanisława Tołłoczko, Jana Zawidzkiego, a do członków honorowych należała również nasza wspańska rodaczka Maria Skłodowska-Curie.

Towarzystwo, od 1919 roku nieprzerwanie do dziś dnia, intensywnie działa na rzecz nauk chemicznych. Zgodnie z misją, do działalności statutowej PTChem należy popieranie rozwoju nauk chemicznych i szerzenie wiedzy chemicznej wśród społeczeństwa. Wyznaczone cele Towarzystwo realizuje poprzez:

- organizowanie posiedzeń, konferencji i zjazdów naukowych chemików,
- organizowanie odczytów, wykładów, kursów naukowych, czy też zwiedzanie zakładów naukowych i przemysłowych,
- wydawanie własnych czasopism naukowych oraz innych publikacji związanych z charakterem działalności,
- gromadzenie zbiorów i zakładanie bibliotek oraz prowadzenie Muzeum Marii Skłodowskiej-Curie,
- sprawowanie merytorycznej opieki nad Olimpiadą Chemiczną i współpracę z Kołami Naukowymi Studentów,
- przyznawanie medali, nagród i innych wyróżnień w dziedzinie nauk chemicznych oraz jej zastosowań,
- inicjowanie i udział w pracach i przedsięwzięciach podejmowanych przez instytucje i inne Towarzystwa zarówno krajowe jak i zagraniczne, zmierzające do rozwoju nauk chemicznych,
- udzielanie informacji z zakresu chemii władzom państwowym i organizacjom społecznym oraz opracowywanie i wypowiedanie się w sprawach ważnych dla rozwoju nauk chemicznych i kształcenia w tej dziedzinie.

Polskie Towarzystwo Chemiczne prowadzi unikalne w skali światowej Muzeum Marii Skłodowskiej-Curie, w którym gromadzi pamiątki związane z życiem i działalnością naukową naszej wielkiej rodaczki. W roku 2006, PTChem wraz z nim Muzeum Marii Skłodowskiej-Curie, otrzymało status organizacji pożytku publicznego.

2. NOWE WŁADZE PTCHEM W KADENCJI 2013-2015

16 września 2012 roku w Białymstoku w przededniu inauguracji 55 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego wybrano Prezesa oraz Członków Prezydium Zarządu

Głównego PTChem na kadencję 2013–2015. W wyniku jednomyślnego głosowania Prezesem został prof. Bogusław Buszewski z Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, który tę zaszczytną funkcję będzie pełnił po raz drugi. Po raz pierwszy Profesor został wybrany Prezesem PTChem w roku 2009 podczas wyborów w Łodzi na kadencję 2010–2012.

Wraz z Profesorem Buszewskim współpracować będzie ośmioro członków nowo wybranego Prezydium. Przed Prezesem i wybranymi Członkami Prezydium trzy lata aktywnej i dynamicznej pracy dla Towarzystwa. Głównymi celami stanie się ustabilizowanie sytuacji kadrowej w Oddziałach i Sekcjach Naukowych oraz przystosowanie budynku na Freta w Warszawie dla zadań statutowych Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Muzeum Marii Skłodowskiej-Curie.

3. SKŁAD PREZYDIUM ZARZĄDU GŁÓWNEGO PTCHEM:

Prezes Honorowy

Prof. dr hab. Bogdan Baranowski, IChF PAN, Warszawa

Prezes

Prof. dr hab. Bogusław Buszewski, UMK, Toruń

Zakres kompetencji: reprezentowanie Towarzystwa w kraju i za granicą, dbanie o dobrze rozumiany interes członków Towarzystwa, koordynowanie i nadzorowanie pracy członków Zarządu Głównego, nadzór nad działalnością Muzeum MSC

I Wiceprezes

Prof. dr hab. Piotr Bałczewski, CBMM PAN, Łódź

Zakres kompetencji: kontakty zagraniczne, kontakt z Polonią, dywizje w EuCheMS, reprezentacja w wydawnictwach PTChem (czasopisma)

Wiceprezes

Dr hab. inż. Żaneta Polkowska, PG, Gdańsk

Zakres kompetencji: sprawy krajowe, odpowiedzialność za pracę Oddziałów i Sekcji Naukowych, koordynator Zjazdów Naukowych, kontakt z członkami Towarzystwa, składki członkowskie

Skarbnik

Dr hab. Izabela Nowak, prof. UAM, Poznań

Zakres kompetencji: finanse ZG PTChem i Muzeum MSC, Rada Konsultacyjna, pozyskiwanie środków unijnych i krajowych na działalność Towarzystwa (granty, projekty, sponsorzy)

Sekretarz**Dr hab. Monika Michel**, prof. nadzw., IOR-PIB Poznań, TSD Toruń

Zakres kompetencji: sprawy naukowo-organizacyjne, współpraca z Biurem PTChem, koordynowanie obiegu informacji wewnątrz i ich wpływ na zewnątrz Towarzystwa, nadzorowanie realizacji planów pracy Zarządu, prowadzenie protokolarza posiedzeń Zarządu, informacje w Orbitalu, aktualizacja strony domowej PTChem, promocja Towarzystwa

Członkowie Prezydium**Dr hab. Michał Cyrański**, UW, Warszawa

Zakres kompetencji: zarządzanie budynkiem na Freta, sprawy lokalne, kontakt z organizacjami rządowymi i pozarządowymi (MNiSW, PAN)

Prof. dr hab. Jacek Gawroński, UAM, Poznań

Zakres kompetencji: sprawy naukowe, Medale, Wyróżnienia, Nagrody

Dr hab. Jacek Lipok, UO, Opole

Zakres kompetencji: sprawy kształtowania edukacji w zakresie nauk chemicznych, współpraca z nauczycielami, Sekcją Studencką (doktoranci, studenci), Olimpiady i Konkursy Chemiczne

Dr hab. Janusz Ryczkowski, prof. UMCS, Lublin

Zakres kompetencji: współpraca z SITPChem, z przedstawicielami przemysłu chemicznego, wystawy, targi.



Władze i pracownicy PTChem, od lewej:

dr hab. Jacek Lipok (Członek Prezydium), prof. Janusz Ryczkowski (Członek Prezydium), prof. Izabela Nowak (Skarbnik), prof. Bogusław Buszewski (Prezes), dr hab. Żaneta Polkowska (Wiceprezes), prof. Monika Michel (Sekretarz), prof. Jacek Gawroński (Członek Prezydium), Agnieszka Hylańska (Dyrektor Biura PTChem), dr hab. Michał Cyrański (Członek Prezydium), mgr Małgorzata Sobieszczak-Marciniak (Dyrektor Muzeum MSC PTChem), prof. Piotr Balczewski (I-Wiceprezes)

prof. Monika Michel

Nowo wybranym władzom Polskiego Towarzystwa Chemicznego w kadencji 2013–2015, składamy najszczerze gratulacje i życzymy wielu sukcesów w realizacji wszystkich wytyczonych zadań.

Z wyrazami uznania,
Redakcja *Wiadomości Chemicznych*

**SPRAWOZDANIE KOMITETU GŁÓWNEGO OLIMPIADY CHEMICZNEJ
 Z 58. OLIMPIADY CHEMICZNEJ W ROKU SZKOLNYM 2011/2012.**

W roku szkolnym 2011/2012 odbyła się 58. Olimpiada Chemiczna. Przygotowania do zawodów, tak jak w latach poprzednich, rozpoczęły się w dniu uroczystości zakończenia 57. Olimpiady – rozdaniem Laureatom i ich nauczycielom folderów z zadaniami wstępnymi. Zadania te zostały również zamieszczone na stronie internetowej Olimpiady Chemicznej i rozesłane do nauczycieli szkół niemających laureatów. Tym samym etap wstępny rozpoczął się przed wakacjami: zainteresowani udziałem w Olimpiadzie uczniowie mogli już wtedy rozpocząć indywidualne rozwiązywanie zadań oraz uzupełnianie swoich wiadomości i umiejętności, korzystając przy tym z zalecanej literatury, konsultacji u nauczycieli i starszych kolegów. Na podstawie rozwiązanych zadań etapu wstępnego nauczyciele z 256 szkół zakwalifikowali 937 uczniów do etapu pierwszego (Tab. 1).

Tabela 1.

	Okręg	I Etap		II Etap	Finał	LAUREACI
		Liczba szkół	Liczba zawodników	Liczba zawodników	Liczba zawodników	Liczba zawodników
1	Białostocki	10	37	12	4	1
2	Gdański	24	56	21	2	1
3	Katowicki	25	48	19	6	2
4	Kielecki	16	58	16	2	1
5	Krakowski	26	102	40	8	5
6	Lubelski	17	48	13	5	1
7	Łódzki	16	80	40	11	3
8	Poznański	21	58	27	5	2
9	Rzeszowski	18	68	20	7	2
10	Szczeciński	13	87	29	12	7
11	Toruński	12	74	16	3	2
12	Warszawski	33	119	49	14	6
13	Wrocławski	25	102	29	13	5
	Suma	256	937	331	92	38

Etap I odbył się 19 listopada 2011 r. w kilkunastu większych miastach Polski, pod nadzorem komisji powołanych przez Komitety Okręgowe. Zawodnicy rozwiązywali 5 zadań teoretycznych. Na podstawie uzyskanych przez nich wyników Komitet Główny zakwalifikował do drugiego etapu 331 zawodników (Tab. 1).

Etap II odbył się 27 i 29 stycznia 2012 r. w 13 miejscowościach, będących siedzibami Komitetów Okręgowych. Uczniowie mieli do rozwiązania 5 zadań teoretycznych oraz jedno zadanie laboratoryjne. Do finalnego, III etapu Komitet Główny zakwalifikował 92 uczniów.

Zawody finałowe odbyły się 30 i 31 marca 2012 r. w Warszawie, przy czym zawody laboratoryjne – w laboratoriach Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej, a zawody teoretyczne – w Auli Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Zawodnicy mieli do rozwiązania 5 zadań teoretycznych oraz dwa zadania laboratoryjne.

Po sprawdzeniu prac Komitet Główny wyłonił 38 laureatów (Tab. 1) oraz 4 reprezentantów Polski na 48. Olimpiadę Międzynarodową, która w tym roku odbyła się w Waszyngtonie, w dniach 21–30 lipca. Byli to: Grzegorz Rak, Kamil Adamczyk, Paweł Błaszczyk i Szymon Wrzesiński, zawodnikiem rezerwowym został Cyprian Kleist.

Wszystkie zadania (wraz z przykładowymi rozwiązaniami) z poszczególnych etapów są zamieszczone na naszej stronie internetowej <http://www.olchem.edu.pl>.

Uroczyste zakończenie Olimpiady, na które zaproszeni zostali Laureaci i ich opiekunowie, miało miejsce 16 czerwca w Auli Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. W uroczystości wzięło udział wielu znakomitych gości, którzy wspierali Komitet Główny zarówno w pracy, jak i współfinansując nagrody dla laureatów: prof. dr hab. Maciej Jarosz, wiceprezes PTCh, prof. dr hab. Robert Hołyst – dyrektor Instytutu Chemii Fizycznej PAN, prof. dr hab. Paweł Kulesza – dziekan Wydziału Chemii UW, dr hab. Andrzej Kudelski – prodziekan Wydziału, prof. dr hab. inż. Zbigniew Brzózka – dziekan Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej, prof. dr hab. inż. Michał Fedoryński – prodziekan Wydziału. Obecni byli także przedstawiciele sponsorów: p. Joanna Marek-Banach (dyrektor) i p. Bianka Płowarczyk-Kowalewska (wydawca) Państwowego Wydawnictwa Naukowego PWN, p. Czesław Bugaj – dyrektor wykonawczy ds. rozwoju i aktywności PKN Orlen SA oraz dr Ryszard Grzybek – koordynator ds. programów rozwojowych, wiceprezes SITPChem w Zakładach Azotowych Kędzierzyn Koźle. Swoją obecnością zaszczyliła nas również dr Danuta Nakoneczna, założyciel i kierownik naukowy Towarzystwa Szkół Twórczych i Stowarzyszenia Nauczycieli Olimpijskich.

W czasie uroczystości prof. dr hab. Jerzy Szydłowski, przewodniczący Komitetu Głównego Olimpiady, wręczył laureatom oraz ich nauczycielom (Tab. 2) dyplomy i nagrody od Komitetu Głównego Olimpiady Chemicznej: komputer przenośny dla zwyciężczyni – Karoliny Trockiej, minikomputery przenośne i tablety oraz książki подарowane przez wydawnictwo PWN, a także pamięci USB подарowane przez CIECh.

Ponadto Kamil Adamczyk i Grzegorz Rak otrzymali kamery cyfrowe od Dziekana Wydziału Chemii UW oraz Dziekana Wydziału Chemicznego PW.

Nagrody za najlepiej rozwiązane zadania z chemii fizycznej, od Dyrektora Instytutu Chemii Fizycznej PAN, prof. dr hab. Roberta Hołysta otrzymali: Szymon Wrzesień, Małgorzata Jabłczyńska i Piotr Wróbel.

Przyznane zostały także nagrody – kamery cyfrowe, za najlepiej rozwiązane, w II i III etapie zawodów, zadania laboratoryjne. Otrzymali je: Michał Sawczyk – od Komitetu Chemii Analitycznej PAN i Paulina Mieldzioc od Dziekana Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej.

Kamerę cyfrową otrzymała także, od Prezesa spółki NOWICHEM-ZACH z Chorzowa, najmłodsza laureatka, Anna Fabich, uczennica klasy pierwszej liceum ogólnokształcącego.

Ponadto, reprezentanci na Olimpiadę Międzynarodową otrzymali od Prezesa PTCh krawaty i spinki do krawatów.

Jak zwykle, osiągnięcia laureatów i ich nauczycieli docenił także Komitet Chemii Polskiej Akademii Nauk. Wszyscy laureaci i ich nauczyciele dostaną monografię „Misja nauk chemicznych”, opracowaną pod redakcją prof. dr hab. Bogdana Marcińca. Dodatkowo, Karolina Trocka otrzyma medal Marii Skłodowskiej-Curie, wydany z okazji setnej rocznicy otrzymania przez tę uczoną Nagrody Nobla.

Należy podkreślić, że wszyscy finaliści (tzn. nie tylko laureaci, ale także uczestnicy zawodów III etapu) otrzymali zaświadczenia, wystawiane przez Komitet Główny, są one podstawą do skorzystania z odpowiednich uprawnień przy przyjmowaniu na I rok studiów wyższych oraz zwalniają z notą najwyższą z egzaminu maturalnego.

Wszyscy nauczyciele – opiekunowie laureatów, poza skromnymi nagrodami pieniężnymi otrzymali także książkowe wydanie wspomnień o wychowawczyni wielu olimpijczyków – Pani Profesor Stanisławie Hejwowskiej „Życie jest spotkaniem”. Należy tu przypomnieć, że aż dziewięciu uczniów Pani Profesor reprezentowało Polskę 11 razy na Międzynarodowej Olimpiadzie Chemicznej

Zakończenie jednej Olimpiady to już czas przygotowań do następnej. Kolejna LIX Olimpiada Chemiczna odbędzie się w następujących terminach:

zakończenie etapu wstępnego – 27 października 2012 r.,

I etap – 24 listopada 2012 r.,

II etap – 1 i 2 lutego 2013 r.,

III etap – 22 i 23 marca 2013 r.

Lista sponsorów, którzy przyczynili się do wzbogacenia nagród LVIII Olimpiady Chemicznej:

Komitet Chemii Polskiej Akademii Nauk

Komitet Chemii Analitycznej Polskiej Akademii Nauk

Dyrektor Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk

Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
Dziekan Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej
Dziekan Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej



Prezes NOWICHEM – ZACH Sp. z o.o. w Chorzowie



Wydawnictwa Naukowe PWN Dział Matematyki, Fizyki i Chemii



CIECH SA



Polska Grupa Energetyczna



Zakłady Azotowe Puławy



PKN ORLEN SA



Zakłady Azotowe Kędzierzyn Koźle



Sigma Aldrich

LISTA LAUREATÓW LVIII OLIMPIADY CHEMICZNEJ

Nr	Nazwisko	Imię	Miejscowość	Szkoła	Nauczyciel
1	Trocka	Karolina	Żary	Społeczne LO	mgr inż. Beata Bulska, mgr Michał Tomza
2	Rak	Grzegorz	Warszawa	II LO im. St. Batorego	mgr Krystyna Zapędowska, mgr Przemysław Ziaja
3	Adamczyk	Kamil	Łódź	I LO im. M. Kopernika	dr Justyna Staluszka, dr hab. Robert Zakrzewski, Maciej Sienkiewicz
4	Kleist	Cyprian	Rumia	SŁO im. Św. Jana Bosko	mgr Mariola Klein
5	Rozynek	Kamil	Wrocław	XIV LO im. Polonii Belgijskiej	dr Ludmiła Szterenber
6	Magott	Michał	Opole	III LO im. M. Skłodowskiej-Curie	mgr Krystyna Chudzia, dr Dawid Siodłak
7	Wrzesień	Szymon	Rzeszów	LO im. Jana Pawła II, Sióstr Prezentek	mgr Szymon Szczepankiewicz, mgr Anna Wach
8	Kocik	Witold	Warszawa	XIV LO im. St. Staszica	mgr Liliana Mikos, mgr inż. Agnieszka Kuś
9	Błaszczuk	Paweł	Częstochowa	IX LO im. C.K. Norwida	mgr Urszula Kurek
10	Sawczyk	Michał	Katowice	I LO im. M. Kopernika	mgr Zofia Lenart-Pawłowska, mgr inż. Sebastian Myśliwiec, dr Kajetan Matuszek
11	Misztal	Monika	Grudziądz	I LO im. B. Chrobrego	mgr Grażyna Winnicka
12	Jabłczyńska	Małgorzata	Warszawa	XIV LO im. St. Staszica	mgr inż. Agnieszka Kuś, inż. Łukasz Banach
13	Bystrzycka	Julia	Tarnów	III LO im. A. Mickiewicza	mgr Barbara Chłpała
14	Orłowski	Piotr	Szczecin	II LO im. Mieszka I	mgr Teresa Kologrecka-Bajek
15	Mieldzióć	Paulina	Białystok	I LO im. Adama Mickiewicza	dr Izabela Dobrzyńska
16	Tchoń	Daniel	Warszawa	XIV LO im. St. Staszica	mgr inż. Agnieszka Kuś
17	Lisak	Michał	Wrocław	XIV LO im. Polonii Belgijskiej	dr Ludmiła Szterenber
18	Szustakiewicz	Piotr	Szczecin	II LO im. Mieszka I	mgr Teresa Kologrecka-Bajek
19	Sobczuk	Michał	Szczecin	XIII LO	dr inż. Małgorzata Kępińska- Żerko
20	Wójcik	Artur	Szczecin	XIII LO	dr inż. Małgorzata Kępińska- Żerko
21	Gołaszewski	Tomasz	Szczecin	II LO im. Mieszka I	mgr Teresa Kologrecka-Bajek
22	Pasich	Przemysław	Kraków	V LO im. A. Witkowskiego	dr Wojciech Przybylski
23	Kudłacz	Tomasz	Jasło	I LO im. S. Leszczyńskiego	Mgr Krzysztof Koś, mgr Ewa Wojnarowicz
24	Matysiak	Bartosz	Radom	ZSO nr 6 im. J. Kochanowskiego	dr Stanisław Banaszkiewicz, mgr inż. Jan Siwiec, mgr Agnieszka Banaśkiewicz
25	Fabich	Anna	Szczecin	IX LO im. Bohaterów Monte Cassino	mgr inż. Barbara Zaborowska- Bielawna
26	Skrzeczkowski	Jakub	Toruń	ZS UMK GiLA	mgr Małgorzata Augustynowicz
27	Madej	Piotr	Radom	ZSO nr 6 im. J. Kochanowskiego	mgr Barbara Suchecka, mgr Jan Siwiec, mgr Ewa Serafin, dr Stanisław Banaszkiewicz

Nr	Nazwisko	Imię	Miejscowość	Szkoła	Nauczyciel
28	Marczuk	Jakub	Wrocław	XIV LO im. Polonii Belgijskiej	dr Ludmiła Szterenberk
29	Falkowski	Bogusz	Czarnków	LO im. Janka z Czarnkowa	mgr Teresa Szwedek, mgr Piotr Magdziarz
30	Rykowski	Paweł	Warszawa	V LO im. Ks. J. Poniatowskiego	mgr Krzysztof Kuśmierczyk, dr hab. prof. PW Michał Fedoryński
31	Augustyniak	Krzysztof	Legnica	I LO im. T. Kościuszki	mgr Aleksandra Kruszelnicka
32	Fila	Marcin	Lublin	I LO im. St. Staszica	mgr Małgorzata Kasprzak
33	Antoniak	Damian	Warszawa	V LO im. Ks. J. Poniatowskiego	mgr Krzysztof Kuśmierczyk, prof. PW dr hab. Michał Fedoryński
34	Promiński	Aleksander	Katowice	III LO im. A. Mickiewicza	mgr Monika Gałkiewicz
35	Jarzębska	Anna	Kraków	V LO im. A. Witkowskiego	dr Anna Reizer, dr Wojciech Przybylski
36	Kopyłowska	Natalia	Szczecin	II LO im. Mieszka I	mgr Teresa Kołogrecka-Bajek
37	Wróbel	Piotr	Kraków	V LO im. A. Witkowskiego	dr Wojciech Przybylski
38	Matula	Maria	Oświęcim	I LO im. S. Konarskiego	mgr Lucyna Drabczyk, mgr Zofia Kłys

CZTERY MEDALE POLAKÓW W 44. MIĘDZYNARODOWEJ OLIMPIADZIE CHEMICZNEJ

W dniach 21–30 lipca 2012 r. młodzi miłośnicy chemii z całego świata spotkali się na Uniwersytecie Maryland w Waszyngtonie na 44. Międzynarodowej Olimpiadzie Chemicznej (IChO). Oficjalne zaproszenie do uczestniczących w niej krajów wystosował prof. Ahmed H. Zewail, laureat nagrody Nobla z chemii w 1999 roku. Głównym organizatorem zawodów było Amerykańskie Towarzystwo Chemiczne (ACS), wspierane przez głównego sponsora – Dow Chemical Company. Udział w IChO wzięło 228 zawodników z 72 krajów.

Polskę reprezentowali, wyłonieni w wyniku czterostopniowych zawodów Krajowej 58. Olimpiady Chemicznej, następujący uczniowie:

- **Kamil Adamczyk** z I LO im. Mikołaja Kopernika w Łodzi, uczeń dr J. Staluszki, dr hab. R. Zakrzewskiego i M. Sienkiewicza (srebrnego medalisty 41. IChO)
- **Paweł Błaszczyk** z IX LO im. C.K. Norwida w Częstochowie, uczeń mgr U. Kurek
- **Grzegorz Rak** z II LO im. Stefana Batorego w Warszawie, uczeń mgr K. Zapędowskiej i mgr Przemysława Ziaji
- **Szymon Wrzesień** z LO im. Jana Pawła II Sióstr Prezentek w Rzeszowie, uczeń mgr Sz. Szczepankiewicza i mgr A. Wach.

Zgodnie z regulaminem IChO, nasi reprezentanci zostali dodatkowo przygotowani do zawodów w ramach dwutygodniowego obozu przygotowawczego, prowadzonego przez pracowników naukowych Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszaw-

skiego i Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej. Wyjazd naszej ekipy do USA był możliwy dzięki wsparciu Ministerstwa Edukacji, a także Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Polskiej Grupy Energetycznej.

Zawody obejmowały część doświadczalną (24 lipca) i teoretyczną (26 lipca). Zadania zostały wcześniej przedyskutowane przez Międzynarodowe Jury i przetłumaczone na języki narodowe każdej reprezentacji przez jej opiekunów. Pozostałe dni zawodnicy spędzili na wzajemnym poznawaniu się podczas wielu zorganizowanych dla nich atrakcji, takich jak, m.in: wycieczka do NASA, zwiedzenie kampusu Uniwersytetu Maryland, historycznej części Waszyngtonu, pobyt w Baltimore Aquarium i w parku rozrywki Kings Dominion. Uroczystość wręczenia medali i wyróżnień odbyła się w zabytkowej auli Uniwersytetu Georgetown. Pierwsze miejsce w oficjalnej klasyfikacji indywidualnej zajął Florian Berger z Niemiec. Nasi zawodnicy zdobyli dwa srebrne i dwa brązowe medale:



Od lewej stoją: Paweł Błaszczyk, Grzegorz Rak – medale brązowe,
Kamil Adamczyk i Szymon Wrzesień – medale srebrne.

W nieoficjalnym rankingu drużynowym Polacy zajęli, wraz z Chorwacją, Słowacją i Wielką Brytanią (dwa medale srebrne i dwa brązowe), 26–29 miejsce wśród siedemdziesięciu dwóch państw. Najlepsza w tej klasyfikacji okazała się Korea Południowa, zdobywając cztery złote medale, za którą uplasowały się, z trzema złotymi i jednym srebrnym medalem: Rosja, Tajwan, Indie, następnie z dwoma złotymi i dwoma srebrnymi medalami: Chiny i Singapur. Gospodarze zdobyli jeden złoty medal i trzy srebrne. Zawodnicy dziesięciu państw nie zdobyli medali. W interpretacji tych wyników należy zwrócić uwagę na ogromną i narastającą, wobec rosnącej liczby uczestniczących państw, konkurencję między zawodnikami, którzy muszą reprezentować wiedzę i umiejętności znacznie przekraczające program chemii w typowym liceum. O tym, jak trudno zdobyć złoty medal, świadczy też to, że różnice punktowe między „kolorami” medali nie przekraczają 0,5%.

Na wyniki naszych zawodników warto spojrzeć w dłuższej perspektywie czasowej. Od czasu wstąpienia przez Polskę do Unii Europejskiej polscy uczniowie zdobyli 11 medali złotych, 10 srebrnych i 11 brązowych, dzięki czemu zajmują pierwsze miejsce wśród państw Unii Europejskiej, drugie w Europie i piąte na świecie. Pierwsze miejsce w światowym rankingu zajmują Koreańczycy (26 medali złotych, 4 srebrne), drugie – Chińczycy (25 złotych i 3 srebrne), trzecie – Rosjanie (21 złotych, 9 srebrnych i 2 brązowe, a czwarte – Tajwańczycy (19 złotych, 11 srebrnych i 2 brązowe).

Jak będzie w 2013 roku? To oczywiście wielka niewiadoma – jak wykazuje analiza wyników IChO z ostatnich lat, trudno o wytypowanie zdecydowanych faworytów, choć można oczekiwać, że Korea Płd., Tajwan, Rosja czy Chiny utrzymają wysoką pozycję. W przyszłym roku 45. IChO odbędzie się w Moskwie. Będą to już piąte zawody organizowane przez Rosjan. W poprzednich, organizowanych w 2007 roku, nasi zawodnicy zdobyli cztery złote medale.

*Komitet Główny Olimpiady Chemicznej
Warszawa*

MEDALE ZDOBYTE W 44. MIĘDZYNARODOWEJ OLIMPIADZIE CHEMICZNEJ 2012 ROK

	Kraj	złote	srebrne	brązowe	Miejsca zawod.
1	Korea	4			2; 13; 28; 33
2	Rosja	3	1		5; 7; 10; 69
	Indie	3	1		8; 9; 27; 90
4	Tajwan	3	1		3; 4; 11; 42
5	Chiny	2	2		6; 30; 45; 46
6	Singapur	2	2		14; 22; 38; 50
7	Stany Zjednoczone	1	3		16; 64; 70; 81
8	Niemcy	1	2	1	1; 40; 73; 100
	Białoruś	1	2	1	15; 61; 75; 109
	Ukraina	1	2	1	23; 43; 49; 108
	Kazachstan	1	2	1	19; 53; 71; 169
	Czechy	1	2	1	29; 89; 93; 121
	Wietnam	1	2	1	32; 58; 86; 110
14	Rumunia	1	2	1	34; 52; 92; 112
15	Japonia	1	2		25; 37; 66
16	Litwa	1	1	2	26; 67; 113; 125
17	Austria	1	1	1	18; 51; 119
18	Turcja	1	1	1	31; 68; 166
19	Tajlandia	1	1		17; 55
20	Iran	1		3	20; 116; 138; 143
21	Tadżykistan	1		2	12; 152; 155

22	Turkmenistan	1		1	24; 118
23	Indonezja		4		35; 41; 76; 91
24	Węgry		4		36; 54; 57; 59
25	Argentyna		3	1	72; 74; 79; 107
26	Chorwacja		2	2	48; 84; 137; 178
	Polska		2	2	56; 62; 96; 126
	Słowacja		2	2	63; 78; 103; 135
29	Wielka Brytania		2	2	82; 83; 104; 168
30	Izrael		1	3	39; 122; 141; 161
	Australia		1	3	77; 94; 129; 151
	Nowa Zelandia		1	3	88; 105; 136; 159
	Kanada		1	3	60; 95; 124; 177
	Brazylia		1	3	65; 102; 130; 160
34	Brazylia		1	3	65; 102; 130; 160
35	Holandia		1	2	44; 139; 170
	Łotwa		1	2	47; 97; 167
37	Bułgaria		1	2	85; 144; 157
38	Słowenia		1	1	80; 123
39	Norwegia		1		87
40	Dania			4	101; 145; 158; 175
	Włochy			4	131; 139; 142; 146
	Francja			4	132; 133; 134; 149
43	Armenia			4	98; 117; 153; 162
44	Estonia			3	120; 127; 163
45	Szwecja			2	99; 99
	Szwajcaria			2	114; 171
47	Mołdawia			2	11
48	Malezja			1	155
	Estonia			1	106
	Finlandia			1	147
	Irlandia			1	148
	Belgia			1	173
	Hiszpania			1	180
	Tajlandia			1	128
	Azerbejdżan			1	164
	Kirgistan			1	165
	Pakistan			1	172
	Serbia			1	176
	Mongolia			1	179
	Meksyk			1	101
	Wenezuela			1	150
62	Peru			1	174

Ameryka	Azja	Europa	Australia i Oceania
---------	------	--------	---------------------

MEDALE ZDOBYTE PRZEZ ZAWODNIKÓW POSZCZEGÓLNYCH PAŃSTW W LATACH 2005–2012

	Kraj	Złote	Srebrne	Brązowe	Suma
1	Korea	26	4	2	32
2	Chiny	25	3	0	28
3	Rosja	21	9	2	32
4	Tajwan	19	11	2	32
5	Polska	11	10	11	32
6	Wietnam	10	14	7	31
7	Tajlandia	8	19	3	30
8	Węgry	8	17	7	32
9	Niemcy	8	17	7	32
10	Singapur	8	14	10	32
11	Indie	7	18	7	32
12	Ukraina	7	14	11	32
13	Japonia	7	9	15	31
14	Czechy	6	12	12	30
15	Litwa	6	8	17	31
16	Iran	5	15	9	29
17	Rumunia	5	13	11	32
18	Azerbejdżan	5	5	8	18
19	Austria	5	1	15	21
20	USA	4	22	7	32
21	Białoruś	4	14	14	32
22	Turcja	4	13	12	29
23	Słowacja	3	16	10	29
24	Australia	3	13	16	32
25	Argentyna	3	10	15	28
26	Kanada	3	8	16	27
27	Wielka Bryt.	2	15	15	32
28	Indonezja	2	12	16	30
29	Francja	2	8	15	25

Kolorami tła wyróżniono kontynenty, a granatową czcionką kraje Unii Europejskiej.

Ameryka	Azja	Europa	Australia i Oceania
---------	------	--------	---------------------

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Od substacji prostych do życia. Świat RNA – początki życia na Ziemi, Zdzisław Chilmonczyk – NAKŁAD WYCZERpany.

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

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

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

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

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

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

REGULAMIN DLA AUTORÓW

„Wiadomości Chemiczne” publikują artykuły przeglądowe, dotyczące wszystkich dziedzin chemii i wcześniej niedrukowane w innych czasopismach. Prace raz opublikowane w „Wiadomościach Chemicznych”, bez zgody Redakcji, nie mogą być wydane gdzie indziej. Treść artykułów powinna odpowiadać aktualnemu stanowi wiedzy i uwzględniać najnowsze osiągnięcia z dziedziny, której artykuł dotyczy.

Ponadto w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” publikowane są prace, będące z założenia dłuższymi artykułami przeglądowymi lub monografiami poświęconymi ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii. Autorzy, którzy chcieliby taki artykuł napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją.

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

Prace należy przysyłać do Redakcji pocztą elektroniczną na adres: bstran@wchuwr.pl lub wchem@wchuwr.pl.

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

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

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

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

Rysunki mogą być kolorowe, ale wówczas należy liczyć się z dopłatą do druku. Muszą mieć odpowiednią formę graficzną, by w razie potrzeby nadawały się do reprodukcji. W osobnym pliku prosimy dołączyć podpisy pod rysunki w języku polskim i angielskim. Rysunki czarno-białe należy zapisać w formacie .doc, .cdr, .jpg, .tif, .pdf, natomiast rysunki kolorowe – w formacie .jpg lub .tif. Rozdzielczość rysunków ≥ 300 dpi. Każdy z rysunków należy zapisać w oddzielnym pliku.

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

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

O **przyjęciu** pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny. Przed podjęciem decyzji wszystkie prace są recenzowane przez dwóch niezależnych recenzentów, zgodnie ze wskazówkami zawartymi w broszurze informacyjnej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user_upload/ministerstwo/Publikacje/20110216_MNISW_broszura_210x210.pdf), oraz z uwzględnieniem instrukcji zamieszczonych na portalu Polska Bibliografia Naukowa (<https://pbn.nauka.gov.pl>)

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