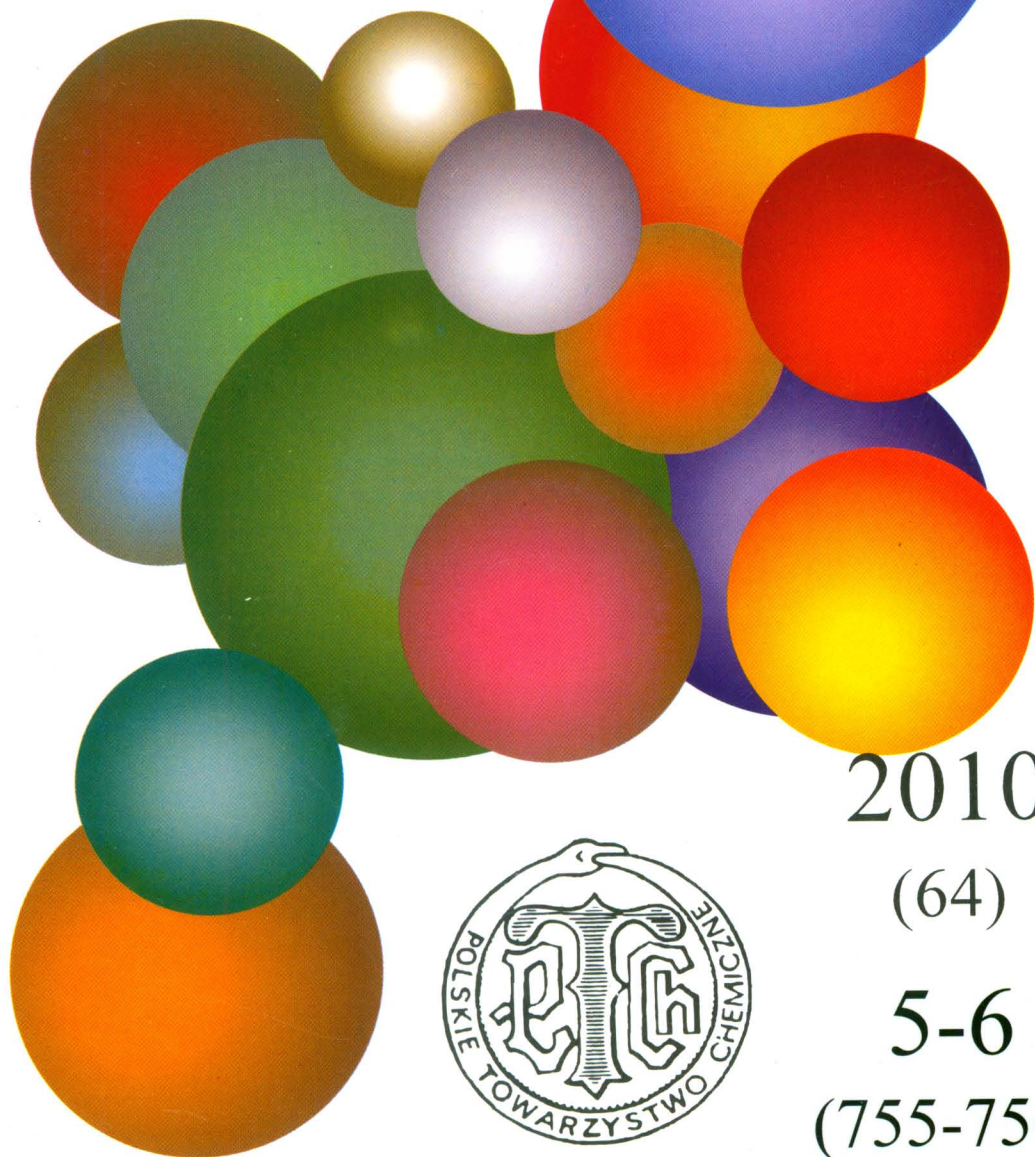


# WIADOMOSCI *chemiczne*



2010

(64)

5-6

(755-756)

## WSPOMNIENIE O PROFESORZE ANDRZEJU SADLEJU



W dniu 24 marca 2010 roku zmarł prof. dr hab. Andrzej Sadlej, człowiek skromny, o dużej kulturze osobistej, pogodny, odważny, na którego zawsze można było liczyć. Służył ludziom radą i pomocą. W wypełnianiu obowiązków cechowała Go pasja. Nie szedł na łatwe kompromisy.

Był absolwentem Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Pracę doktorską i rozprawę habilitacyjną obronił na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Zawsze podkreślał, jak wielki wpływ na Jego działalność naukową miał krakowski ośrodek, którego „ojcem” był profesor Kazimierz Gumiński. Od roku 1981, blisko 15 lat wykładał w Szwecji, by po tym czasie powrócić do Polski i objąć kierownictwo Zakładu Chemii Kwantowej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Współpracował z ośrodkami naukowymi USA, Wielkiej Brytanii, Francji, Niemiec, Kanady, Hiszpanii, Holandii, Grecji, Danii, Słowacji i krajów byłej Jugosławii.

Profesor Andrzej Sadlej pozostawił niesłychanie duży i znaczący dorobek naukowo-badawczy, charakteryzujący się oryginalnością i pomysłowością. Był jednym z najczęściej cytowanych na świecie polskich chemików. Przez szereg lat działalności naukowo-badawczej i dydaktycznej interesował się wieloma dziedzinami chemii kwantowej. Najważniejsze z nich to: spektroskopia związków organicznych, sprzężenie wibronowe, właściwości magnetyczne i elektryczne, korelacja elektronowa, teoria jądrowego rezonansu magnetycznego, jawnie skorelowane funkcje gaussowskie, oddziaływania międzycząsteczkowe oraz efekty relatywistyczne. W dziedzinach tych dokonał bardzo wiele. Badaniami tymi zdobył sobie na świecie uznanie i sławę. Zasługi profesora Sadleja w rozwoju chemii kwantowej nie ograniczają się wyłącznie do publikowanych prac, które sam stworzył, ale do inspirowania innych osób, w jak najszerszym tego słowa znaczeniu.

Profesor Andrzej Sadlej był urodzonym dydaktykiem, lubianym przez studentów i młodych pracowników nauki, którzy chętnie z nim się spotykali i prowadzili ożywione, niekończące się dyskusje.

Odszedł od nas jeden z najwybitniejszych chemików naszych czasów, wybitny uczony, wyznaczający najwyższe, światowe standardy w nauce i uniwersyteckim przekazywaniu wiedzy, człowiek prawy, o rzadko spotykanej charyzmie. Będzie nam Go brakowało.

*Zbigniew Paszek*



**KOMPLEKSY RUTENU  
W TERAPII ANTYNOWOTWOROWEJ**  
RUTHENIUM COMPLEXES IN CANCER THERAPY

**Monika Richert<sup>1</sup>, Elżbieta Budzisz<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup> Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej,  
Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu  
ul. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz  
e-mail: monika.richert@cm.umk.pl*

*<sup>2</sup> Zakład Chemii Surowców Kosmetycznych,  
Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Właściwości rutenu a jego zastosowania terapeutyczne
2. Aktywność przeciwnowotworowa związków rutenu i mechanizmy ich działania
  - 2.1. Mechanizm uszkodzania DNA
  - 2.2. Radioterapia
  - 2.3. Terapia fotodynamiczna (PDT)
  - 2.4. Antynowotworowy mechanizm działania z udziałem mitochondriów
  - 2.5. Aktywność przeciwnowotworowa pochodnych rutenu wobec guzów wtórnych
  - 2.6. Inne mechanizmy odpowiedzialne za przeciwnowotworowe działanie kompleksów rutenu

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

---



**Dr n. chem. Monika Richert** jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Studia doktoranckie rozpoczęła w 2001 roku w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej w zespole prof. dr hab. Antoniego Grodziskiego. Od 2005 pracowała na stanowisku asystenta. W 2006 obroniła pracę doktorską, której tematem było: „Synteza i charakterystyka wielordzeniowych kompleksów Ti(IV) oraz ich zastosowanie w metodach chemicznego osadzania z fazy gazowej”. Od 2008 roku pracowała jako asystent w Katedrze Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydziału Farmaceutycznego, Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy. Obecnie od października 2009 roku jest zatrudniona na stanowisku adiunkta. Zajmuje się syntezą kompleksów rutenu(II/III) i złota(III), ich charakterystyką spektroskopową i strukturalną oraz badaniem ich aktywności przeciwnowotworowej.

**Dr hab. n. farm. Elżbieta Budzisz** studiowała na Wydziale Mat.-Fiz.-Chem. Uniwersytetu Łódzkiego. Po skończeniu studiów podjęła pracę w Instytucie Podstawowych Nauk Chemicznych na Wydziale Farmaceutycznym w Łodzi w zespole prof. dr hab. Krzysztofa Kostki. W 1991 roku obroniła pracę doktorską, a w 2004 roku uzyskała stopień naukowy doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych. Od 1 października 2005 roku jest kierownikiem Zakładu Chemii Surowców Kosmetycznych Katedry Kosmetologii na Wydziale Farmaceutycznym w Łodzi oraz kierownikiem Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy. Jest współautorką kilkunastu prac dotyczących syntezy i aktywności przeciwnowotworowej pochodnych chromonu, flawonu i kumaryny oraz ich kompleksów z wybranymi metalami. Obecnie zajmuje się syntezą kompleksów metali z pochodnymi chromonu o aktywności przeciwutleniającej.

## ABSTRACT

Chemotherapy is a major cancer treatment besides surgery and radiotherapy. One of the most popular chemotherapeutic drugs that are currently in use are platinum compounds. Despite the success of cisplatin and other platinum-based anticancer compounds in cancer therapy [1, 2] there is still a need for new improved drugs with lower toxicity against healthy cells, better activity against tumor, less side effects, and without problems with drug resistance in primary and metastatic cancers [3, 4].

One of the most promising metals in the cancer treatment is ruthenium [6, 21, 22]. Ruthenium complexes appear generally less toxic than platinum-based complexes and show activity in cisplatin-resistant cells or in cells where cisplatin is inactive. In spite of development of promising ruthenium(II) compounds, in particular organometallics [50, 51], only ruthenium(III) complexes like  $(\text{H}_2\text{Im})[\text{trans-Ru}(\text{DMSO})\text{Cl}_4(\text{HIm})]$ , (NAMI-A) [62] (Ryc. 7a) and  $(\text{HInd})[\text{Ru}(\text{III})\text{Cl}_4(\text{Ind})_2]$ , (KP1019) [23] (Ryc. 7b) gain the phase II of clinical trials.

The complex NAMI-A showed marked efficacy against metastases whereas KP1019 was highly active against a colorectal tumor cells both *in vivo* and *in vitro*. Moreover the second compound is completely devoid of side effects and drug induced lethality at therapeutically relevant doses. Its therapeutic index is better than that of  $(\text{HIm})[\text{Ru}(\text{III})\text{Cl}_4(\text{Im})_2]$ . The complex  $(\text{HInd})[\text{Ru}(\text{III})\text{Cl}_4(\text{Ind})_2]$  has been shown to be efficiently taken up into the cells probably *via* interaction with transferrin. It induces apoptosis, but the cellular mechanisms of the apoptosis induction are still largely unknown [30].

Non-cross-resistance in cisplatin-resistant cancer cells and reduced toxicity, which is in part due to the ability of ruthenium complexes to mimic the binding of iron to molecules of biological significance, exploiting the mechanisms that the body has evolved for non-toxic transport of iron, is a particularly attractive feature of ruthenium complexes [16]. In addition, some chemical properties, such as rate of ligand exchange, range of accessible oxidation states, and ability of ruthenium to mimic iron in binding to certain biological molecules make these compounds well suited for medicinal applications as an alternative to platinum antitumor drugs in the treatment of cancer cells resistant to cisplatin and its analogues justifying further development of this novel and interesting group of metal complexes [30].

Keywords: ruthenium(III/II), cancer therapy

Słowa kluczowe: kompleksy rutenu(III/II), terapia antynowotworowa

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A	– adenina
Apaf 1	– proapoptyczne, cytozolowe białko adaptorowe, niezbędne do aktywacji kaspazy 9 w procesie apoptozy (ang. <i>apoptotic protease activating factor-1</i> )
ATP	– adenylotrifosforan
Bax	– białko antyapoptyczne
bpy	– bipyrydył
C	– cytozyna
CD95	– receptor śmierci należący do nadrodziny receptorów TNF aktywujących zewnętrzny szlak apoptozy
cdta	– 1,2-cycloheksanodiaminotetraoctan
C5-C6	– atomy węgla cząsteczki organicznej, przy udziale których tworzy się wiązanie z metalem
DMSO	– dimetylosulfotlenek, Me <sub>2</sub> SO
DNA	– kwas deoksyrybonukleinowy
dpb	– 2,3-bis(2-pirydylo) benzochinoksalina
edta	– etylenodiaminotetraoctan
Et	– etyl
Fas/FasL	– układ receptorów – białek, tzw. receptorów śmierci zdolnych do uruchamiania wewnątrzkomórkowego szlaku apoptozy
G, (Gua) (G <sup>K7</sup> -G <sup>K7</sup> )	– guanina – przyległe guaniny w nici DNA, tworzące wewnętrzniociowe wiązania krzyżowe ze związkiem danego metalu za pomocą atomów o podanych numerach
G2/M	– premitotyczna faza cyklu komórkowego
Hedta	– kwas hydroksyetylenotriaminodioctowy
HIm	– imidazol
HInd	– indazol
<sup>i</sup> Pr	– izopropyl
KP1019	– (HInd)[Ru(III)Cl <sub>4</sub> (Ind) <sub>2</sub> ]
MDM2, MDM4	– negatywne regulatory p53; ligazy ubikwitynowe odpowiedzialne za degradację p53 w proteasomie
Me	– metyl
MMP	– metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. <i>matrix metalloproteinases</i> )
mRNA	– matrycowy (lub informacyjny) RNA (ang. <i>messenger RNA</i> )
NAMI-A	– (H <sub>2</sub> Im)[ <i>trans</i> -Ru(DMSO)Cl <sub>4</sub> (HIm)]
NAMI	– Na[ <i>trans</i> -(Me <sub>2</sub> SO)(Im)Cl <sub>4</sub> Ru]
<i>p</i> -cymen	– <i>p</i> -metylo-izopropylbenzen
pdta	– 1,2-propylenodiaminotetraoctan

---

Pim-1	– kinaza białkowa
PTA	– 1,3,5-triaza-7-fosfoadamantan
py	– pirydyna
p53	– białko działające jako nadrzędny regulator programu apoptotycznego. Odpowiedzialny za ekspresję białek proapoptotycznych związanych z drogą mitochondrialną, np. Bax, Bak, oraz związanych z drogą od receptorów śmierci, tj. CD95
RAPTA	– kompleksy rutenu(II) o wzorze ogólnym $[\text{Ru}(\text{areny})\text{Cl}_2\text{PTA}]$
RM175	– $[(\eta^6\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_5)\text{RuCl}(\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{-N,N}')]\text{PF}_6^-$
RNA	– kwasy rybonukleinowe
TIMP-2	– tkankowy inhibitor metaloproteaz (ang. <i>tissue inhibitor metalloproteinases</i> )
TNF	– czynnik martwicy nowotworów (ang. <i>tumour-necrosis factor</i> )
TNFR	– receptor TNF (ang. <i>tumour-necrosis factor receptor</i> )
TPP	– 5,10,15,20-tetra(4-pirydylo)porfiryna

## WSTĘP

Chemioterapia obok chirurgii i radioterapii jest wciąż ważną metodą leczenia nowotworów, oraz nierzadko stanowi terapię uzupełniającą po zabiegach chirurgicznych. Przez wiele lat jednym z najważniejszych chemioterapeutyków była cisplatyna [1, 2] oraz jej analogi [3, 4]. Z uwagi na poważne skutki uboczne wywołane jej stosowaniem w wielu ośrodkach rozpoczęto intensywne badania nad poszukiwaniem nowych związków o lepszej selektywności działania, mniejszej ilości skutków ubocznych oraz braku oporności wobec pierwotnych i wtórnych guzów. Spośród licznie otrzymywanych związków o potencjalnych właściwościach leków przeciwnowotworowych tylko niewielka ich ilość daje pożądane efekty w testach klinicznych. Dlatego też w ostatnich latach rozpoczęły się intensywne badania nad poszukiwaniem nowych związków kompleksowych zawierających jony Pt(IV) [5] oraz takich metali jak rutenu [6], galu [7], kobaltu [8], tytanu [9], złota [10], czy żelaza [11]. Celem tych badań stało się otrzymanie połączeń charakteryzujących się mniejszymi skutkami ubocznego działania, lepszym profilem farmakologicznym oraz wyższą skutecznością terapeutyczną.

Poszukiwanie nowych leków wymaga dogłębnego zrozumienia mechanizmu ich działania na poziomie zarówno komórkowym jak i molekularnym. Stworzyło to potrzebę wyteżonej pracy i nakładu wielu środków finansowych [12], na działania nad jednym z wiodących kierunków badań, jakim jest poznanie procesów związanych z programowaną śmiercią komórkową (apoptozą), która wraz z zahamowaniem proliferacji tkanki nowotworowej jest miarą skuteczności terapii antynowotworowej [13].

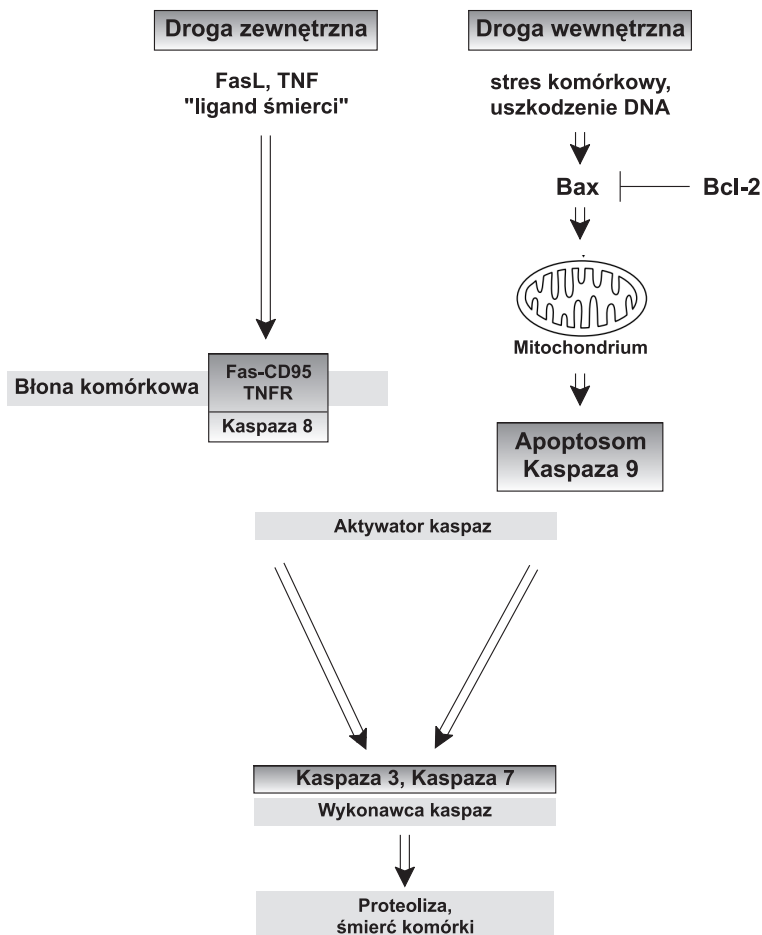
Antynowotworowe właściwości metalofarmaceutyków, stosowanych zarówno w terapii jak i będących w fazie badań klinicznych, w większości, związane są z mechanizmem uszkadzającym DNA komórki nowotworowej. Mechanizm ten w konsekwencji prowadzi do jej śmierci (leki cytotoksyczne i genotoksyczne) co spowodowało, że podstawową tematyką wielu ośrodków badawczych są interakcje w układzie DNA–lek oraz efekt przeciwnowotworowy związków o niskiej masie cząsteczkowej.

Wśród chemioterapeutyków, oprócz leków alkilujących oraz analogów platyny, na uwagę zasługują antymetabolity tj. związki, które blokują drogę metaboliczną danego procesu poprzez konkurencyjne wiązanie z miejscem aktywnym określonego enzymu, inhibitory mitozy, analogi nukleotydów oraz inhibitory topoizomeraz. Większość z nich wywołuje stres komórkowy prowadzący do śmierci komórki. Jednakże w procesie karcynogenezy może nastąpić nadekspresja czynników hamujących apoptozę lub/i zmniejszenie czy też brak ekspresji czynników aktywujących apoptozę [14].

Proces apoptozy przebiega dwoma drogami: zewnętrzną i wewnętrzną. Pierwsza związana jest z błonowymi „receptorami śmierci”, a druga – z udziałem mitochondriów (Rys.1). W niektórych przypadkach może nastąpić nałożenie się tych dwóch dróg, co skutkuje wzmocnieniem sygnału proapoptycznego. Zewnętrzny szlak



wykorzystuje do aktywacji „receptorów śmierci” zewnątrzkomórkowe „ligandy śmierci”, np.: Fas ligand, receptor nekrozy nowotworu (ang. *tumor necrosis factor*, TNF). Te z kolei tworząc kompleks (Fas-CD95, TNFR) łączą się z kaspazą 8 aktywując kaspazy 3 i 7.



Rysunek 1. Zewnętrzny i wewnętrzny szlak apoptozy [15]

Figure 1. Extrinsic and intrinsic apoptosis pathway [15]

Szlak wewnętrzny związany jest bezpośrednio z udziałem mitochondriów. W tym przypadku sygnałem do apoptozy jest bodziec wewnątrzkomórkowy wywołany stresem komórkowym np.: na skutek uszkodzenia DNA, nieprawidłowej sygnalizacji międzykomórkowej, co w konsekwencji prowadzi do uruchomienia proapoptycznego białka Bax, biorącego udział w tworzeniu kanałów jonowych, przez które uwalniany jest cytochrom c. Dodatkowo proces ten jest kontrolowany przez białka antyapoptyczne jak Bcl-2. Pojawienie się cytochromu c jest sygnałem do tworzenia

kompleksu zwanego apoptosomem, który oprócz cytochromu c składa się, z kaspazy 9, ATP oraz cytozolowego białka Apaf 1. Dalej następuje aktywacja kaspazy 9, która jest bezpośrednim aktywatorem kaspazy 3 i 7. Tym samym uruchamiana jest zewnętrzna droga apoptozy prowadząca do proteolizy i śmierci komórki [15].

Działanie przeciwnowotworowe danego leku zależy od jego zdolności doprowadzenia do apoptozy w komórkach nowotworowych. Apoptoza, jak przedstawiono powyżej, jest złożonym procesem, w którym komórka „popelnia samobójstwo” w kontrolowany sposób tzn. nie szkodzi ani nie pozostawia po sobie żadnych pozostałości szkodliwych dla otaczających komórek. Ponadto śmierć komórki może przebiegać również na drodze nekrozy, która jest procesem niekontrolowanym i może prowadzić do stanu zapalnego i uszkodzenia sąsiadujących komórek [16].

Kamieniem milowym w chemioterapii stała się cisplatyna (*cis*-diamminodichloroplatyna(II),  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ ), odkryta w 1969 roku przez Rosenberga i współpracowników podczas badań nad skutkami działania prądu elektrycznego na wzrost bakterii [17, 18]. Pomimo antynowotworowych właściwości cisplatyny w leczeniu nowotworów jajników, pęcherza moczowego, głowy i szyi, charakteryzowała się ona wysoką nefro- i neurotoksycznością. Podjęte badania nad związkami tego metalu zaowocowały otrzymaniem:

- *cis*-diammino-(1,1-cyclobutylo-dikarboksylano)platyny(II), zatwierdzonej w roku 1992 jako lek o nazwie karboplatyna o aktywności antynowotworowej podobnej do cisplatyny, ale o mniejszej toksyczności i lepszych właściwościach terapeutycznych,
- szczawiano-(*trans*-1,1,2-cykloheksanodiamino)-platyny(II) o nazwie oksaliplatyna, zatwierdzonej, na świecie, do użytku klinicznego w roku 2003, która okazała się skuteczna w leczeniu guzów jelita opornych na działanie cisplatyny [3, 19].

Intensywne prace nad kompleksami platyny przyczyniły się do dużego postępu w dziedzinie badań nad interakcją między kompleksem metalu a biocząsteczką. Dzisiaj, przeszło czterdzieści lat po odkryciu właściwości cisplatyny, nie ma innego metalu, lepiej poznanego pod względem jego reaktywności do DNA niż platyna [20]. W poszukiwaniach nieplatynowych kompleksów metali o potencjalnych właściwościach antynowotworowych skupiono uwagę na otrzymaniu metalofarmaceutyków o mniejszej toksyczności i większej specyficzności niż platyna [12]. Jednym z ciekawszych nieplatynowych połączeń, zasługujących na szczególną uwagę są kompleksy rutenu(II/III) [6, 21, 22] które oferują nowe perspektywy w leczeniu nowotworów a szczególnie w leczeniu przerzutów [20].

## 1. WŁAŚCIWOŚCI RUTENU A JEGO ZASTOSOWANIA TERAPEUTYCZNE

Zainteresowanie badawcze kompleksami rutenu jako potencjalnych leków z możliwością ich terapeutycznych zastosowań, wynika głównie z ich trzech właściwości, jak:

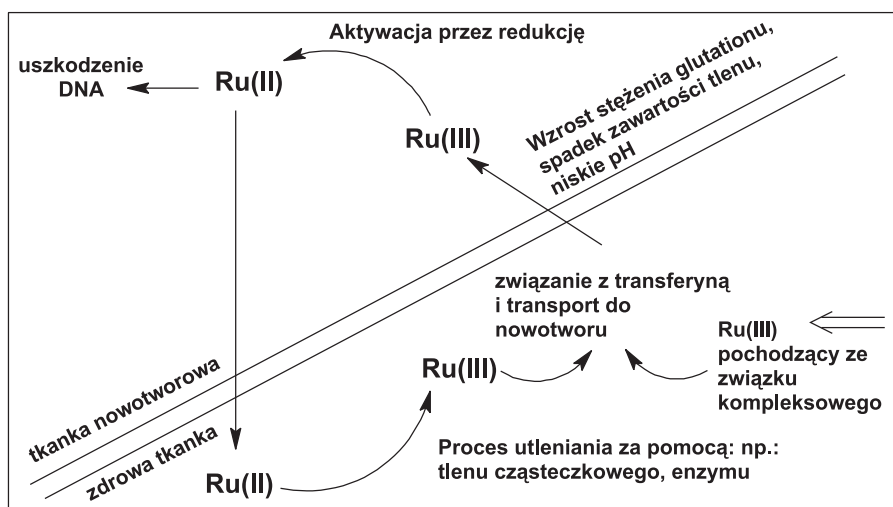
- a) szybkość wymiany ligandów porównywalna do związków platyny(II) oraz możliwość kontrolowania tej prędkości poprzez koordynacje ligandów o odpowiednio dobranych właściwościach;
- b) szeroki zakres dostępnych stopni utleniania (+2, +3 i +4) w warunkach fizjologicznych oraz możliwość sterowania potencjałem redoks i szybkością przeniesienia elektronu poprzez dobór odpowiednich ligandów;
- c) zdolność jonu rutenu do naśladowania żelaza w sposobie wiązania niektórych molekuł biologicznych takich jak ludzka transferyna.

Zasadniczą różnicą pomiędzy związkami rutenu i platyny jest oktaedryczna sfera koordynacyjna jonu rutenu w przeciwieństwie do kwadratowej płaskiej geometrii związków platyny(II). Ta różnica w budowie sugeruje możliwość innego mechanizmu reaktywności, co z kolei daje perspektywę nowych możliwości w terapii antynowotworowej [16, 23, 24].

Większość interakcji leku zachodzi z makromolekułami takimi jak białka, małe *S*-donorowe związki lub/i woda. Proces ten w niektórych przypadkach jest niezbędny do wywołania pożądaných właściwości leczniczych kompleksów metali. Ważnym czynnikiem decydującym o aktywności biologicznej większości leków jest wymiana ligandów. Szybkość tej reakcji zależy od ich stężenia w otaczającym środowisku, które może być zmieniane przez chore komórki lub tkanki, co bezpośrednio wpływa na działanie leku.

Rozpatrując dostępne stopnie utlenienia jonu rutenu, można zaliczyć go do wyjątkowych spośród grupy platynowców. Wiąże się to z faktem możliwości występowania jonów Ru(II), Ru(III) i Ru(IV) w warunkach fizjologicznych. Centrum metaliczne dla powyższych stopni utlenienia w większości przypadków jest sześciokoordynacyjne przyjmując zazwyczaj geometrię oktaedryczną. Ponadto kompleksy Ru(III) wydają się być bardziej obojętne biologicznie niż Ru(II) i (IV). Potencjał redoks kompleksów może być zmieniany przez dobór odpowiednich ligandów. Obecny w układach biologicznych glutation i kwas askorbinowy uczestniczą w procesie przeniesienia elektronu z białka do jonu metalu. W procesie tym może nastąpić redukcja Ru(III) i Ru(IV). Natomiast tlen cząsteczkowy i oksydaza cytochromu zdolne są z kolei łatwo utleniać Ru(II) do wyższych stopni utlenienia. Potencjał redoks związków rutenu można wykorzystać w celu poprawy skuteczności działania terapeutycznego leków. Przykładowo, lek może być podawany jako stosunkowo obojętny związek Ru(III), który jest aktywowany przez redukcję w chorych tkankach. W wielu przypadkach zmiany metabolizmu w chorych tkankach związane są ze zmniejszeniem w ich obszarze stężenia tlenu w odniesieniu do zdrowych tkanek, co sprzyja tworzeniu się środowisk redukcyjnych. Komórki nowotworowe podwyższają

poziom glutationu i obniżają pH w obszarze występowania, tym samym tworzą silne redukcyjne środowisko. Jeśli kompleks aktywny Ru(II) opuszcza środowisko z deficytem tlenu, to może zostać utleniony z powrotem do Ru(III) poprzez różne biologiczne utleniacze (Rys. 2). Redukcja Ru(III) do Ru(II) następuje podczas procesu przeniesienia elektronu, katalizowanego przez mitochondrialne i mikrosomalne białka. Białka mitochondrialne pełnią szczególnie ważną rolę w procesie programowalnej śmierci komórki na drodze apoptozy, która może zaczynać się w mitochondriach, jak i również zachodzić na innych drogach z udziałem układów receptor–białko, np.: Fas/FasL. Elektron transportowany poprzez błony może redukować kompleks Ru(III) na zewnątrz komórek, co jest bardzo istotne dla mechanizmu działania leku rutenowego [12, 25].

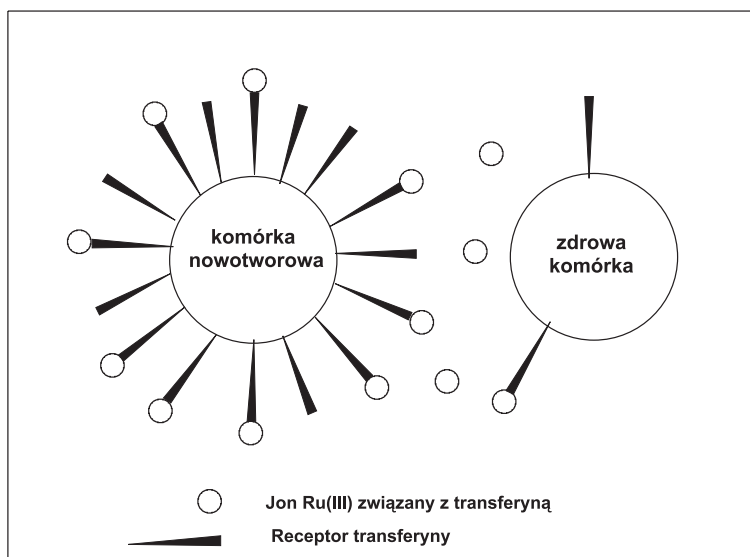


Rysunek 2. Prawdopodobny mechanizm antynowotworowego działania Ru(III) na drodze aktywacji przez redukcję do Ru(II) [16]

Figure 2. The probable anticancer mechanism of Ru(III) action for activation pathway by the reduction to Ru(II) [16]

Niska toksyczność pochodnych rutenu wynika ze zdolności jonu rutenu(III) do naśladowania jonów żelaza, które wiąże się z wieloma biomolekułami, w tym z transferyną i albuminą w surowicy krwi. Obydwa te białka są wykorzystywane przez ssaki do rozpuszczania i transportu żelaza, zmniejszając jego toksyczność [16]. Transferyna zawierająca żelazo łączy się z receptorem transferyny i na drodze endocytozy kompleks ten zostaje wchłonięty do wnętrza komórki, gdzie dochodzi do uwolnienia żelaza, po czym kompleks wraca na błonę komórkową a apotransferyna (czyli transferyna niewysyciona żelazem) do krwiobiegu [26]. Szybko dzielące się komórki nowotworowe, charakteryzują się większym zapotrzebowaniem na żelazo. Jony Ru(III), dzięki podobieństwu do jonów żelaza wykazują zdolność do wiązania się z transferyną. Komórki nowotworowe o podwyższonym zapotrzebowaniu

na jony żelaza posiadają na powierzchni więcej receptorów dla transferyny w porównaniu do komórek prawidłowych. Konsekwencją tego faktu jest wchłanianie przez komórki nowotworowe większej ilości związków rutenu w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Zostało to udowodnione w badaniach *in vivo*, które wykazały od 2 do 12 razy większe stężenie znakowanego izotopem związku rutenu wewnątrz komórek nowotworowych (w zależności od ich rodzaju) w porównaniu z komórkami zdrowymi. Tym samym wskazuje to na mniejszą toksyczność wobec komórek zdrowych, co świadczy o selektywności działania związków rutenu(III) w układach biologicznych (Rys. 3).

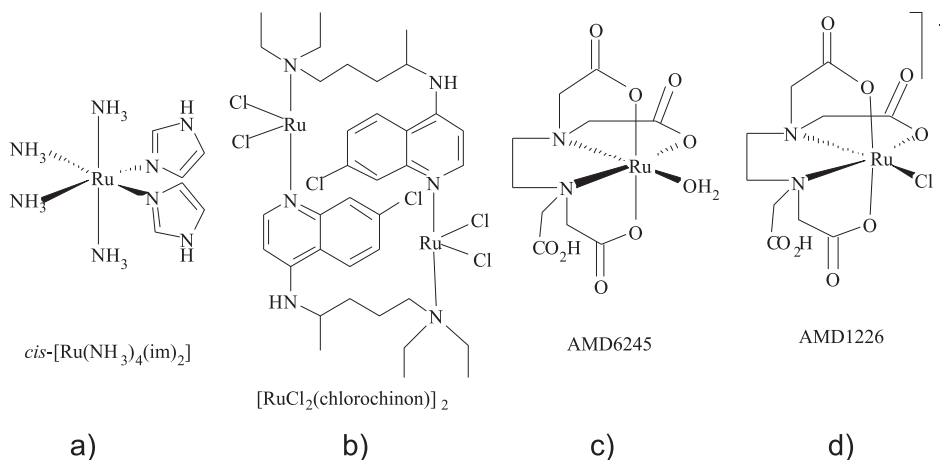


Rysunek 3. Schemat antynowotworowego działania Ru(III) opartego na selektywnej absorpcji układu metal-transferyna przez komórki nowotworowe [16]

Figure 3. The anticancer mechanism diagram of for Ru(III) based on the selective absorption of the metal-transferrin system by cancer cells [16]

Aktywność biologiczna każdego związku jest funkcją stopnia utlenienia centrum metalicznego oraz charakteru skoordynowanych ligandów. O specyficznych cechach danego leku decyduje nie tylko sposób interakcji z celem, ale również, jakim biologicznym transformacjom one ulegają na drodze swego działania. Poprzez umiejętne sterowanie tymi cechami można osiągnąć z jednej strony maksimum aktywności biologicznej leku a z drugiej zminimalizować ich toksyczne działanie. Kompleksy rutenu(III) i (II) znalazły zastosowanie nie tylko jako związki o aktywności przeciwnowotworowej, ale również immunosupresyjnej (Rys. 4a), antymalarycznej (Rys. 4b), czy też tzw. zmiataczy NO, inaczej akceptorów NO (Rys. 4c, d) [16].





Rysunek 4. Kompleksy rutenu o właściwościach: a) immunosupresyjnych, b) antymalarycznych, c), d) zmiataczy NO (akceptorów NO) [16]

Figure 4. Ruthenium complexes with different properties: a) immunosuppressive b) antimalarial, c), d) NO scavengers (NO acceptors) [16]

## 2. AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWA ZWIĄZKÓW RUTENU I MECHANIZMY ICH DZIAŁANIA

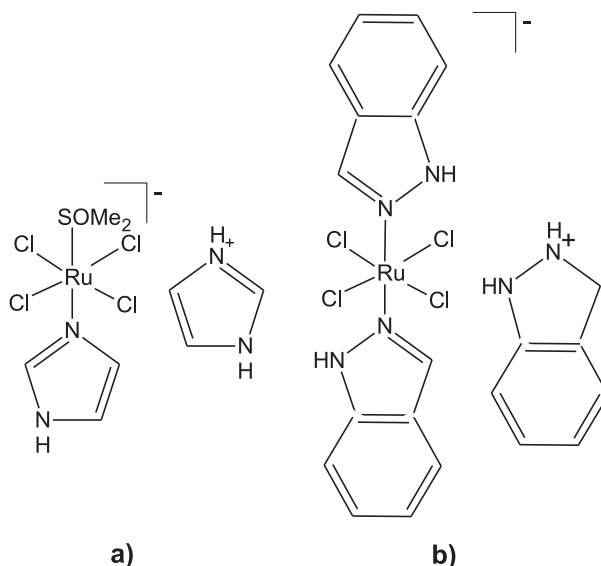
Poszukiwanie leków o wyższej specyficzności działania oraz aktywności w stosunku do platynoopornych typów nowotworów stały się dodatkowymi argumentami za prowadzeniem badań nad nowymi związkami zawierającymi inne jony metali niż platyna.

Mechanizm działania leków zawierających jony platyny(II), czy (IV) oparty jest na jej wiązaniu z DNA, powodując jego uszkodzenie, zapobiegając syntezie i replikacji białek, co prowadzi do śmierci komórki. Wśród kompleksów o antynowotworowych właściwościach związki rutenu wydają się najbardziej interesującą grupą.

Większość z połączeń Ru(II), Ru(III) i Ru(IV) z aminami, dimetylosulfotlenkiem, iminami, poliaminopolikarboksylianami oraz *N*-heterocyklicznymi ligandami określono jako wiążące się z DNA. Jednakże wiele z nich charakteryzuje się niską rozpuszczalnością w roztworze wodnym, co stanowi problem w procesie transportu oraz wpływa na mniejszą skuteczność ich działania. Zastosowanie w kompleksie Ru(III) jako jednego z ligandów dimetylosulfotlenku (ang. *dimethyl sulfoxide*, DMSO), spowodowało znaczne zwiększenie rozpuszczalności całego związku  $(H_2Im)[Ru(III)Cl_4(DMSO)Im]$ , (NAMI-A), (gdzie  $HIm = imidazol$ ) (Rys. 5a). Obecnie NAMI-A podobnie jak i kompleks o wzorze  $(HInd)[Ru(III)Cl_4(Ind)_2]$ , (KP1019), (gdzie  $HInd = indazol$ ) (Rys. 5b), znajdują się już w drugiej fazie badań klinicznych. Tym samym uznawane są za jedno z lepszych osiągnięć w dziedzinie badań nad

antynowotworowymi związkami rutenu. Co ciekawe, badania *in vivo*, nie wykazały uszkodzenia DNA przez NAMI-A, mimo sugerowanego mechanizmu działania przebiegającego z uszkodzeniem DNA. Natomiast w przypadku kompleksu KP1019 zarówno badania *in vivo* jak *in vitro*, wykazały jego wysoką aktywność wobec komórek raka jelita grubego [3, 27]. Ponadto okazał się on pozbawiony prawie całkowicie skutków ubocznych, a jego indeks terapeutyczny był lepszy od NAMI-A.

Przypuszcza się, że skuteczne działanie kompleksu KP1019 na komórki nowotworowe wiąże się z jego interakcją z transferyną [28], która transportuje go do wnętrza komórki. W konsekwencji następuje indukcja apoptozy [29], której jednak mechanizm komórkowy nie jest do końca poznany [30].



Rysunek 5. Kompleksy a)  $(\text{H}_2\text{Im})[\text{trans-Ru}(\text{DMSO})\text{Cl}_4(\text{Im})]^-$  – (NAMI-A) i b)  $(\text{HInd})[\text{Ru}(\text{III})\text{Cl}_4(\text{Ind})_2]^-$  – (KP1019) [30]

Figure 5. Complexes of ruthenium(III) a)  $(\text{H}_2\text{Im})[\text{trans-Ru}(\text{DMSO})\text{Cl}_4(\text{Im})]^-$  – (NAMI-A) i b)  $(\text{HInd})[\text{Ru}(\text{III})\text{Cl}_4(\text{Ind})_2]^-$  – (KP1019) [30]

Istnieje wiele mechanizmów, w których proces apoptozy może być inicjowany poprzez interakcje leków zarówno z DNA jak i białkami. Wykazano, że niektóre kompleksy rutenu, uszkadzają DNA, bezpośrednio lub pośrednio, czego przykładem są związki radioczułe. Oprócz właściwości wiążących DNA, związki rutenu wchodzi w interakcję z białkami, co jest odpowiedzialne za ich właściwości przeciwnowotworowe.

## 2.1. MECHANIZM USZKADZANIA DNA

Farmakologiczny cel kompleksów rutenu o właściwościach przeciwnowotworowych nie został jeszcze jednoznacznie określony. Powszechnie przyjmuje się, że ich cytotoksyczność jest związana ze zdolnością do wiązania DNA [31, 32], jednak istnieją pewne wyjątki [33]. Brak jednoznacznej odpowiedzi skłania naukowców do postawienia sobie dwóch zasadniczych pytań:

1. Czy unikalne wiązanie związków rutenu z DNA odpowiedzialne jest za ich przeciwnowotworowy sposób działania?
2. Czy cytotoksyczny sposób działania związków rutenu z DNA różni się od aktywności kompleksów platyny?

Przyjmuje się powszechnie, że przeciwnowotworowe działanie kompleksów koordynacyjnych platyny polega na tworzeniu krzyżowych połączeń między aktywną pochodną platyny a dwiema sąsiednimi cząsteczkami guaniny lub sąsiednimi cząsteczkami guaniny i adenozyne podwójnej helisy DNA. Jest to równoznaczne z tworzeniem wewnątrznicowych wiązań krzyżowych (ang. *intrastrand cross-link*), które stanowią ponad 60% wszystkich koordynacji cisplatyny do DNA. Wewnątrznicowe 1,2-addukty *cis*-Pt-GG-N7,N7 oraz rzadsze *cis*-Pt-AG-N7, N7 determinują uzyskany efekt terapeutyczny [34].

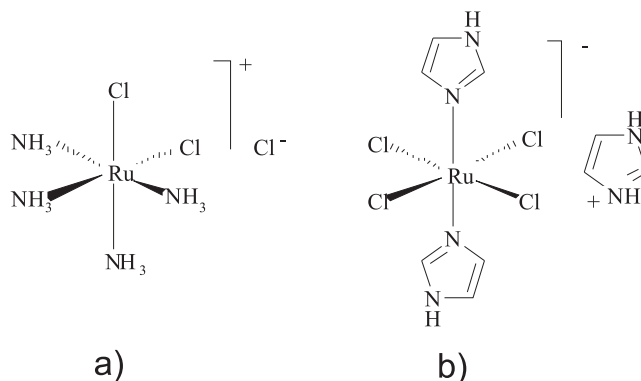
W badaniach *in vitro* stwierdzono zależność między tworzeniem wiązań międzyciowych (ang. *interstrand cross-link*), a wielkością efektu cytotoksycznego. Przypuszcza się, że sieciowanie międzyciowe jest odpowiedzialne za cytotoksyczność cisplatyny [35].

W wyniku koordynacji cisplatyny do DNA następuje lokalne zaburzenie struktury jego podwójnej helisy. Związane jest to ze zmianą specyficznego oddziaływanie między równoległe ułożonymi zasadami azotowymi. Efektem tego jest zahamowanie syntezy DNA komórek nowotworowych [21]. Natomiast w przypadku przebadanych kompleksów rutenu wykazano, że hamują one replikację DNA, posiadają działanie mutagenne, indukują naprawę SOS i wiązanie jądrowego DNA oraz hamują syntezę RNA. Zakłada się, że oktaedryczna struktura kompleksów rutenu(II) i (III), w przeciwieństwie do kwadratowej płaskiej geometrii platyny(II), będzie główną przyczyną odmiennego mechanizmu ich działania [30]. Zatem, można przypuszczać, że linie komórkowe nowotworów, które rozwinęły oporność wobec cisplatyny będą nadal czułe na działanie przeciwnowotworowych leków rutenu [16].

Bezpośrednia korelacja pomiędzy cytotoksycznością a wiązaniem z DNA została zaobserwowana wśród kompleksów będących pochodnymi aminowych połączeń z rutenem(III). Ich przedstawicielami są dwa związki: *cis*-[Cl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Ru]Cl<sub>2</sub> (Rys. 6a) i (HIm)[*trans*-[(Im)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>Ru], (Kp418) (Rys. 6b).

Jon [(H<sub>2</sub>O)(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>Ru]<sup>2+</sup> wiąże się zarówno z pojedynczą jak i podwójną nicią DNA, a miejscem preferowanym jest guanina (G7) [36, 37]. Może łączyć się również z adeniną (A) i cytozyną (C). Natomiast w przypadku kompleksu *trans*-[(H<sub>2</sub>O)py(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>Ru], obecność jonu Ru(II) przyczyniła się do utworzenia wiązania tylko z G7 [38]. Zgodnie z teorią wiązania się jonu metalu z DNA, kompleksy rutenu

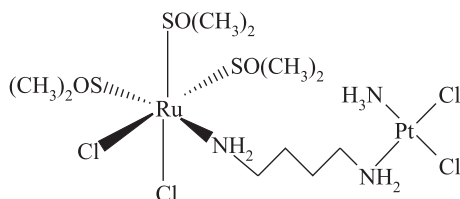
zawierające połączenia z aminami, cząsteczką amoniaku czy heterocyklami wykazują hamowanie replikacji DNA i syntezy RNA oraz działanie mutagenne i wiązanie z jądrowym DNA [39].



Rysunek 6. Kompleksy Ru(III) a)  $cis-[Cl_2(NH_3)_4Ru]Cl_2$ , b)  $(HIm)[trans-(Im)_2Cl_4Ru]$  (Kp418) [39]  
 Figure 6. Complexes of Ru(III) a)  $cis-[Cl_2(NH_3)_4Ru]Cl_2$ , b)  $(HIm)[trans-(Im)_2Cl_4Ru]$  (Kp418) [39]

Przypuszcza się, że preferowane w przypadku cisplatyny wewnątrzniciove sieciowanie DNA poprzez sąsiadujące guaniny ( $G^{K^7}-G^{K^7}$ ) jest również możliwe z jonami *cis*-rutenu. Jednakże oktaedryczna geometria jonu rutenu powoduje, że pod względem sterycznym są to miejsca bardziej zatłoczone [40, 41]. Przykładowo,  $trans-[Cl_4(Me_2SO)_2Ru]^-$  reaguje z d(GpG), co prowadzi do utworzenia makrocyklicznego chelatu o prawdopodobnym wzorze  $cis-[d((G^{K^7}pG^{K^7})Cl(H_2O)(Me_2SO)_2Ru(II))]$ , w którym grupy cukrowe DNA są w konfiguracji *anti* a guaniny w tzw. układzie „*head-to-head*” [42].

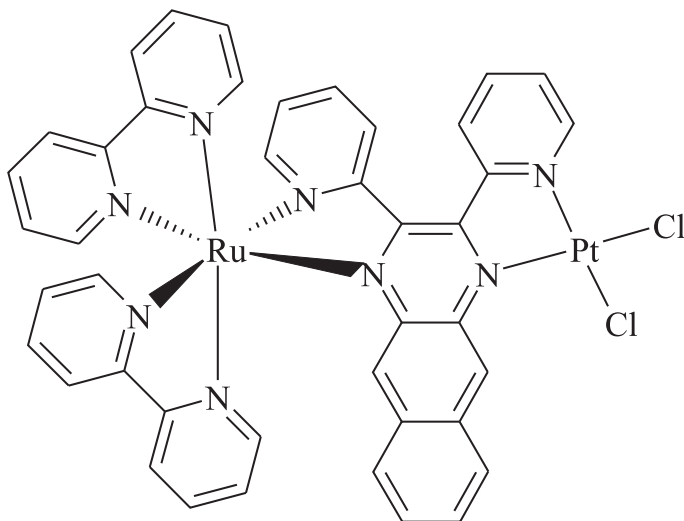
Jednym z wyjaśnień problemu sterycznego (dającym możliwość sieciowania DNA) jest wiązanie dwóch centrów metalicznych jednocześnie. Dwurdzeniowy kompleks, zawierający jony Ru(II) i Pt(II) o wzorze  $\{cis, fac-(RuCl_2(Me_2SO)_3)\}-\mu-NH_2(CH_2)_4NH_2-\{cis-(Pt(NH_3)Cl_2)\}$ , (Rys. 7) szybko traci grupy  $Me_2SO$  i jony chlorkowe, przyłączone do jonu rutenu w procesie hydrolizy, co w konsekwencji prowadzi do tworzenia wiązań krzyżowych pomiędzy DNA a białkami naprawczymi. Chociaż powszechnie uważa się, że za uszkodzenia DNA odpowiedzialne są wiązania krzyżowe DNA-białko, to bardziej prawdopodobne, w tym przypadku, wydaje się międzyciociowe sieciowanie DNA-DNA poprzez fragment cząsteczki zawierający jon Pt(II). Natomiast w przypadku jonu rutenu aktywność hydrolityczna, nadwrażliwość na światło, i dysocjacja w rezultacie tworzą związany, niespecyficzny biopolimer [43, 44].



Rysunek 7. Heterodzeniowy kompleks zawierający jony Ru(II) i Pt(II) o wzorze  $[\{cis, fac-(RuCl_2(Me_2SO)_3)\}-\mu-NH_2(CH_2)_4NH_2-\{cis-(Pt(NH_3)Cl_2)\}]$  [30]

Figure 7. The heteronuclear compounds containing Ru(II) and Pt(II) ions with formula  $[\{cis, fac-(RuCl_2(Me_2SO)_3)\}-\mu-NH_2(CH_2)_4NH_2-\{cis-(Pt(NH_3)Cl_2)\}]$  [30]

Analogiczny kompleks zawierający dwa centra metaliczne  $[(bpy)_2M(dpb)-PtCl_2]Cl_2$ , (gdzie  $M = Ru(II)$  (Rys. 8) lub  $Os(II)$ ,  $dpb = 2,3$ -bis(2-pirydylo) benzochinoksalina) tworzy zarówno wewnątrznicowe wiązania krzyżowe DNA przy użyciu  $cis-Cl_2Pt(II)$ , jaki i międzyceniowe za pośrednictwem drugiego centrum metalicznego [45].



Rysunek 8. Heterordzeniowy kompleks,  $[(bpy)_2Ru(dpb)PtCl_2]Cl_2$  [30]

Figure 8. The heteronuclear complex,  $[(bpy)_2Ru(dpb)PtCl_2]Cl_2$  [30]

Kompleksy rutenu z chelatującymi ligandami poliaminopolikarboksylianowymi stanowią ciekawą, stosunkowo nową grupę związków przeciwnowotworowych [46, 47]. Tworzą one w większości przypadków strukturę oktaedryczną i charakteryzują się wysoką rozpuszczalnością w wodzie. Jednym z tego typu połączeń jest kompleks  $[Cl_2(cdta)Ru(IV)]$ , (gdzie  $cdta = 1,2$ -cycloheksanodiaminotetraoctan), w którym atomy chloru są względem siebie w pozycji *cis* a karboksylany charakteryzują się znaczną labilnością. W celu określenia właściwości redoks związku, zbadano



jego właściwości elektrochemiczne. Badania te wykazały, że potencjał redukcyjny układu Ru(IV)/(III) wynosi 0,78 V, natomiast dla pary Ru(III)/(II) przyjmuje wartość  $-0,01$  V. Sugeruje to możliwą obecność jonów Ru(III), i Ru(II) w warunkach *in vivo* [47].

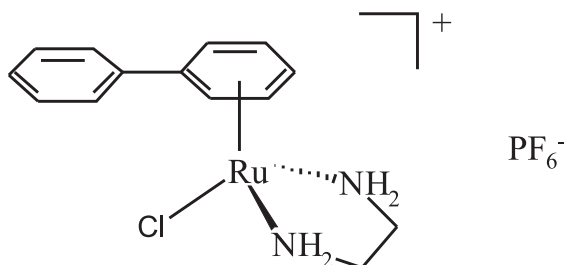
Aktywność przeciwnowotworowa, labilnego kompleksu Ru(III), *cis*-[Cl<sub>2</sub>(pdta)-Ru(III)], (gdzie pdta = 1,2-propylenodiaminotetraoctan), wynikała z tworzenia wiązań krzyżowych z guaninami DNA, co zostało potwierdzone przez udane wyizolowanie modelowego związku [(Gua)<sub>2</sub>(pdta)Ru(III)].

Ponadto badania jego właściwości cytotoksycznych wykazały, że szybko wiązał się z albuminą i apotransferyną oraz tworzył stosunkowo stabilne addukty, w których (pdta)Ru(III) jest prawdopodobnie wiązany na powierzchni białka. Z kolei elektroforetyczne badania potwierdziły, że *cis*-[Cl<sub>2</sub>(pdta)Ru(III)] uszkadzał jądro DNA i znacząco zmieniał konformację plazmidowego DNA. Ponadto, związek ten hamował rozpoznanie DNA i powodował jego rozkład poprzez enzymy restrykcyjne.

Badania Shepherd'a wykazały, że właściwości antynowotworowe poliaminopolikarboksylanowych kompleksów Ru(II) z pirymidyną, wynikają z faktu wiązania dwujądrowej cząsteczki w dużej bruzdzie DNA. Jednym z tego typu kompleksów jest połączenie zawierające jon [(hedta)Ru(II)]<sup>-</sup>, w którym to metal może wiązać się z N1 i N3 pirymidyny, jak również tworzyć η<sup>2</sup>-wiązanie między jodem metalu a wiązaniem podwójnym C5–C6 pierścienia pirymidyny [48].

W przypadku jonu kompleksowego [(edta)Ru(II)]<sup>-</sup>, (gdzie edta = etylenodiaminotetraoctan) i podobnych połączeń przypuszczano, że następuje szybkie utlenienie na powierzchni komórki Ru(II) do Ru(III). Jednakże koordynacja poprzez η<sup>2</sup>-wiązanie C5–C6 podwyższała potencjał elektrochemiczny  $E^\circ$ , który dla układu Ru(III)/(II) przyjmował wartość 0,5 V. To sugerowało, że addukty η<sup>2</sup>-Ru(II)-DNA mogą być stabilne w warunkach *in vivo*. Właściwość, że jony Ru(II) są stabilizowane przez różne ligandy π-akceptorowe, potwierdzono przykładami, w których potencjał elektrochemiczny  $E^\circ$  dla [py(edta)Ru(II)]<sup>-</sup>, (py = pirydyna) wynosił 0,1 V, a dla [bpy(edta)-Ru(II)]<sup>-</sup>, (bpy = bipyridyna) był równy 0,57 V. Wynika z tego, że π-wiązanie wystarczająco stabilizuje jon metalu i zapobiega autooksydacji oraz prawdopodobnie uniemożliwia również powstawanie η<sup>2</sup>-wiązania z pirymidyną [39].

W 2001 r. grupa badawcza Petera Sadler'a opracowała nową grupę organometalicznych połączeń, pochodnych diaminowych rutenu(II) (np.: RM175, [(η<sup>6</sup>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)RuCl(H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-N,N')<sup>+</sup>PF<sub>6</sub><sup>-</sup>], (Rys. 9)) z arenowymi ligandami [49]. Były to kompleksy należące do rodziny interkalatorów DNA. Odształcenia DNA, których charakter i zakres zależą od rodzaju adduktów, prowadziły do destabilizacji termodynamicznej DNA a w konsekwencji do biologicznych defektów. Tym samym wykazały cytotoksyczność, wobec komórek nowotworowych co najmniej porównywalną do cisplatyny w warunkach *in vitro* [50, 51].



Rysunek 9. Kompleks rutenu(II)  $[RuCl(C_2H_4(NH_2))(biphenyl)]$ , (RM 175) [50]

Figure 9. The complex of ruthenium(II)  $[RuCl(C_2H_4(NH_2))(biphenyl)]$ , (RM 175) [50]

Kompleksy Ru(II) są o wiele bardziej reaktywne w stosunku do DNA niż Ru(III) i Ru(IV), a zatem przypuszcza się, że przeciwnowotworowe działanie Ru(III) jest możliwe dopiero po redukcji do Ru(II) w środowisku guza. Proces ten może być inicjowany przez fizykochemiczne zmiany środowiska w komórkach nowotworowych. Jeśli ta hipoteza okazałaby się słuszna to połączenia Ru(III) spełnią funkcję proleku. Ponadto istnieje coraz więcej dowodów na to, że interakcje z białkami są również niezwykle ważne w przeciwnowotworowym działaniu związków rutenu, a te z kolei mogą wystąpić z rutenem na obu stopniach utleniania – Ru(II) i Ru(III) [16].

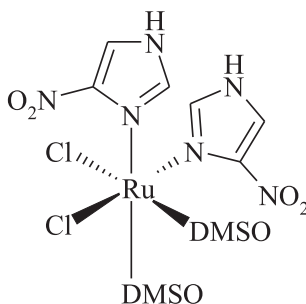
## 2.2. RADIOTERAPIA

Radioterapia jest metodą leczenia rutynową stosowaną wobec niektórych typów nowotworów. Efekt tego zabiegu można wzmocnić przez zastosowanie związków takich, jak nitroimidazol i halogenowe pochodne pirymidyny, które zwiększają wrażliwość komórek docelowych na napromieniowanie.

Związki stosowane w tej metodzie, aby były skutecznym radioterapeutycznym muszą spełniać dwa podstawowe warunki: posiadać zdolność wiązania do DNA i określoną wartość potencjału redoks.

Wiązanie z DNA, wynika z powinowactwa centrum metalicznego kompleksu do DNA. Przykładem tego typu metali zwiększających radioczułe właściwości związku jest platyna i ruten.

Wiele związków rutenu chętnie łączy się z DNA choć nie wszystkie są czułe na promieniowanie. Aktywność tych związków zależy od wartości potencjału redukcyjnego, który można optymalizować poprzez zastosowanie odpowiednich ligandów. Przykładowo, jednym z najbardziej znanych a zarazem najbardziej efektywnych kompleksów rutenu(II) jest  $RuCl_2(DMSO)_2(4-NO_2Im)_2$  (Rys. 10), zawierający grupę nitroimidazolową. Kompleks ten ma wyższą aktywność i niższą toksyczność niż sam 4-nitroimidazol [16].



Rysunek 10. Kompleks rutenu(II) *cis*-RuCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>(4-NO<sub>2</sub>Im)<sub>2</sub> [16]

Figure 10. The complex of ruthenium(II) *cis*-RuCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>(4-NO<sub>2</sub>Im)<sub>2</sub> [16]

### 2.3. TERAPIA FOTODYNAMICZNA (PDT)

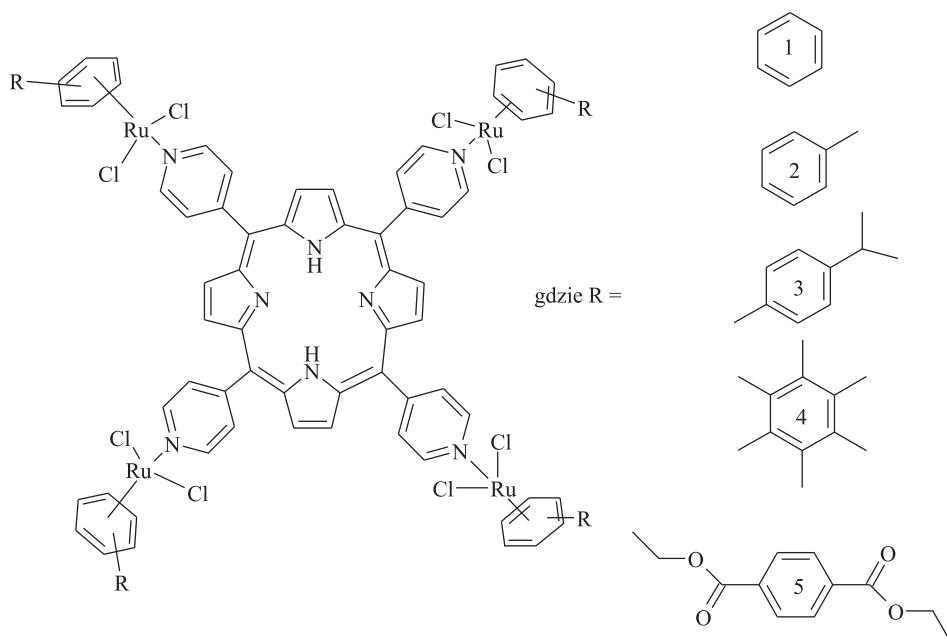
Terapia fotodynamiczna (PDT), podobnie jak w przypadku radioterapii, stosuje związki chemiczne o większym powinowactwie do komórek nowotworowych niż do zdrowych mających zdolność do selektywnej kumulacji. Połączenia te stają się cytotoksyczne po ekspozycji na promieniowanie elektromagnetyczne. Przykładem tego typu związków są kompleksy nitrozyłowe rutenu(II), uwalniające NO w procesie redukcji, który to jest inicjowany w fotodynamicznej reakcji.

Do niedawna stosowanie terapii fotodynamicznej było ograniczone brakiem możliwości dotarcia do komórek nowotworowych, ale za pomocą kompleksów rutenu pokonano te ograniczenia.

Ta nowa metoda związana z efektem Mössbauera (absorpcją i emisją promieniowania gamma) powoduje emisję elektronów Augera, które niszczą DNA w miejscu wiązania z jonem rutenu [16].

Jedną z obiecujących grup fotoczułych chemioterapeutyków stanowią połączenia arenowych pochodnych Ru(II) z porfirynami. Spośród nich na uwagę zasługują czterordzeniowe kompleksy o wzorze [Ru<sub>4</sub>(η<sup>6</sup>-R)<sub>4</sub>(porfiryne)Cl<sub>8</sub>], gdzie R = C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (1), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub> (2), *p*-<sup>t</sup>PrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Me (3), C<sub>6</sub>Me<sub>6</sub> (4), 1,4-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(COOEt)<sub>2</sub> (5); porfiryne = 5,10,15,20-tetra(4-pirydylo)porfiryne – (TPP) i 5,10,15,20-tetra(3-pirydylo)porfiryne (Rys. 11).

Organometaliczne połączenia cząsteczki są odpowiedzialne za wzrost hydrofiliowych właściwości wysoce hydrofobowych porfirynowych ligandów. Należy podkreślić, że hydrofobowość powoduje zwiększenie skłonności do agregacji w środowisku wodnym, a w konsekwencji zmniejszenie wydajności fotodynamicznej. Stąd rodzaj porfiryne może wpływać na różną fototoksyczność, a centra metali przejściowych uznawane za biologicznie czynne – wiązać się z DNA, RNA i białkami. W omawianej grupie kompleksów, jon rutenu zwiększa wchłanianie związku w komórkach, co w rezultacie podwyższa fotoczułość całego kompleksu.



Rysunek 11. Kompleksy arenowych pochodnych Ru(II),  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-R})(\mu\text{-Cl})\text{Cl}]_2$ , gdzie R =  $\text{C}_6\text{H}_6$  (1),  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$  (2),  $p\text{-PrC}_6\text{H}_4\text{Me}$  (3),  $\text{C}_6\text{Me}_6$  (4),  $1,4\text{-C}_6\text{H}_4(\text{COOEt})_2$  (5) z 5,10,15,20-tetra(4-pirydylo)porforyną, (TPP) [53]

Figure 11. Arene derived complexes of Ru(II)  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-R})(\mu\text{-Cl})\text{Cl}]_2$ , where R =  $\text{C}_6\text{H}_6$  (1),  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$  (2),  $p\text{-PrC}_6\text{H}_4\text{Me}$  (3),  $\text{C}_6\text{Me}_6$  (4),  $1,4\text{-C}_6\text{H}_4(\text{COOEt})_2$  (5) with 5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin, (TPP) [53]

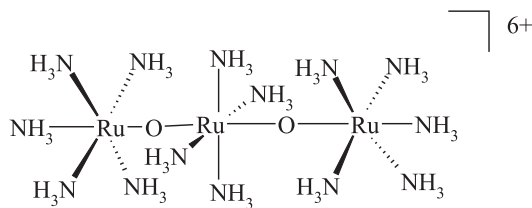
Miejsce kumulacji związków w cytoplazmie i ich organellach została potwierdzona badaniami biologicznymi na linii komórkowej czerniaka przy użyciu mikroskopii fluorescencyjnej. Właściwości te różnią się od zaobserwowanych w przypadku kompleksów rutenu(III), które gromadziły się w lizosomach i jądrach komórkowych [52, 53].

## 2.4. ANTYNOWOTWOROWY MECHANIZM Z UDZIAŁEM MITOCHONDRIOŃ

Proces apoptozy, jak wyżej przedstawiono, może przebiegać z udziałem mitochondriów – subkomórkowych tworów, w których zachodzą procesy będące głównym źródłem energii (w postaci ATP) dla komórki, a w szczególności dotyczy to procesu fosforylacji oksydacyjnej, zachodzącego w błonie wewnętrznej mitochondrium [15, 16].

Jednym z połączeń rutenu(II), którego mechanizm antynowotworowego działania przebiega z udziałem mitochondrium jest związek znany pod nazwą Red Ruthenium (czerwony ruten) (Rys. 12). Stosowany jest on przez biologów do wybiórczego barwienia mitochondriów, gdyż dobrze wiąże się z kanałami wapniowymi na

ich powierzchni. Od dawna już wiadomo, że hamuje on wzrost komórek nowotworowych, ale jego toksyczność jest zbyt wysoka dla wykorzystania w terapii.



Rysunek 12. Kompleks rutenu(II) – Ruthenium Red [16]

Rysunek 12. The ruthenium(II) complex – Ruthenium Red [16]

Przypuszcza się, że mechanizm przeciwnowotworowego działania niektórych związków rutenu może obejmować pewne interakcje z mitochondriami. Jest to również jedna z hipotez tłumacząca działanie związku Kp1019, którego charakterystyka zostanie przedstawiona w dalszych rozdziałach [16, 23, 54].

## 2.5. AKTYWNOŚĆ PRZECIWNOWOTWOROWA POCHODNYCH RUTENU WOBEC GUZÓW WTÓRNYCH

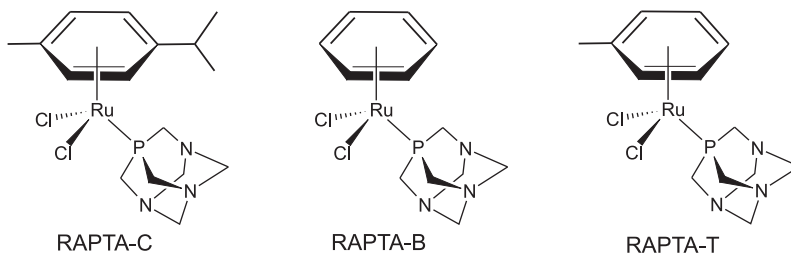
Szczególnie trudnym problemem w terapii przeciwnowotworowej jest leczenie przerzutów. Jedną z hipotez mówi, że przerzuty pojawiają się w późnym stadium choroby i wiążą się z tzw. „ucieczką” komórek z guza pierwotnego i tworzenie wtórnego tworów o różnej lokalizacji w organizmie. Przerzuty są zazwyczaj w stanie uśpienia i często ich działanie tłumione jest przez hormony wydzielane z guza pierwotnego. Jednakże, jeśli guz pierwotny, zostanie usunięty lub następują kolejne zmiany genetyczne w przerzutach, może rozpocząć się dalszy rozwój nowotworu w tych miejscach.

Guz przy wzroście do około 1 mm<sup>3</sup> potrzebuje już dopływu krwi i rozpoczyna tworzenie niezbędnych naczyń krwionośnych. Proces ten określanym jest jako angiogeneza. Przykładowo niektóre leki, jak: angiostatin, throbospondin i batimastat są w stanie ograniczyć ten proces. Niestety statystyki wykazują, że po zainicjowaniu angiogenezy szanse przeżycia kolejnych pięciu lat spadają o około 50%. Pierwszym lekiem przeciwnowotworowym rutenu(III), który przeszedł do II-giej fazy badań klinicznych, a zarazem silnie działającym na przerzuty był kompleks NAMI-A, [trans-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)Im][ImH] (Rys. 5). Przypuszcza się, że NAMI-A zmienia ekspresję białka, bądź to poprzez wiązanie z nim lub z RNA. W konsekwencji powoduje to zgrubienie warstwy proteinowej otaczającej guzy i przerzuty. Tym samym zapobiega to ich dalszemu rozprzestrzenianiu się w organizmie [24].

Grupa badawcza Paul’a Dyson’a opracowała w 2004 roku serię organometalicznych połączeń rutenu(II) zawierających ligand PTA (1,3,5-triaza-7-fosfoadaman-tan) o wzorze [Ru(areny)Cl<sub>2</sub>PTA] (areny = bifenyl, dihydroantracen, tetrahydroan-



tracen, *p*-cymen = *p*-metylo-izopropylobenzen), zwanych związkami RAPTA [55, 56]. Przeprowadzone badania w warunkach *in vitro*, wykazały, że wchodzi one w interakcje z białkami [57, 58] i DNA [56, 59] prowadząc do apoptozy komórek nowotworowych.



Rysunek 13. Grupa kompleksów RAPTA,  $[\text{Ru}(\text{areny})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$ , (areny = *p*-cymen, *p*-metylo-izopropylobenzen, (RAPTA C); PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfoadamantan) [61]

Figure 13. Complexes group of RAPTA,  $[\text{Ru}(\text{arene})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$ , (arene = *p*-cymene, *p*-methyl- isopropylbenzene (RAPTA C); benzene (RAPTA B); methylbenzene (RAPTA T); PTA = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane) [61]

Grupa kompleksów RAPTA (Rys. 13) [60] charakteryzowała się słabą cytotoxicznością *in vitro* w stosunku do komórek nowotworowych guza pierwotnego (aktywność ta w porównaniu do cisplatyny jest praktycznie zerowa [61]) i często jej brakiem w stosunku do zdrowych komórek nawet przy stężeniach na poziomie milimolowym (mM) oraz czasie ekspozycji 72 godzin [20]. Natomiast badania *in vitro* na litym guzie wykazały spadek tworzenia przerzutów wraz z zahamowaniem wzrostu guza pierwotnego. Działanie tej grupy związków, w pewnym sensie, przypomina aktywność NAMI, ( $\text{Na-trans-}[\text{Cl}_4(\text{Me}_2\text{SO})(\text{Im})\text{Ru}]$ ) i NAMI-A, ( $(\text{H}_2\text{Im})[\text{trans-Ru}(\text{DMSO})\text{Cl}_4(\text{Im})]$ ) [20, 62].

Szczególnie warte uwagi jest to, że aktywność NAMI wydaje się być niezależna od jego stężenia w komórkach nowotworowych, a mechanizm działania nie powoduje wiązania DNA. Wykazano, że międzyciociowe wiązania krzyżowe DNA poprzez NAMI są możliwe tylko w ~ 1%. Jednakże w znacznym stopniu hamowana jest polimeraza DNA i RNA [63].

Na poziomie, w którym następuje radykalne zmniejszenie przerzutów do płuc, NAMI znacznie zmienia stosunek pomiędzy mRNA metaloproteinazy – MMP-2 (zdolnej do degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej) a TIMP-2 – specyficznym tkankowym inhibitorem enzymu. Jest to zgodne z wyraźnym wzrostem składników macierzy zewnątrzkomórkowej w miększu guza i naczyniach krwionośnych wokół guza, co prawdopodobnie hamuje dopływ krwi do guza i powstawanie przerzutów [6].



przez śladowe ilości reduktorów biologicznych, takich jak kwas askorbinowy, cysteina, czy glutation [65].

Zarówno NAMI, jak i NAMI-A powodują zwiększenie grubości tkanki łącznej otoczki guza oraz wokół naczyń krwionośnych guza co upośledza MMP-2, na poziomie jego genów i/lub jego inhibitora TIMP-2. NAMI-A wydaje się być mniej toksyczny niż cisplatyna, nie zmienia wzrostu komórek i powoduje przejściowe zatrzymanie cyklu komórkowego komórek nowotworowych w premitotycznej fazie G2/M; podczas gdy cisplatyna powoduje zależne od dawki zaburzenia fazy cyklu komórkowego i redukuje proliferację komórek [66].

Należy jeszcze podkreślić, że NAMI-A, (ImH)-*trans*-[Cl<sub>4</sub>(Me<sub>2</sub>SO)(Im)Ru], ma lepsze właściwości farmakologiczne niż NAMI przy czym jest też bardziej stabilny [67].

Guzy wtórne nowotworów są szczególnie trudne do wyleczenia w procesie terapeutycznym. Otrzymanie kompleksów, będących pochodną dimetylosulfotlenku rutenu, jak NAMI, (Na-*trans*-[Cl<sub>4</sub>(Me<sub>2</sub>SO)(Im)Ru]) i NAMI-A, ((H<sub>2</sub>Im)[*trans*-Ru(DMSO)Cl<sub>4</sub>(Im)]), wykazujących aktywność wobec przerzutów nowotworu, stanowi ważny krok w rozwoju tej tematyki badawczej. Kompleksy takie mogą być szczególnie użyteczne w zmniejszaniu wzrostu trudnych do wykrycia mikroprzerzutów tworzących się często po zabiegu chirurgicznym lub radioterapii [6].

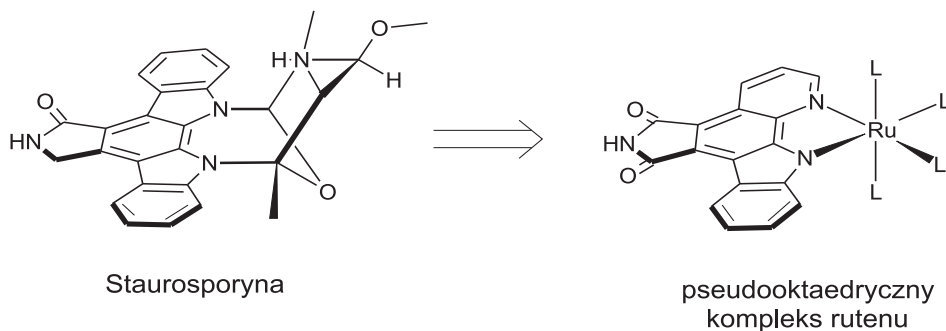
## 2.6. INNE MECHANIZMY ODPOWIEDZIALNE ZA PRZECIWNOWOTWOROWE DZIAŁANIE KOMPLEKSÓW RUTENU

Selektywne działanie związków rutenu wobec nowotworów może wynikać z faktu wiązania transferyn oraz chemicznej reaktywności Ru(III). Pierwsza własność związana jest z transportowaniem leku do komórek wykazujących deficyt żelaza, czyli takich jak szybko narastające komórki nowotworowe. Natomiast druga wiąże się ze zmianą aktywności Ru(III) w wyniku możliwego procesu redukcji jonu metalu. Kompleksy rutenu(III) powszechnie znane są jako związki stosunkowo inertne, podczas gdy ich odpowiedniki rutenu(II) są dużo bardziej reaktywne, co zostało wyczerpująco wyjaśnione przez Michaela Clarke'a w przypadku niektórych tetrachloro lub pentaamino pochodnych rutenu [6, 68].

Biorąc pod uwagę, że występowanie guzów litych wiąże się ze środowiskiem hipoksy, redukcja Ru(III) do formy bardziej reaktywnej, czyli Ru(II) jest znacznie bardziej preferowana w masie guza niż w środowisku zdrowych tkanek, gdzie dominują procesy utleniające. Zostało to potwierdzone zarówno badaniami eksperymentalnymi [69, 70] jak i teoretycznymi [71, 72].

Nowatorski kierunek badań prowadzonych przez Eric'a Meggers'a [73] z Uniwersytetu w Pensylwanii, którego prekursorem był Francis Dwyer [74, 75], doprowadził do otrzymania grupy organometalicznych kompleksów rutenu(II) i (I) spełniających inną funkcję niż wcześniej przedstawione połączenia. Mianowicie miały one zdolność do naśladowania organicznych związków będących inhibitorami enzy-

mów. Jednym ze znanych inhibitorów kinaz białkowych jest naturalny produkt – staurosporyna. Meggers [73] zastąpił jednostkę węglowodorową staurosporyny kompleksem rutenu (Rys. 15). Ta strukturalna zmiana zoptymalizowała oddziaływania enzym–inhibitor, co doprowadziło do odkrycia nanomolarnych a nawet pikomolarnych inhibitorów kinaz białkowych [76].



Rysunek 15. Pseudooktaedryczny kompleks rutenu naśladowujący strukturę staurosporyny – ATP-kompetytywnego inhibitora kinaz białkowych [74]

Figure 15. Pseudooctahedral ruthenium complex mimics staurosporine structure – ATP-competitive protein kinase inhibitors [74]

Jon rutenu w kompleksie nie wchodzi bezpośrednio w interakcje z białkiem. Natomiast pełni on rolę wyłącznie strukturalną i stanowi swoiste rusztowanie dla utrzymania cząsteczek organicznych w prawidłowej orientacji, wygodnej do lepszego dopasowania do miejsca aktywnego kinazy białkowej. Najnowsze badania rentgenostrukturalne potwierdzają, że związki te wiążą się w miejscu wiązania ATP przez kinazy białkowe. Przykładowo kompleks o symbolu DW1 będący enancjomerem R mieszaniny racemicznej DW1/2 (Rys. 16b) wiąże się z kinazą białkową Pim-1. Nakładające się struktury Pim-1 ze staurosporyną i metaloorganicznym inhibitorem wykazują bardzo dobre dopasowanie przez sposób ich wiązania pomiędzy produktem naturalnym i metaloorganicznym kompleksem. Pirydokarbazol jako ligand doskonale naśladuje miejsca indolokarbazolu w staurosporynie, natomiast cyklopentadienylowy pierścień i grupa CO odpowiadają miejscom węglowodorowym sataurosporyny wiążących się z kinazą białkową Pim-1.

Ponadto, okazało się, że związki rutenu mają nawet większą selektywność hamowania enzymu niż staurosporyna, co uczyniło je znacznie bardziej interesującymi. DW1/2 jest również selektywny dla kinazy syntetazy glikogenu 3 $\beta$  [77] i daje możliwość reaktywacji białka p53 dla wysoce opornych chemicznie komórek czerniaka, prowadząc do indukcji mechanizmu apoptozy przy udziale inhibitora MDM2 i MDM4 [20, 73, 78].



wiązania DNA. Jednakże stosunkowo szybka depolaryzacja błony w mitochondriach sugeruje, że to właśnie bezpośrednia interakcja z mitochondriami może być odpowiedzialna za antynowotworowy mechanizm działania KP1019.

Pomimo umiarkowanej cytotoksyczności, KP1019 wykazuje swoją aktywność działania na różne modele nowotworów, już przy zastosowaniu stosunkowo niskich, nietoksycznych dawek. Prawdopodobnie odzwierciedla to wysoki stopień selektywności działania na nowotwory. Badania kliniczne, I fazy, polegające na zwiększaniu dawki leku przeprowadzono u pacjentów z zaawansowanymi guzami litymi. Uzyskano obiecujące wyniki ze stabilizacją choroby u pięciu na sześć ocenianych osób. Zaobserwowano również całkowitą remisję jednej trzeciej badanej grupy nowotworów w reakcji na podany rutenowy prolek. Daje to nadzieje, że korzyści terapeutyczne zostaną potwierdzone przez dalsze badania kliniczne [23].

## PODSUMOWANIE

Pomimo sukcesu platynowych związków przeciwnowotworowych stosowanych w terapii klinicznej, nadal istnieje zapotrzebowanie na nowe leki o większej skuteczności działania i mniejszej toksyczności. Wieloletnie prace nad kompleksami platyny pozwoliły na duży postęp w dziedzinie badań nad interakcją między kompleksem metalu a białą cząsteczką. W poszukiwaniach nieplatynowych kompleksów metali o potencjalnych właściwościach antynowotworowych skupiono uwagę na otrzymaniu metalofarmaceutyków o mniejszej toksyczności i większej specyficzności niż cisplatyna [12]. Mechanizm działania leków na bazie platyny(II) lub (IV) oparty jest głównie na jej wiązaniu z DNA; powoduje uszkodzenie DNA, zapobiegając syntezie i replikacji białek, co prowadzi do śmierci komórki [20].

Kompleksy rutenu w chemioterapii nowotworów stanowią atrakcyjną alternatywę do platynowych leków. Ten fakt wiąże się nie tylko z niższą toksycznością, ale inną kinetyką wymiany tych samych ligandów w stosunku do platyny(II). Kompleksy rutenu, wiążąc się z DNA wpływają na zmianę jego konformacji w zależności od geometrii ligandów. Ponadto ich właściwości nie powodują występowania oporności krzyżowej z platynowymi lekami oraz charakteryzują się różnym spektrum aktywności związanej w wielu przypadkach z możliwością wiązania DNA.

Badania dwóch wiodących europejskich ośrodków – Uniwersytetu Wiedeńskiego oraz Uniwersytetu i Fundacji Callerio w Trieście, w dziedzinie przeciwnowotworowych właściwości związków rutenu, doprowadziły do otrzymania kompleksów Ru(III) o nazwie KP1019 i NAMI-A.

Pomimo strukturalnych i chemicznych podobieństw, charakteryzują się różną aktywnością antynowotworową a jednocześnie stanowią jak dotychczas, najlepszą perspektywę zastosowań terapeutycznych połączeń tego metalu w przyszłości.

W badaniach biologicznych *in vitro*, KP1019 okazał się cytotoksyczny, w przypadku nowotworu okrężnicy, powodując apoptozę komórek. Natomiast NAMI-A jest całkowicie wolny od bezpośredniej cytotoksyczności komórkowej, ale selek-

tywnie zabija prawie we wszystkich przypadkach, komórki nowotworowe pochodzące z przerzutów do płuc. Do tej pory został pomyślnie przetestowany na ludzkich ksenograftach, (ksenograft – przeszczep obcogatunkowy). W tym przypadku chorobowo zmienione ludzkie tkanki są przeszczepiane do organizmu zwierząt, zazwyczaj myszy, gdzie poddawane są dalszym badaniom.

Unikalne właściwości NAMI-A wiążą się z tym, że skutki jego działania skierowane są głównie w kierunku procesów towarzyszących przerzutom. Podczas gdy jego hamujący wpływ na źródło zmian nowotworowych jest mało wyraźne, co częściowo tłumaczyłoby jego niską cytotoksyczność.

Podstawową zaletą kompleksów rutenu jest zdolność do naśladowania właściwości wiążących żelaza z biologicznymi cząsteczkami, które umożliwiają ich transport w całym ciele i są odpowiedzialne za niższą toksyczność do zdrowych komórek niż cis platyna. Natomiast interakcja z biologicznymi molekułami w hipoksyjnym środowisku może prowadzić do aktywacji inertnego proleku do wysoce reaktywnych i cytotoksycznych połączeń.

Dodatkowo uzyskanie związków będących połączeniem dwóch różnych jonów metali w jednej cząsteczce pozwala stworzyć nowe perspektywy, dla skuteczniejszego leczenia nowotworów i ich przerzutów.

Pojawia się jednak pytanie, czy powyżej przedstawione właściwości kompleksów rutenu są wystarczające dla znaczących korzyści klinicznych? Odpowiedzi na te i podobne pytania można szukać w wynikach badań nad aktywnością biologiczną i potencjalnymi mechanizmami ich działania [20, 23].

Zrozumienie działania proleków na docelowe białka (w komórce nowotworowej) jest istotne w wyjaśnieniu ich aktywności, lecz sposób w jaki to się dzieje, wciąż wymaga dalszych badań. Natomiast brak oficjalnego zatwierdzenia chociażby któregośkolwiek z proponowanych mechanizmów podkreśla potrzebę i celowość tego typu badań.

## PODZIĘKOWANIE

Niniejsza praca została sfinansowana z badań statutowych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503-3066-2 oraz z grantu nr 411 Collegium Medicum.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J. Reedijk, *Chem. Commun.*, 1996, 801.
- [2] E. Wong, C.M. Giandomenico, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2451.
- [3] M.A. Jakupec, M. Galanski, B.K. Keppler, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 2003, **146**, 1.
- [4] M. Galanski, V.B. Arion, M.A. Jakupec, B.K. Keppler, *Curr. Pharm. Des.* 2003, **9**, 2078.
- [5] M. Ciołkowski, E. Budzisz, *Wiad. Chem.*, 2007, **61**, 43.
- [6] M.J. Clarke, *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **236**, 209.
- [7] M. Miernicka, E. Budzisz, *Wiad. Chem.*, 2007, **61**, 937.



- [8] M. Sobiesiak, E. Budzisz, *Wiad. Chem.*, 2009, **63**, 285.
- [9] K. Strohfeltd, M. Tacke, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 1174.
- [10] E. Budzisz, *Pol. J. Cosmetol.*, 2006, **9**(4), 212.
- [11] L. Messori, G. Marcon, *Met. Ions Biol. Syst.*, 2004, **42**, 385.
- [12] M. Ravela, G. Bagni, M. Mascini, D. Osella; *Bioinorganic Chemistry and Application*, 2007, 1.
- [13] J.A. Hicman, *Eur. J. Cancer*, 1996, **32A**, No 6, 921.
- [14] A. Bielak-Żmijewska, *Kosmos, Problemy nauk biologicznych, PTP im. Kopernika*, 2003, Tom **52**, Nr 2–3, 157.
- [15] G. Krauss, *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Third, Completely Revised Edition, Weinheim, 2003, 511–523.
- [16] C.S. Allardyce, P.J. Dyson, *Platinum Metals Rev.*, 2001, **45** (2), 62.
- [17] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature*, 1965, **205**, 698.
- [18] B. Rosenberg, L. Van Camp, J.E., Trosko, V.H. Mansour, *Nature*, 1969, **222**, 385.
- [19] D. Wang, S.J. Lippard, *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2005, **4**, 307.
- [20] A. Bonetti, R. Leone, F.M. Muggia, S.B. Howell, *Platinum and Other Heavy Metal Compounds in Cancer Chemotherapy. Molecular Mechanisms and Clinical Applications*, Humana Press, a part of Springer Science Business Media, LLC 2009, 57–66.
- [21] M.J. Clarke, F. Zhu, D.R. Frasca, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2511.
- [22] W.H. Ang, P.J. Dyson, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2006, **20**, 4003.
- [23] M.A. Jakupec, M. Galanski, V.B. Arion, Ch.G. Hartinger, B.K. Keppler, *Dalton Trans.*, 2008, 183.
- [24] C.S. Allardyce, P.J. Dyson, *Platinum Metals Rev.*, 2001, **45**, (2), 62.
- [25] E. Reisner, V.B. Arion, B.K. Keppler, A.J.L. Pombeiro, *Inorganica Chimica Acta*, 2008, **361**, 1569.
- [26] *Harper's Illustrated Biochemistry a twenty-sixth edition*, pod redakcją R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell, McGraw-Hill Companies, 2003, ISBN-0-07-121766-5 (International Edition), 584–587.
- [27] A. Bergamo, S. Zorzet, B. Gava, A. Sorc, E. Alessio, E. Iengo, G. Sava, *Anti-cancer Drugs*, 2000, **11**, 665.
- [28] M. Pongratz, P. Schluga, M.A. Jakupec, V.B. Arion, Ch.G. Hartinger, G. Allmaier, B.K. Keppler, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 2004, **19**, 46.
- [29] S. Kapitza, M. Pongratz, M.A. Jakupec, P. Heffeter, W. Berger, L. Lackinger, B.K. Keppler, B. Marian *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2005, **131**, 101.
- [30] V. Brabec, O. Nováková, *Drug Resistance Updates*, 2006, **9**, 111.
- [31] S. Fruhauf, W.J. Zeller, *Cancer Res.*, 1991, **51**, 2943.
- [32] E. Gallori, C. Vettori, E. Alessio, F.G. Vilchez., R. Vilaplana, P. Orioli, A. Casini, L. Messori, *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000, **376**, 156.
- [33] C.X., Zhang, S.J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, **7**, 481.
- [34] A.L. Pinto, S.J. Lippard, *Biochim. Biophys. Acta*, 1985, **780**, 167.
- [35] W.C. Cole, W. Wolf, *Chem. Biol. Interact.*, 1980, **30**, 223.
- [36] M.J. Clarke, B. Jansen, K.A. Marx, R. Kruger, *Inorg. Chim. Acta* 1986, **124**, 13.
- [37] M. McNamara, M.J. Clarke, *Inorg. Chim. Acta*, 1992, **195**, 175.
- [38] M. Zhao, M.J. Clarke, *J. Biol. Inorg. Chem.* 1999, **4**, 318.
- [39] M.J. Clarke, Z. Fuchun, D.R. Frasca, *Chem. Rev.*, 1999, **99** (9), 2511.
- [40] E. Alessio, Y. Xu, S. Cauci, G. Mestroni, F. Quadrioglio, P. Viglino, L.G. Marzilli, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 7068.
- [41] E. Alessio, E. Zangrando, R. Roppa, L. Marzilli, *Inorg. Chem.* 1998, **37**, 2458.
- [42] G. Esposito, S. Cauci, F. Fogolari, E. Alessio, M. Scocchi, F. Quadrioglio, P. Viglino, *Biochemistry*, 1992, **31**, 7094.
- [43] N. Farrell, Y. Qu, *Inorg. Chem.* 1995, **34**, 3573.

- [44] B. Van Houten, S. Illenye, Y. Qu, N. Farrell, *Biochemistry*, 1993, **32**, 11794.
- [45] M. Milkevitch, B.W. Shirley, K.J. Brewer, *Inorg. Chim. Acta*, 1997, **264**, 249.
- [46] S.R. Vilaplana, M.G. Basallote, C. Ruiz-Valero, E. Gutierrez, F. Gonzalez-Vilchez, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 100.
- [47] R.A. Vilaplana, F. Gonzalez-Vilchez, C. Ruiz-Valero, *Inorg. Chim. Acta* 1994, **224**, 15.
- [48] R.E. Shepherd, Y. Chen, F.-T. Lin, *Inorg. Chem.*, 1997, **36**, 818.
- [49] H. Chen, J.A. Parkinson, S. Parsons, A.R. Coxall, O. Gould, P.J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 3064.
- [50] R.E. Morris, R.E. Aird, S. Pdel Murdoch, *J. Med. Chem.*, 2001, **44**, 3616.
- [51] S.P. Fricker, *Dalton Trans.*, 2007, 4903.
- [52] F. Schmitt, P. Govindaswamy, G. Süß-Fink, W.H. Ang, P.J. Dyson, L. Juillerat-Jeanneret, B. Therrien, *J. Med. Chem.*, 2008, **51**, 1811.
- [53] F. Schmitt, P. Govindaswamy, O. Zava, G. Süß-Fink, W.H. Ang, L. Juillerat-Jeanneret, B. Therrien, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2009, **14**, No. 1, 101.
- [54] D.D. Dwyer, K. Gordon, B. Jones, *Int. J. Immunopharmac.*, 1995, **17**, No. 11, 931.
- [55] C. Scolaro, J.T. Geldbach, S. Rochat, A. Dorcier, Ch. Gossens, A. Bergamo, M. Cocchietto, I. Tavernelli, G. Sava, U. Rothlisberger, P.J. Dyson, *Organometallics*, 2006, **25**, 756.
- [56] C. Scolaro, A.B. Chaplin, C.G. Hartinger, A. Bergamo, M. Cocchietto, B.K. Keppler, G. Sava, P.J. Dyson, *Dalton Trans.*, 2007, 5065.
- [57] C.G. Hartinger, W.H. Ang, A. Casini, L. Messori, B.K. Keppler, P.J. Dyson, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2007, **22**, 960.
- [58] A. Casini, G. Mastrobuoni, W.H. Ang, C. Gabbiani, G. Pieraccini, G. Moneti, P.J. Dyson, L. Messori, *ChemMedChem.*, 2007, **2**, 631.
- [59] A. Dorcier, P.J. Dyson, C. Gossens, U. Rothlisberger, R. Scopelliti, I. Tavernelli, *Organometallics*, 2005, **24**, 2114.
- [60] A. Bergamo, A. Masi, P.J. Dyson, G. Sava, *International Journal of Oncology*, 2008, **33**, 1281.
- [61] R.A. Vilaplana, F. Delmani, C. Manteca, J. Torreblanca, J. Moreno, G. Garcia-Herdugo, F. González-Vilchez, *J. Inorg. Biochem.*, 2006, **100**, 1834.
- [62] A. Bergamo, G. Sava, *Dalton Trans*, 2007, 1267.
- [63] G. Sava, E. Alessio, E. Bergamo, G. Mestroni, *Top. Biol. Inorg. Chem.*, 1999, **1**, 143.
- [64] O.M.N. Dhuhghaill, W. Hagen, B.K. Keppler, K.-G. Lipponer, J.J. Sadler, *Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1994, 3305.
- [65] G. Mestroni, E. Alessio, G. Sava, S. Pacor, M. Coluccia, A. Boccarelli, *Met.-Based Drugs*, 1994, **1**, 41.
- [66] A. Bergamo, R. Gagliardi, V. Scarcia, A. Furlani, E. Alessio, G. Mestroni, G. Sava, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, **289**, 559.
- [67] S. Geremia, E. Alessio, F. Todone, *Inorg. Chim. Acta*, 1996, **253**, 87.
- [68] M.J. Clarke, S. Bitler, D.J. Rennert, *Inorg. Biochem.*, 1980, **12**, 79.
- [69] M. Bacac, A.C.G. Hotze, K. van der Schilden, J.G. Haasnoot, S. Pacor, E. Alessio, G. Sava, J. Reedijk, *J Inorg Biochem* 2004, **98**, 402.
- [70] P. Schluga, Ch.G. Hartinger, A. Egger, E. Reisner, M. Galanski, M.A. Jakupec, B.K. Keppler, A, *Dalton Trans.*, 2006, **14**, 1796.
- [71] J. Chen, L. Chen, S. Liao, *J. Phys. Chem. B*, 2007, **111**, 7862.
- [72] A.V. Vargiu, A. Robertazzi, A. Magistrato, P. Ruggerone, P. Carloni, *J. Phys. Chem B*; 2008, **112**, 4401.
- [73] E. Meggers, *Current Opinion in Chemical Biology*, 2007, **11**, 287.
- [74] F.P. Dwyer, E.C. Gyarfas, W.P. Rogers, J.H. Koch, *Nature*, 1952, **170**, 190.
- [75] F.P. Dwyer, E.C. Gyarfas, R.D. Wright, A. Shulman, *Nature* 1957, **179**, 425.

- [76] H. Bregman, P.J. Carroll, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 877.
- [77] G.E. Atilla-Gokcumen, N. Pagano, C. Streu, J. Maksimoska, P. Filippakopoulos, S. Knapp, E. Meggers, *ChemBioChem.*, 2008, **9**, No. 18, 2933.
- [78] P.C.A. Bruijninx, P.J. Sadler, *Current Opinion in Chemical Biology*, 2008, **12**, 197.
- [79] G.E. Atilla-Gokcumen, D.S. Williams, H. Bregman, N. Pagano, E. Meggers, *ChemBioChem*, 2006, **7**, No 9, 1443.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 marca 2010



**TRI-*TERT*-BUTOKSYSILANOTIOLANOWE  
KOMPLEKSY CYNKU(II), KADMU(II)  
I KOBALTU(II) JAKO MODELE KOORDYNACJI  
JONU CYNKU W MIEJSCU AKTYWNYM  
DEHYDROGENAZY ALKOHOLOWEJ  
I NIEKTÓRYCH INNYCH ENZYMÓW**

ZINC(II), CADMIUM(II) AND COBALT(II)  
TRI-*TERT*-BUTOXYSILANETHIOLATE COMPLEXES  
AS MODELS OF THE ACTIVE SITE OF ALCOHOL  
DEHYDROGENASE AND SOME OTHER ENZYMES

**Anna Dołęga**

*Katedra Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej,  
ul. Narutowicza 11/12, 80-233, Gdańsk  
e-mail: anndoleg@pg.gda.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Dehydrogenaza alkoholowa (EC 1.1.1.1)
2. Tri-*tert*-butoxysilanotiolanowe kompleksy cynku(II) – badania strukturalne
3. Tri-*tert*-butoxysilanotiolanowe kompleksy kadmu(II) i kobaltu(II) – badania spektroskopowe oraz porównawcze badania strukturalne
4. Perspektywy

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

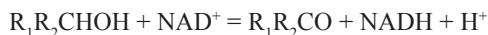


**dr inż. Anna Dołęga.** Po ukończeniu studiów na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej w 1989 pracowała przez rok w Laboratorium Badań Środowiskowych Instytutu Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (obecnie Katedra Analizy Środowiska Wydziału Chemii UG). Zajmowała się wówczas analizą składu pokrywy szkodników zbożowych metodą chromatografii gazowej. Pracę doktorską: „Tworzenie międzylańcuchowych wiązań sieciujących w DNA komórek ssaków i bakterii przez lek przeciwnowotworowy etopozyd”, której promotorem był prof. dr hab. inż. Jerzy Konopa, wykonała i obroniła w Katedrze

Technologii Leków i Biochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej w latach 1990–1996. Od roku 1997 pracuje w Katedrze Chemii Nieorganicznej Politechniki Gdańskiej. Jej aktualne zainteresowania badawcze to chemia koordynacyjna cynku w powiązaniu z jego funkcją biologiczną. Od strony eksperymentalnej zajmuje się syntezą i badaniem właściwości spektroskopowych kompleksów cynku i kadmu z ligandem silanotiolanowym. Jest współautorką 20 publikacji naukowych dotyczących tej tematyki.

## ABSTRACT

Zinc is ubiquitous in living organisms and second only to iron among the transition metals. Catalytic zinc sites have been found in all six classes of enzymes. Liver alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1, LADH, Fig. 1) is a zinc enzyme, which catalyzes reversible oxidation of alcohols to aldehydes utilizing as a co-substrate  $\text{NAD}^+$ . The mechanism of an action of the enzyme is summarized by an equation:



The coordination of zinc in LADH is usually described as pseudotetrahedral but there were several findings supporting penta-coordination of zinc during the catalytic cycle (Fig. 1 and 2) [1–7].

Studies on synthetic analogues of functional sites of the enzymes are used to elucidate the substrate – metal interactions [8]. Tri-*tert*-butoxysilanethiol which was used as a ligand to model cysteinate – metal ion centers has several advantageous features. It secures formation of mononuclear transition-metal complexes, exhibits resistance towards hydrolysis, and additionally its  $\text{pK}_a$  value is close to that of cysteine mercapto group [9–11]. Over 20 tri-*tert*-butoxysilanethiolate complexes with  $\text{MS}_2\text{NO}_2$  ( $\text{M}$  = transition metal) cores were synthesized to model the enzymatic centre of alcohol dehydrogenase, including complexes with water, methanol and ethanol (Fig. 5). Crystal structures of zinc(II), cobalt(II), cadmium(II), and manganese(II) complexes were determined and compared to the structures of LADH [12–17]. Structural features of zinc(II) and cadmium(II) complexes were analyzed (Fig. 9, Tab. 2) [15].

$^{113}\text{Cd}$  CP/MAS NMR spectra of tri-*tert*-butoxysilanethiolate cadmium(II) complexes were determined and compared with the  $^{113}\text{Cd}$  NMR spectra of the cadmium-substituted alcohol dehydrogenase. Solid state  $^{113}\text{Cd}$  NMR shifts of five-coordinate cadmium(II) complexes with the  $\text{CdNO}_2\text{S}_2$  coordination core were found to be identical to that of cadmium-substituted alcohol dehydrogenase in complex with  $\text{NAD}^+$  [15,18]. The equilibrium character of the reactions between bis(bis(tri-*tert*-butoxysilanethiolate) cadmium(II) and nitrogen ligands, with a low equilibrium constant of heteroleptic complex formation, were proved by  $^{113}\text{Cd}$  NMR studies in solution [18, 19].

The electronic absorption spectra of heteroleptic cobalt(II) complexes with tri-*tert*-butoxysilanethiolate and imidazole ligands were measured in methanol and solid state. The equilibrium reactions in the methanolic solutions of cobalt complexes were described on the basis of the analysis of charge transfer bands  $\text{S} \rightarrow \text{dCo}$  LMCT and the molecular structures of the obtained complexes [17]. EPR spectra revealed the high-spin configuration of the studied cobalt(II) compounds [17].

Quantum mechanical calculations performed on the model zinc complex indicate *ca* 10–20% decrease in enthalpy of ethanol deprotonation due to complexation with  $\text{Zn}^{2+}$  [15].

**Keywords:** zinc; cadmium; cobalt; silanethiolate complexes; crystal structure; NMR spectroscopy; UV-Vis spectroscopy

**Słowa kluczowe:** cynk; kadm; kobalt; kompleksy silanotiolanowe; struktura krystaliczna; spektroskopia NMR; Spektroskopia UV-Vis



## WYKAZ STOSOWANYCH SKROTÓW

acac	– acetyloacetonian
Bipy	– 4,4'-bipirydył
bmapa	– <i>N,N</i> -bis-2-(metylomerkpto)etylo- <i>N</i> -(6-amino-2-pirydylo-metylo)amina)
BNA(Cl)	– chlorek <i>N</i> -benzylonikotynamidu
CP/MAS	– połączenie technik CP i MAS pozwalające na polepszenie czułości i rozdzielczości pomiarów NMR w ciele stałym (ang. <i>Cross Polarization Magic Angle Spinning</i> )
EC 1.1.1.1	– symbol dehydrogenazy alkoholowej wg zasad klasyfikacji Międzynarodowej Unii Biochemii i Biologii Molekularnej
2-EtIm	– 2-etyloimidazol
[HB(timo-An) <sub>2</sub> (pzPh,Me)]Li	– [bis(2-merkpto-1- <i>O</i> -anizyloimidazol-2-ilo)(5-metylo-2-fenylopyrazol-1-ilo)]hydroboran litu
HymeIm	– 4(5)-hydroksymetyloimidazol
Im	– imidazol
2-iPrIm	– 2-izopropylimidazol
LADH	– dehydrogenaza alkoholowa z wątroby (ang. <i>Liver Alcohol Dehydrogenase</i> )
LK	– liczba koordynacyjna
1-MeIm	– 1-metyloimidazol
2-MeIm	– 2-metyloimidazol
NAD <sup>+</sup> /NADH	– dinukleotyd nikotynamidoadeninowy forma utleniona/zredukowana
Py	– pirydyna
Pik	– 2-metylopirydyna
Lut	– 3,5-dimetylopirydyna
TptBu,MeLi	– tris(5-metylo-3- <i>tert</i> -butylopirazol-1-ilo)hydroboran litu

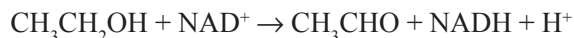
## WPROWADZENIE

Syntetyczna chemia bionieorganiczna zajmuje się syntezą i badaniem właściwości kompleksów nieorganicznych naśladujących jakościowo i ilościowo sposób wiązania jonów metali przez cząsteczkę białka. Przyjmuje się na ogół, iż do odtworzenia własności spektroskopowych metalu związanego z białkiem wystarczy poprawne odwzorowanie pierwszej sfery koordynacyjnej metalu [8]. W ostatnich kilku latach ukazało się wiele prac oryginalnych, a także przeglądowych [20–28] dotyczących syntezy modelowych kompleksów metali przejściowych.

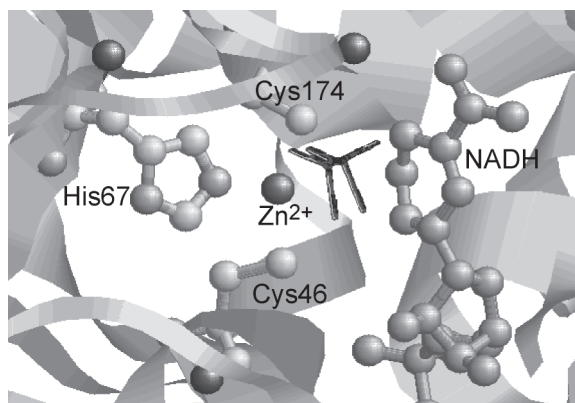
W Katedrze Chemii Nieorganicznej Politechniki Gdańskiej otrzymano i zbadano właściwości spektroskopowe szeregu silanotiolanowych kompleksów metali przejściowych, które ze względu na podobieństwo strukturalne mogą służyć jako modele miejsca aktywnego dehydrogenazy alkoholowej i niektórych innych enzymów. Otrzymany po raz pierwszy w 1962 roku tri-*tert*-butoksylsilanotiol [9] stanowi dogodny źródło liganda tiolanowego, gdyż wykazuje znacznie niższą kwasowość niż pozostałe silanotiole [10], a wiązanie Si–S osłonięte hydrofobowymi podstawnikami jest wyjątkowo odporne na hydrolizę [11]. Zastosowanie tri-*tert*-butoksylsilanotiolu pozwala otrzymać jedno- i wielocentrowe kompleksy metali grup głównych i metali przejściowych; badania strukturalne tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowych kompleksów metali zostały zapoczątkowane przez Wojnowskiego oraz Becker w latach 80. i 90. ubiegłego stulecia [29–36].

### 1. DEHYDROGENAZA ALKOHOLOWA (EC 1.1.1.1)

Średniołańcuchowa, cynko- i NAD-zależna dehydrogenaza alkoholowa (EC 1.1.1.1, LADH) katalizuje odwracalną reakcję odwodornienia alkoholi I- i II-rzędowych do odpowiednich aldehydów lub ketonów według równania:



Cząsteczka alkoholu ulegająca odwodornieniu wiąże się z jonem cynku w miejscu aktywnym enzymu i ulega sekwencyjnemu deprotonowaniu, a następnie odwodornieniu, przy czym przeniesienie jonu wodorkowego odbywa się na pierścień nikotynoamidowy związanej w pobliżu cząsteczki kofaktora  $\text{NAD}^+$  (Rys. 1, [28]).

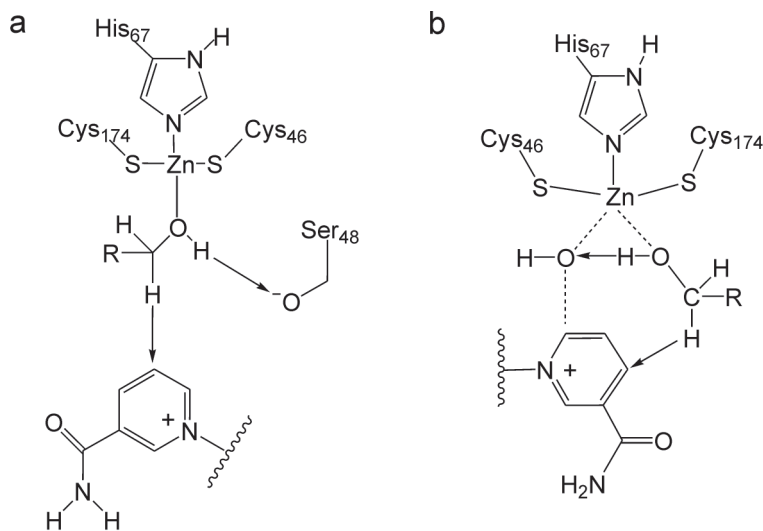


Rysunek 1. Centrum aktywne dehydrogenazy alkoholowej w kompleksie z cząsteczką NAD<sup>+</sup>. Z jonem cynku związana jest cząsteczka 2-metylopentano-2,4-diolu. Rysunek wykonano w programie RasMol przy użyciu pliku 1HET pobranego z bazy struktur białkowych PDB RCSB [2]

Figure 1. The active site of LADH complexed with NAD<sup>+</sup> and 2-methyl-2,4-pentandiol. The figure was prepared from the PDB RCSB entry 1HET [2] with the program RasMol

Obecnie w literaturze opisywane są dwa odmienne mechanizmy działania, zakładające inną sekwencję zdarzeń w toku reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę alkoholową. Sposób wiązania cynku w miejscu aktywnym i zachodzące reakcje przedstawiono schematycznie na Rysunku 2. Według klasycznego, podręcznikowego mechanizmu alkohol wiążąc się z jonem cynku wypiera związaną tam uprzednio cząsteczkę wody (Rys. 2a), a po reakcji woda zastępuje cząsteczkę aldehydu związaną z jonem cynku [1]. Przeniesienie protonu z cząsteczki alkoholu następuje bezpośrednio na zdeprotonowaną resztę seryny 48. Alternatywny mechanizm działania został zaproponowany w roku 2001 [2]. Na podstawie struktur dehydrogenazy alkoholowej sugerowano, iż cząsteczka wody pozostaje związana z jonem cynku w trakcie reakcji odwodornienia alkoholu i ulega deprotonowaniu, co jest typowe dla wielu enzymów zawierających jon cynku w miejscu aktywnym. Przeniesienie protonu z cząsteczki alkoholu odbywa się na związany z cynkiem jon hydroksylowy (Rys. 2b) [2]. W kolejnej pracy z 2007 roku postulowano, iż usunięcie cząsteczki wody z jonu cynku prowadzi wręcz do dezaktywacji enzymu [3].

W pracy Bakera i in. [4], na podstawie serii zbadanych struktur krystalicznych i molekularnych postulowano znaczące zmiany obejmujące pierwszą sferę koordynacyjną jonu cynku wywołane przemieszczaniem się zarówno samego jonu metalu, związanej z nim cząsteczki wody oraz substratu w trakcie reakcji. Te najnowsze wyniki również wskazują na przejściowe poszerzenie sfery koordynacyjnej metalu do liczby koordynacji 5 oraz podkreślają duże znaczenie dynamicznych zmian zachodzących w centrum aktywnym podczas reakcji [4].



Rysunek 2. Odwodnienie alkoholu w centrum aktywnym dehydrogenazy alkoholowej: a) wg [1]; b) wg [2]. Rysunek wykonano w oparciu o [28]

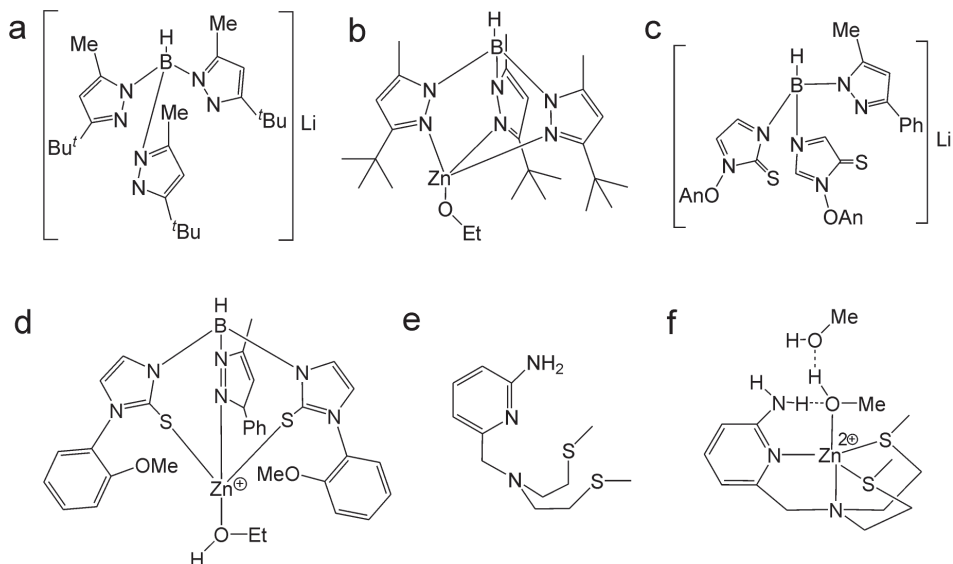
Figure 2. Zinc complexes postulated during the LADH-catalyzed dehydrogenation of alcohol: a) according to [1]; b) according to [2]. The figure was prepared according to [28]

Literatura dotycząca dehydrogenazy alkoholowej jest bardzo obszerna; np. w roku 2003 cały numer czasopisma *Chemico-Biological Interactions*, a w 2008 czasopisma *Cellular and Molecular Life Science* został poświęcony pracom oryginalnym i przeglądowym dotyczącym dehydrogenaz – głównie dehydrogenazy alkoholowej [5, 6]. Wiadomości dotyczące roli, budowy i mechanizmu działania dehydrogenazy można również znaleźć w obszernym opracowaniu „*Handbook of Metalloproteins*” [7] oraz pracy przeglądowej z 2010 roku [28].

## 2. TRI-*TERT*-BUTOKSYSILANOTIOLANOWE KOMPLEKSY CYNKU – BADANIA STRUKTURALNE

Synteza prostych modeli dehydrogenazy alkoholowej zajmowały się głównie trzy grupy badawcze: Vahrenkampa [37–40], Parkina [41, 42] i Berreau [43–46]. Vahrenkamp i Parkin używali do tego celu trójkleszczowych ligandów: trispirazoliolohydroboranów lub trismerkaptomidazolilohydroboranów litu, przy pomocy których otrzymywali kationowe kompleksy cynku(II). W grupie Berreau stosowano ligandy chelatujące, tworzące z cynkiem(II) kompleksy o koordynacji różnej jakościowo od koordynacji cynku w miejscu aktywnym dehydrogenazy alkoholowej (Rys. 3). W 2007 w pracy Becker i in. opisano pierwsze obojętne modele dehydrogenazy alkoholowej uzyskane przy użyciu tri-*tert*-butoksylanotiolanu jako liganda; były to tri-*tert*-butoksylanotiolanowe kompleksy manganu(II) z 2-metylo-

imidazolem i metanolem jako dodatkowymi ligandami [12]. W publikacji tej wykazano analogię między wiązaniem alkoholu w centrum aktywnym dehydrogenazy alkoholowej i w modelowym kompleksie, łącznie z wytworzeniem podobnego wiązania wodorowego przez grupę hydroksylową alkoholu [12].

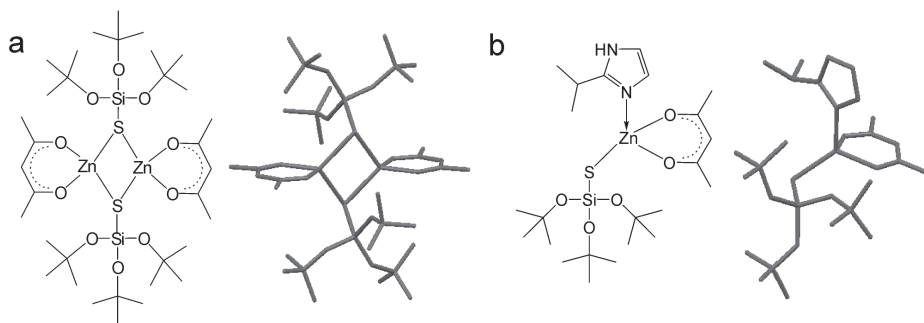
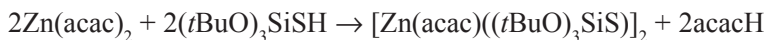


Rysunek 3. Chelatujące ligandy używane do syntezy modeli centrum aktywnego dehydrogenazy alkoholowej oraz ich kompleksy z cynkiem: a) tris(5-metylo-3-*tert*-butylopirazol-1-ilo) hydroboran litu  $\text{Tp}^{\text{Bu,Me}}\text{Li}$  [42]; b) kompleks cynku z anionem  $\text{Tp}^{\text{Bu,Me}}$  i anionem etanolanowym [42]; c) [bis(2-merkaptio-1-*O*-anizyloimidazol-2-ilo)(5-metylo-2-fenylopirazol-1-ilo)]hydroboran litu  $[\text{HB}(\text{tim}^{o\text{-An}})_2(\text{pz}^{\text{Ph,Me}})]\text{Li}$  [38]; d)  $[\text{Zn}\{\text{HB}(\text{tim}^{o\text{-An}})_2(\text{pz}^{\text{Ph,Me}})\}(\text{EtOH})]^+$  [38]; e) *N,N*-bis-2-(metylomerkaptio)etylo-*N*-(6-amino-2-pirydylo-metylo)amina *bmapa* [43]; f)  $[\text{Zn}(\text{bmapa})(\text{EtOH})]^{2+}$  [43]

Figure 3. Chelating *N,S*-ligands and their zinc complexes modeling the active site of LADH: a) lithium tris[(3-*tert*-butyl-5-methyl)pyrazolyl]hydroborate  $\text{Tp}^{\text{Bu,Me}}\text{Li}$  [42]; b)  $[\text{Zn}(\text{EtO})(\text{Tp}^{\text{Bu,Me}})]$  [42]; c) lithium bis[1-(*o*-anisyl)mercaptopimidazolyl][(5-phenyl-2-methyl)pyrazolyl]hydroborate  $[\text{HB}(\text{tim}^{o\text{-An}})_2(\text{pz}^{\text{Ph,Me}})]\text{Li}$  [38]; d)  $[\text{Zn}\{\text{HB}(\text{tim}^{o\text{-An}})_2(\text{pz}^{\text{Ph,Me}})\}(\text{EtOH})]^+$  [38]; e) *N,N*-bis-2-(methylthio)ethyl-*N*-(6-amino-2-pyridylmethyl)amine *bmapa* [43]; f)  $[\text{Zn}(\text{bmapa})(\text{EtOH})]^{2+}$  [43]

Pierwsze dane dotyczące chemii strukturalnej tri-*tert*-butoksylsiano-tiolanów cynku(II) zostały opublikowane w 1996 [36], zaś w roku 2001 opracowana została metoda syntezy tri-*tert*-butoksylsiano-tiolanów cynku, której potem wielokrotnie używano do ich otrzymywania [47]. Jako substrat dostarczający jonów metalu zastosowano wówczas acetyloacetonian cynku [48]. Acetyloaceton jest kwasem (tzw. pseudo kwasem, lub też C-H kwasem) nieznacznie słabszym od tri-*tert*-butoksylsiano-tiolu; wartość  $\text{p}K_a$  acetyloacetonu cytowana przez Pearsona i Dillona [49] wynosi  $1,0 \times 10^{-9}$ , natomiast wartość  $\text{p}K_a$  wyznaczona przez Wojnowskiego i Hermana [10] dla tri-*tert*-butoksylsiano-tiolu wynosi  $1,0 \times 10^{-8}$ . Spodziewano się zatem, iż w prostej reakcji wymiany acetyloacetonian w kompleksie z jodem cynku(II) będzie ulegał podstawieniu przez tiol. W trakcie prowadzonych eksperymentów okazało się,

iz – być może na skutek niewielkiej różnicy w kwasowości – możliwe jest otrzymanie mieszanych kompleksów cynku(II) zawierających zarówno jon acetyloacetonianowy jak i tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowy (Rys. 4) [47, 50]:



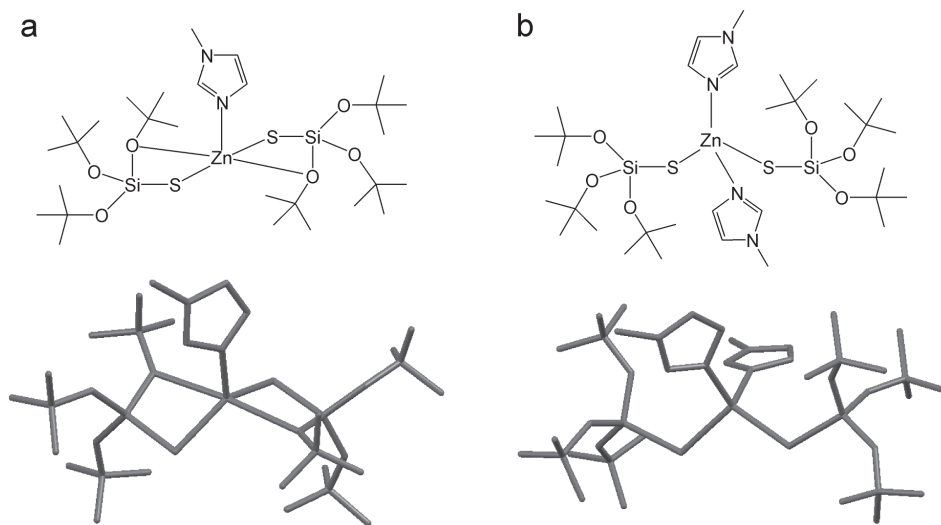
Rysunek 4. Wzory i struktury cząsteczkowe mieszanoligandowych kompleksów cynku z ligandami tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowym i acetyloacetonianowym: a)  $[\text{Zn}\{\mu\text{-SSi}(\text{OtBu})_3\}(\text{acac})_2]$  dla przejrzystości rysunku usunięto wszystkie atomy wodoru [47]; b)  $[\text{Zn}\{\text{SSi}(\text{OtBu})_3\}(\text{acac})(2\text{-iPrIm})]$  dla przejrzystości rysunku usunięto wszystkie atomy wodoru grup *tert*-butylowych [50]

Figure 4. Simplified formulas and molecular structures of heteroleptic zinc complexes with tri-*tert*-butoxysilanethiolate and acetylacetonate ligands: a)  $[\text{Zn}\{\mu\text{-SSi}(\text{OtBu})_3\}(\text{acac})_2]$ , all hydrogen atoms have been removed for clarity [47]; b)  $[\text{Zn}\{\text{SSi}(\text{OtBu})_3\}(\text{acac})(2\text{-iPrIm})]$ , hydrogen atoms of *tert*-butyl groups have been removed for clarity [50]

Zaletą zastosowanego układu jest dobra rozpuszczalność substratu zawierającego jon metalu w rozpuszczalnikach organicznych (aceton, metanol, acetonitryl) co umożliwiło prowadzenie reakcji w prostym układzie jednofazowym. W 2002 roku opisane zostały przez Becker struktury i widma UV-Vis tri-*tert*-butoksylsilanotiolanów kobaltu w aspekcie modelowania dehydrogenazy alkoholowej [13]. Rozpoczęto również próby syntezy heteroleptycznych, silanotiolanowych kompleksów cynku o strukturze zbliżonej do struktury miejsca aktywnego dehydrogenazy alkoholowej [14–16, 51–54]. Prace na temat syntezy, struktury i niektórych własności tych związków, opublikowane w latach 2004–2005 dotyczyły tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowych kompleksów cynku z dodatkowymi ligandami takimi jak pirydyna i jej pochodne oraz *N*-metyloimidazol (Rys. 5) [51–53].

Dokładne odwzorowanie pierwszej sfery koordynacyjnej cynku(II) w miejscu aktywnym dehydrogenazy uzyskano stosując jako ligandy (obok tri-*tert*-butoksylsilanotiolu) pochodne imidazolu, który może być uważany za analog reszty aminokwasowej histydyny koordynującej jon cynku w miejscu aktywnym dehydrogenazy. W reakcji acetyloacetonianu cynku z tri-*tert*-butoksylsilanotiolem i alkiłowymi pochodnymi imidazolu, prowadzonej w metanolu lub etanolu, otrzymano szereg kompleksów, w których z jonom cynku związane były dwie reszty tianolowe, czas-

teczka imidazolu oraz w niektórych przypadkach cząsteczki metanolu lub etanolu (Rys. 6a) [14, 15].

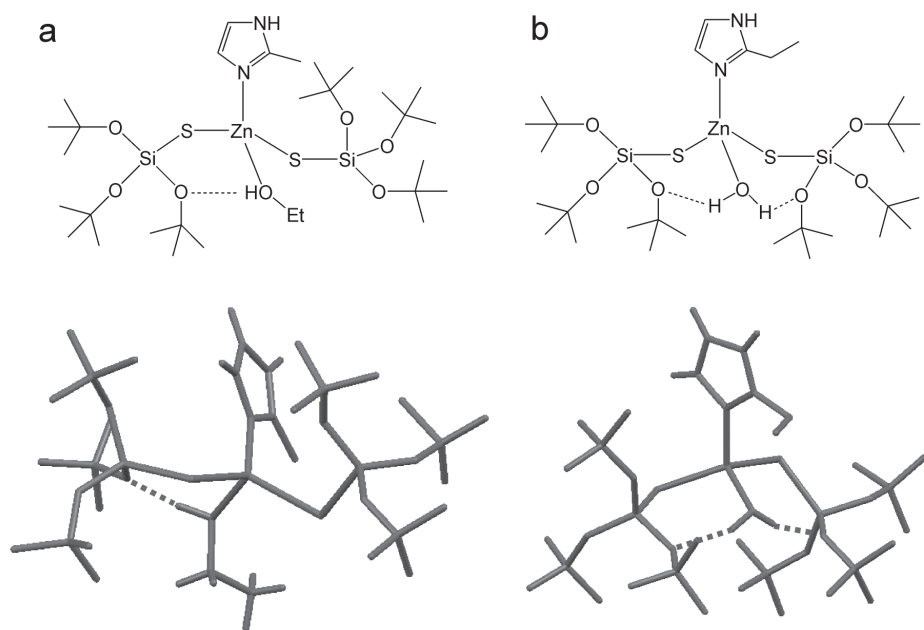


Rysunek 5. Wzory i struktury cząsteczkowe mieszanoligandowych kompleksów cynku z ligandami tri-*tert*-butoksylanotiolanowym i 1-metyloimidazolem: a)  $[Zn\{\mu\text{-SSi}(\text{OrBu})_3\}_2(1\text{-MeIm})]$ , dla przejrzystości rysunku usunięto wszystkie atomy wodoru [51], otrzymano również analogiczne kompleksy z pirydyną [52], 2-metylopirydyną [51], 3,5-dimetylopirydyną [53], 4,4'-bipirydylem [54], imidazolem [15], 2-metyloimidazolem [15, 16], 2-etyloimidazolem [14–16]; b)  $[Zn\{\mu\text{-SSi}(\text{OrBu})_3\}_2(1\text{-MeIm})_2]$ , dla przejrzystości rysunku usunięto wszystkie atomy wodoru [51], otrzymano również analogiczne kompleksy z pirydyną [51] oraz imidazolem [17]

Figure 5. Simplified formulas and molecular structures of heteroleptic zinc complexes with tri-*tert*-butoxysilanethiolate and 1-methylimidazole: a)  $[Zn\{\mu\text{-SSi}(\text{OrBu})_3\}_2(1\text{-MeIm})]$ , all hydrogen atoms have been removed for clarity [51], analogous complexes were described for pyridine [52], 2-methylpyridine [51], 3,5-dimethylpyridine [53], 4,4'-bipyridine [54], imidazole [15], 2-methylimidazole [15, 16], 2-ethylimidazole [14–16]; b)  $[Zn\{\mu\text{-SSi}(\text{OrBu})_3\}_2(1\text{-MeIm})_2]$ , all hydrogen atoms have been removed for clarity [51], analogous complexes were described for pyridine [51] and imidazole [17]

Zastosowanie odmiennego sposobu prowadzenia syntezy polegającego na heterofazowej reakcji tri-*tert*-butoksylanotiolu z wodną zawiesiną kompleksu cynku(II) z imidazolem, doprowadziło do otrzymania „spoczynkowego” modelu miejsca aktywnego dehydrogenazy, czyli kompleksu zawierającego, obok dwóch ligandów tiolanowych i 2-etyloimidazolu, związaną z jonem cynku cząsteczkę wody (Rys. 6b) [16]. W tej samej pracy opisano analogiczny, izostrukuralny związek kobaltu(II) i porównano kwasowość wody związanej z cynkiem(II) i kobaltem(II) na podstawie widm w podczerwieni otrzymanych kompleksów. Widma te wskazywały na nieznacznie zwiększoną entalpię wiązań wodorowych tworzonych przez wodę w cząsteczkach kompleksów kobaltu(II) [16]. Ma to prawdopodobnie związek z hiperaktywnością metaloenzymów, w których jon cynku(II) zastąpiono jonem kobaltu(II) – w tym dehydrogenazy alkoholowej [55, 56].





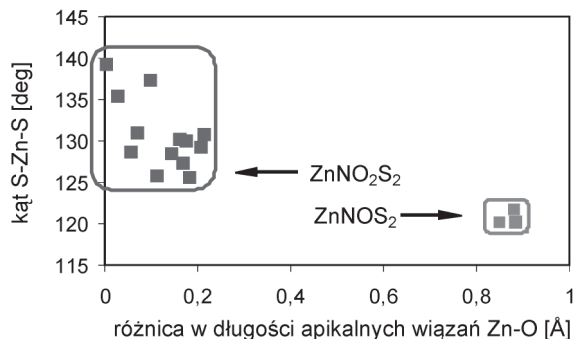
Rysunek 6. Wzory i struktury cząsteczkowe mieszanoligandowych kompleksów cynku z ligandami tri-*tert*-butoksylanotiolanowym, pochodnymi imidazolu oraz: a) etanolem  $\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(2-MeIm)(C_2H_5OH)\}$ , dla przejrzystości rysunku usunięto atomy wodoru grup alkilowych [15]; b) wodą  $\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(2-EtIm)(H_2O)\}$ , dla przejrzystości rysunku usunięto wszystkie atomy wodoru grup alkilowych [16]

Figure 6. Simplified formulas and molecular structures of heteroleptic zinc complexes with tri-*tert*-butoxy-silanethiolate, imidazole derivatives and: a) ethanol  $\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(2-MeIm)(C_2H_5OH)\}$ , hydrogen atoms of alkyl groups (despite ethanol) have been removed for clarity [15]; b) water  $\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(2-EtIm)(H_2O)\}$ , hydrogen atoms of alkyl groups have been removed for clarity [16]

Tri-*tert*-butoksylanotiolanowe kompleksy cynku(II) z dodatkowymi *N*-ligandami były pierwszymi, obojętnymi kompleksami tego metalu odwzorowującymi pierwszą sferę koordynacyjną cynku w miejscu aktywnym dehydrogenazy alkoholowej, łącznie z wiązaniem cząsteczki etanolu.

Przy użyciu dyfrakcji rentgenowskiej wyznaczono struktury około piętnastu kompleksów cynku(II) o liczbie koordynacyjnej metalu 4 lub 5, odtwarzających centrum aktywne dehydrogenazy alkoholowej (Tab. 1). Umożliwiło to przeprowadzenie analizy geometrii ligandów w kompleksach cynku(II) o rdzeniu  $ZnNO_2S_2$  i  $ZnNOS_2$ . Stwierdzono, iż kąt siarka–metal–siarka ulega znacznemu zmniejszeniu ( $6\text{--}20^\circ$ ) przy zmianie liczby koordynacyjnej (LK) cynku z  $LK = 5$  dla kompleksów o rdzeniu  $ZnNO_2S_2$  na  $LK = 4$  dla kompleksów o koordynacji  $ZnNOS_2$  (Rys. 7). Jedynym wyjątkiem od tej reguły był dwurdzeniowy kompleks cynku(II) z 4,4'-bipyrydylem [54]. Wykorzystując dane strukturalne zgromadzone w bazie krystalograficznej RCSB dla miejsca aktywnego dehydrogenazy alkoholowej stwierdzono, iż w większości przypadków jego geometria odpowiada tej, jaką posiadają zbadane

modelowe kompleksy cynku(II) z liczbą koordynacji 5 [15]. Na podstawie analizy danych strukturalnych uzyskanych dla kompleksów modelowych potwierdzono również, iż prawdopodobne jest oddziaływanie reszty glutaminianu 68 z jonem cynku(II) w miejscu aktywnym dehydrogenazy alkoholowej [15, 57].



Rysunek 7. Zależność kąta S–Zn–S od liczby koordynacyjnej cynku w mieszanoligandowych, jednorodzeniowych kompleksach typu  $ZnNO_2S_2$  i  $ZnNOS_2$  (według [15])

Figure 7. The dependency of S–Zn–S angles values on the LK number in the heteroleptic mononuclear  $ZnNO_2S_2$  and  $ZnNOS_2$  complexes (according to [15])

Tabela 1. Zestawienie heteroleptycznych tri-*tert*-butoksylanotiolanowych kompleksów cynku, kadmu i kobaltu o rdzeniu  $MNO_2S_2$  i  $MNOS_2$

Table 1. Heteroleptic zinc(II), cadmium(II) and cobalt(II) tri-*tert*-butoxysilanethiolate complexes with  $MNO_2S_2$  and  $MNOS_2$  coordination

wzór	M	koligand 1	koligand 2	$L_k$	Ref.
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(Py)\}$	Zn, Co	pirydyna	–	5	[52, 69]
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(Pik)\}$	Zn, Co	2-pikolina	–	5	[51, 69]
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(Lut)\}$	Zn, Cd, Co	3,5-lutydyna	–	5	[53, 66, 69]
$[\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(CH_3OH)\}$ $(\mu-Bipy) \{Zn[(tBuO)_3SiS]_2\}]$		4,4'-bipyrydył	–	4/5	[54]
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(1-Melm)\}$	Zn, Cd	1-metyloimidazol	–	5	[18, 51]
$\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(Im)\}$		imidazol	–	5	[15]
$\{Cd[(tBuO)_3SiS]_2(Im)\} \cdot CH_3OH$		imidazol	–	5	[15]
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(2-Melm)\} \cdot CH_3OH$ $\{M[(tBuO)_3SiS]_2(2-Melm)(CH_3OH)\}$	Zn, Cd, Co	2-metyloimidazol	metanol	4/5	[15, 17]
$\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(2-Melm)\}$ $\{Zn[(tBuO)_3SiS]_2(2-Melm)(C_2H_5OH)\}$		2-metyloimidazol	etanol	4/5	[15]
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(2-Melm)\} \cdot C_2H_5OH$	Zn, Cd	2-metyloimidazol	–	5	[15]
$\{M[(tBuO)_3SiS]_2(2-Melm)\} \cdot C_3H_7OH$	Zn, Cd	2-metyloimidazol	–	5	[14, 15]

Tabela 1. Ciąg dalszy  
Table 1. Continuation

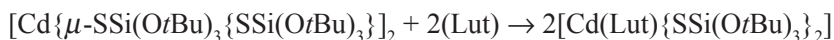
wzór	M	koligand 1	koligand 2	L <sub>k</sub>	Ref.
{M[( <i>t</i> BuO) <sub>3</sub> SiS] <sub>2</sub> (2-EtIm)}·CH <sub>3</sub> OH	Zn, Cd	2-etyloimidazol	–	5	[15]
{Zn[( <i>t</i> BuO) <sub>3</sub> SiS] <sub>2</sub> (2-EtIm)}·C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		2-etyloimidazol	–	5	[15]
{M[( <i>t</i> BuO) <sub>3</sub> SiS] <sub>2</sub> (2-EtIm)(H <sub>2</sub> O)}	Zn, Co	2-etyloimidazol	woda	4	[15]
{M[( <i>t</i> BuO) <sub>3</sub> SiS] <sub>2</sub> (HymeIm)}	Zn, Cd	hydroksymetyloimidazol	–	5	[70, 76]

Parametry strukturalne kompleksu cynku(II) z anionem tri-*tert*-butoksylanotiolanowym, 2-metyloimidazolem oraz etanolem zostały wykorzystane jako geometria startowa (Rys. 6a) w obliczeniach kwantowo-chemicznych. Wyniki obliczeń umożliwiły porównanie entalpii deprotonowania cząsteczki etanolu związanej z jonem cynku w biomimetycznym kompleksie z entalpią deprotonowania wolnej cząsteczki etanolu. W ten sposób wykazano, iż entalpia deprotonowania etanolu na skutek wiązania z jonem cynku obniża się o około 10–20% wartości wyjściowej (w zależności od użytej metody obliczeń) [15].

### 3. TRI-*TERT*-BUTOKSYSILANOTIOLANOWE KOMPLEKSY KADMU(II) I KOBALTU(II) – BADANIA SPEKTROSKOPOWE ORAZ PORÓWNAWCZE BADANIA STRUKTURALNE

Drugi nurt badań nad biomimetycznymi kompleksami metali przejściowych z ligandem tri-*tert*-butoksylanotiolanowym stanowią badania spektroskopowe. Jon cynku(II) jako metal o konfiguracji elektronowej d<sup>10</sup> nie wykazuje mierzalnych przejść elektronowych w obszarze światła widzialnego i jest określany jako „milczący” (ang. *silent*) spektroskopowo. Ze względu na niską naturalną zawartość izotopu o różnym od zera spinie jądrowym (<sup>67</sup>Zn ~ 4%) oraz jego moment kwadrupolowy (I = 5/2) pomiar i interpretacja widm NMR <sup>67</sup>Zn nie są proste. Pomimo tego, są one podejmowane od około 10 lat przy użyciu urządzeń wyposażonych w coraz silniejsze magnesy [58–62]. Jednak dotychczas dane dotyczące otoczenia cynku w białkach przy użyciu metod spektroskopowych uzyskiwano poprzez zastępowanie tego metalu kobaltem(II) (widma UV-Vis), kadmem(II) (<sup>113</sup>Cd NMR) oraz niekiedy innymi metalami [63, 64]. Badania takie prowadzono również dla dehydrogenazy alkoholowej [55, 65]. Ze względu na to iż możliwe jest otrzymanie tri-*tert*-butoksylanotiolanów cynku(II), kobaltu(II) i kadmu(II) o tej samej lub bardzo podobnej strukturze przestrzennej [16, 18, 51, 53, 66] założono iż możliwe będzie wykorzystanie kompleksów kadmu(II) do otrzymania wzorcowych widm <sup>113</sup>Cd NMR, a kompleksów kobaltu(II) do otrzymania wzorcowych widm UV-Vis.

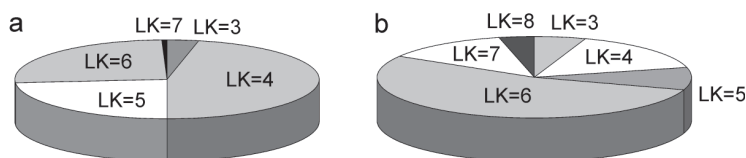
Pierwsze próby zastosowania spektroskopii  $^{113}\text{Cd}$  NMR do zbadania własności tri-*tert*-butoksylanotiolanowych kompleksów kadmu(II) z dodatkowymi ligandami – 3,5-lutydyną i 1-metyloimidazolem – opisano w roku 2007 [18, 19], kolejne zaś w roku 2009 [15]. Badania prowadzono we współpracy z zespołem profesora Marka Potrzebowskiiego kierującego Samodzielną Pracownią Badań Strukturalnych CBMiM PAN w Łodzi, z doktorem Eberhardem Maternem z Instytutu Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu w Karlsruhe, oraz profesorem Dietrichem Gudatem z Instytutu Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu w Stuttgarcie. Na podstawie analizy widm  $^{113}\text{Cd}$  NMR stwierdzono, iż heteroleptyczne tri-*tert*-butoksylanotiolany kadmu z dodatkowymi *N*-ligandami są w roztworach nietrwałe. W temperaturze pokojowej w roztworze istnieją głównie produkty dysocjacji tych kompleksów – homoleptyczny dimer  $[\text{Cd}\{\mu\text{-SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}\{\text{SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}]_2$  i odpowiednie ligandy azotowe [15, 18, 19]. W przypadku kompleksu z 3,5-dimetylopirydyną przeprowadzono pomiary widm  $^{113}\text{Cd}$  NMR dla różnych stężeń liganda azotowego w roztworach zawierających określone stężenie  $[\text{Cd}\{\mu\text{-SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}\{\text{SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}]_2$ . Pomiary te pozwoliły oszacować  $K_{\text{eq}}$  – równowagowy stosunek stężeń produktów i substratów reakcji kompleksowania tri-*tert*-butoksylanotiolanu kadmu 3,5-dimetylopirydyną w toluenie, wynosi on około  $\sim 1$  [19].



$$K_{\text{eq}} = \frac{([\text{Cd}(\text{Lut})\{\text{SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}]_2)^2}{([\text{Cd}\{\mu\text{-SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}\{\text{SSi}(\text{O}t\text{Bu})_3\}]_2) \times (\text{Lut})^2}$$

Wzorcowe, skorelowane ze strukturą kompleksów kadmu(II) przesunięcia  $^{113}\text{Cd}$  NMR zostały zatem zmierzone w ciele stałym przy użyciu połączonych technik CP/MAS [15, 18]. Porównanie przesunięć chemicznych  $^{113}\text{Cd}$  NMR uzyskanych dla tri-*tert*-butoksylanotiolanów kadmu(II) z danymi otrzymanymi dla dehydrogenazy alkoholowej, w której centrum aktywnym znajdował się jon  $^{113}\text{Cd}$ , pozwoliło po raz kolejny stwierdzić iż metal w centrum aktywnym tego enzymu jest prawdopodobnie pięciokoordynowany ( $\text{CdN}_2\text{OS}_2$ ) [15, 18, 65]. Należy tutaj podkreślić, iż dla niektórych z badanych kompleksów kadmu(II) uzyskano wartości przesunięć  $^{113}\text{Cd}$  NMR niemal tożsame ( $\pm 2$  ppm) z przesunięciem jonu kadmu związanego w centrum aktywnym dehydrogenazy alkoholowej [15, 18], przy skali przesunięć chemicznych jonu kadmu związanego z ligandami S-, N- oraz O-donorowymi wynoszącej około 1000 ppm [63].

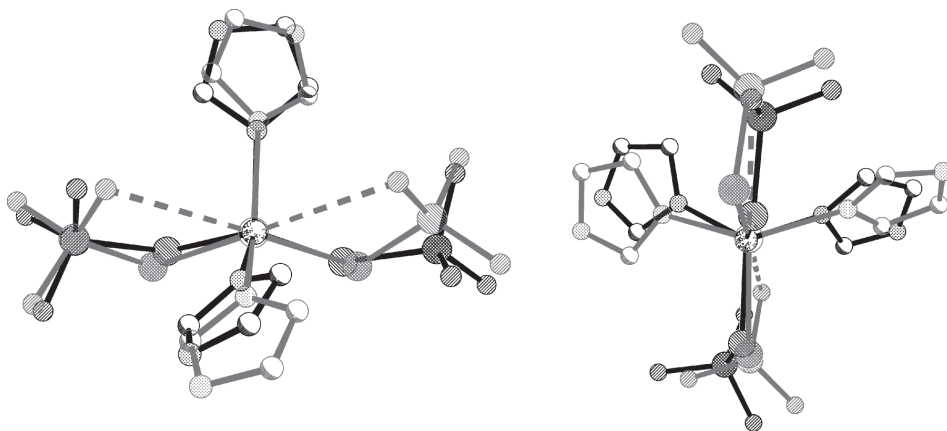
Dla wszystkich otrzymanych kompleksów kadmu podobnie jak w przypadku kompleksów cynku zostały wyznaczone struktury cząsteczkowe. Pozwoliło to na opisanie charakterystycznych różnic w geometrii kompleksów tworzonych przez jony cynku i kadmu. Jon kadmu jest większy i znacznie częściej niż cynk uzyskuje liczbę koordynacji 6 (Rys. 8).



Rysunek 8. Porównanie liczby kompleksów: a) cynku i b) kadmu o danej liczbie koordynacyjnej (LK) według bazy krystalograficznej CSD [67]. Na wykresie przedstawiono udziały w ogólnej liczbie kompleksów danego metalu

Figure 8. A comparison of a number of zinc and cadmium complexes with a given coordination number LK. Based on the CSD search [67]

Na Rysunku 9 oraz w Tabeli 2 zaprezentowano charakterystyczne odkształcenia od geometrii tetraedrycznej pojawiające się w czterowiązalnych heteroleptycznych kompleksach kadmu z ligandem tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowym. Duże, wynoszące nawet  $20^\circ$ , odchylenia kątów od wartości  $109^\circ$  w przypadku kompleksów kadmu(II), wynikają prawdopodobnie z wytworzenia dodatkowych słabych oddziaływań kadm–tlen, zaznaczonych na rysunku linią przerywaną. Jedynym tetraedrycznym, tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowym kompleksem kadmu o rdzeniu CdNOS<sub>2</sub>, który udało się jak dotąd otrzymać jest dwurdzeniowy kompleks z *trans*-1,2-di-4-pirydyloetylenem [68]. Na ogół, mimo zwiększania zawady sterycznej ligandów azotowych, jony kadmu wytwarzają dodatkowe wiązania Cd–O z ligandem tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowym i powstają kompleksy, w których liczba koordynacyjna kadmu(II) wynosi 5 [15, 18, 66].



Rysunek 9. Porównanie geometrii koordynacyjnej cynku i kadmu w kompleksach  $[M\{SSi(OBu^t)_3\}_2(1-Melm)_2]$ , gdzie M = Zn lub Cd [dane z 18, 51]

Figure 9. A comparison of coordination geometries of zinc and cadmium complexes  $[M\{SSi(OBu^t)_3\}_2(1-Melm)_2]$ , where M = Zn or Cd [data from 18, 51]

Tabela 2. Porównanie geometrii koordynacyjnej cynku i kadmu w kompleksach  $[M(C_3H_4N_2)_2\{SSi(OBu)_3\}_2]$ , gdzie M = Zn lub Cd [dane z 18, 51]  
 Table 2. A comparison of coordination geometries of zinc and cadmium complexes  $[M\{SSi(OBu)_3\}_2(1-MeIm)_2]$ , where M = Zn or Cd [data from 18, 51]

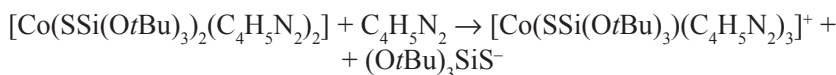
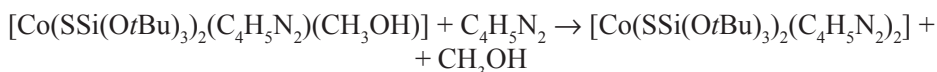
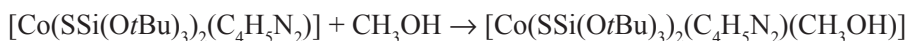
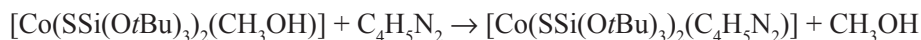
	$[Zn(1-MeIm)_2\{SSi(OBu)_3\}_2]$	$[Cd(1-MeIm)_2\{SSi(OBu)_3\}_2]^*$
Długość wiązania [Å]		
M1-N1	2,031(5)	2,284(4)
M1-N3	2,042(5)	2,284(4)
M1-S1	2,2880(18)	2,4907(15)
M1-S2	2,3132(17)	2,4907(15)
M1---O1	{4,032}	{3,227}
M1---O4	{3,665}	{3,227}
Kąt między wiązaniami [°]		
N1-M1-S1	116,47(15)	100,67(12)
N1-M1-S2	109,72(15)	105,11(12)
N3-M1-S1	109,14(14)	100,67(12)
N3-M1-S2	106,20(15)	105,11(12)
N1-M1-N3	107,7(2)	129,0(2)
S1-M1-S2	107,13(6)	117,66(7)

\* W przypadku kompleksu kadmu część symetrycznie niezależną stanowi pół cząsteczki zatem N3=N1#, O4=O1#.

W odróżnieniu od kompleksów kadmu(II), heteroleptyczne kompleksy kobaltu(II) i cynku(II) z ligandem tri-*tert*-butoksysilanotiolanowym i dodatkowymi *N*-ligandami wykazują duże podobieństwo strukturalne, a często izostrukturalność [51–53, 69, 70]. Wyniki porównawczych badań strukturalnych tri-*tert*-butoksysilanotiolanów cynku(II) i kobaltu(II) opublikowano w roku 2008 [16, 70], a następnie zmierzono i przeprowadzono interpretację absorpcyjnych widm elektronowych dla kompleksów kobaltu(II) o koordynacji  $CoNOS_2$ . Badanie pasm absorpcji w zakresie NIR i UV-Vis jest ważnym sposobem charakterystyki otoczenia jonów metalu w białku, a „spektroskopowo milczący” cynk jest w celu przeprowadzenia takiego badania zastępowany właśnie jonami kobaltu(II) [56, 64]. Widma kompleksów o znanej strukturze mogą zatem służyć jako wzorzec przydatny w interpretacji danych spektroskopowych otrzymanych dla białek cynkowych podstawionych kobaltem.

W roku 2002 po raz pierwszy zaproponowano tri-*tert*-butoksysilanotiolany kobaltu jako modele miejsca aktywnego dehydrogenazy alkoholowej i podjęto próby opisanie widm elektronowych tych związków [13], a w roku 2009 opisano strukturę

i widma elektronowe heteroleptycznego tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowego kompleksu kobaltu z imidazolem, 2-metyloimidazolem i metanolem jako dodatkowymi ligandami (Tab. 1) [17]. Pomiar widm UV-Vis zostały przeprowadzone zarówno w roztworze jak i w ciele stałym. Podobnie jak kompleksy kadmu(II), heteroleptyczne kompleksy kobaltu z tri-*tert*-butoksylsilanotiolanem i *N*-ligandami częściowo dysocjują w roztworze metanolem. Na podstawie widm elektronowych w obszarze UV zaproponowano szereg równowag ustalających się w roztworach tych kompleksów [17]:



Bardzo prawdopodobne jest, iż w przypadku roztworów tri-*tert*-butoksylsilanowych kompleksów cynku(II) z *N*-ligandami w metanolu ustalają się podobne równowagi gdyż można z tych roztworów wyizolować analogiczne związki kompleksowe [15, 17].

Aby skorelować otrzymane widma ze strukturą kompleksów kobaltu porównano widma elektronowe uzyskane podczas miareczkowania roztworów kompleksów roztworem liganda z widmami zmierzonymi w ciele stałym. Dla reakcji tri-*tert*-butoksylsilanotiolanu kobaltu(II) z 2-metyloimidazolem udało się scharakteryzować w przedziale UV dobrze wyodrębnione pasma przeniesienia ładunku S→dCo LMCT przy 332 nm, π1(imidazol)→Co(II) przy 296 nm, nO→dCo LMCT przy 272 nm (skoordynowana cząsteczka metanolu) oraz nO→dCo LMCT przy 252 nm (chelatuująca grupa *t*BuO). W zakresie widzialnym wyznaczone współczynniki ekstynkcji wskazywały na obecność w roztworach kompleksów o LK = 5 oraz tetraedrycznych [17]. Pomiar EPR, które przeprowadziła Profesor Julia Jezierska z Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, umożliwiły określenie stanu spinowego otrzymanych kompleksów kobaltu(II) – są to kompleksy wysokospinowe [17].

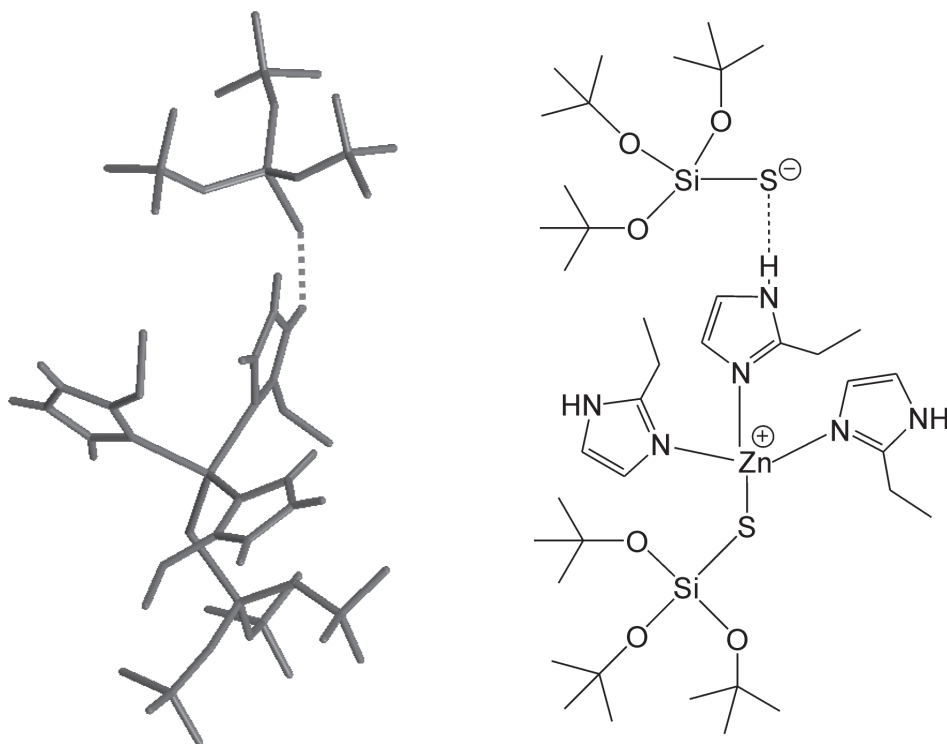
Zaproponowane w powyższych reakcjach związki kompleksowe kobaltu(II) z ligandem tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowym i pochodnymi imidazolu, lub też ich analogi zawierające jon cynku, zostały wyizolowane z roztworów w metanolu w postaci monokryształów i dla większości z nich została określona struktura kryształiczna i molekularna [15, 17].



#### 4. PERSPEKTYWY

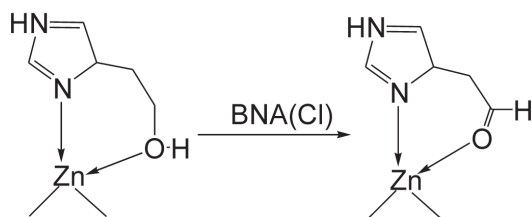
Związki koordynacyjne metali przejściowych z ligandem tri-*tert*-butoksylanotiolanowym wykazują dużą różnorodność tworzonych struktur. Kompleksy naśladowujące budowę miejsca wiązania cynku z białkami tworzą się spontanicznie w mieszaninach zawierających jony metali przejściowych i odpowiednie ligandy [15–17]. W roku 2009 opisano strukturę tetraedrycznego kompleksu, w którym jon cynku związany jest z grupami karbonyłowymi, siarką tiolanową i azotem pierścienia imidazolowego (Rys. 4b, [50]). Jest to pierwszy eksperymentalny model centrum aktywnego transferazy farnezyli – enzymu katalizującego przeniesienie 15-węglowego łańcucha farnezyli z difosforanu farnezyli na resztę cysteiny motywu CaaX różnych białek, m.in. białek *ras* [71]. Struktura tego kompleksu odpowiada jednej ze struktur centrum aktywnego transferazy farnezyli przewidywanych metodami obliczeniowymi kilka lat wcześniej [72]. Mechanizm działania transferazy farnezyli jest intensywnie badany, ponieważ enzym ten stanowi jeden z potencjalnych targetów chemioterapii przeciwnowotworowej, a jego inhibitory weszły do fazy badań klinicznych [73]. Otrzymano również w formie monokryształów jonowy kompleks cynku(II) z trzema ligandami imidazolowymi i anionem tri-*tert*-butoksylanotiolanowym, który odtwarza budowę centrum aktywnego metaloproteiny matrycowej w formie zymogenu (Rys. 10, [17]). Wydaje się bardzo prawdopodobne, iż przy użyciu tri-*tert*-butoksylanotiolu, lub też innych silanotiolu, możliwe jest uzyskanie wielu tiolanowych kompleksów cynku(II) analogicznych do tych, które występują w metaloenzymach cynkowych.

Obecnie realizowany jest kolejny etap badań nad modelami dehydrogenazy alkoholowej. Celem nowego projektu jest zastosowanie otrzymanych kompleksów jako katalizatorów reakcji odwodornienia alkoholi/uwodornienia aldehydów. Ze względu na kinetyczną labilność kompleksów cynku planowane jest prowadzenie utlenienia grupy  $\text{CH}_2\text{OH}$  związanej jednocześnie z ligandem azotowym i z cynkiem(II) jako fragmentem układu chelatującego (Rys. 11). Dotychczas stwierdzono, iż w badanych układach niezbędne jest, aby pierścień chelatu był sześciocłonowy, połączenia chelatu tworzyły się bowiem w kompleksach z histaminą [70] i hydroksyetylopirydyną [75], natomiast nie powstawały w przypadku użycia hydroksymetyloimidazolu (Rys. 12) [70, 76].



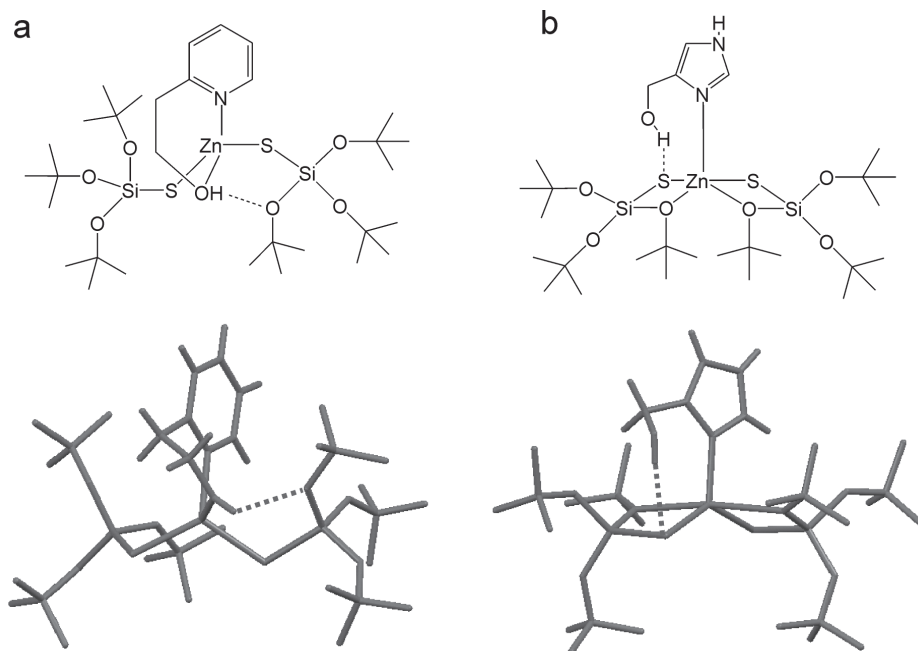
Rysunek 10. Wzór i fragment struktury jonowego kompleksu cynku:  $[Zn(2-EtIm)_3\{SSi(OtBu)_3\}] SSi(OtBu)_3$ . Przedstawiono fragment części symetrycznie niezależnej z oddziaływaniem kation kompleksowy – anion tri-*tert*-butoksylsilanotiolanowy. Dla przejrzystości rysunku usunięto atomy wodoru grup alkilowych [17]

Figure 10. A simplified formula and a molecular structure of an ionic zinc complex  $[Zn(2-EtIm)_3\{SSi(OtBu)_3\}] SSi(OtBu)_3$ . A fragment of the independent part with cation–anion interactions is shown. Hydrogen atoms of alkyl groups have been removed for clarity [17]



Rysunek 11. Realizowane badania

Figure 11. Research project currently in progress



Rysunek 12. Wzory i struktury cząsteczkowe mieszanoligandowych kompleksów cynku z ligandem tri-*tert*-butoksylanotiolanowym, oraz: a) hydroksyetylopirydyną [75, wyniki niepublikowane, strukturę ułożył mgr inż. Antoni Konitz z Katedry Chemii Nieorganicznej Politechniki Gdańskiej] b) hydroksymetyloimidazolem [70]. Dla przejrzystości rysunku usunięto atomy wodoru grup *tert*-butylowych

Figure 12. Simplified formulas and molecular structures of heteroleptic zinc complexes with tri-*tert*-butoxysilanethiolate and: a) hydroxyethylpyridine, hydrogen atoms of *tert*-butyl groups have been removed for clarity [75, data not published, the structure has been determined by Antoni Kontiz from the Department of Inorganic Chemistry, Gdansk University of Technology]; b) hydroxymethylimidazole, hydrogen atoms of *tert*-butyl groups have been removed for clarity [70]

## PODSUMOWANIE

W ramach prowadzonych badań opisano i porównano strukturę szeregu mieszanoligandowych kompleksów cynku(II), kadmu(II) i kobaltu(II) z tri-*tert*-butoksylanotiolanem, oraz pochodnymi pirydyny i imidazolu. Opisano kompleksy obojętne o koordynacji cynku  $ZnN_2S_2$ ,  $ZnNOS_2$ ,  $ZnN_2OS_2$ ,  $ZnNO_2S$  oraz kompleks kationowy  $ZnN_3S^+$ . Związki te odwzorowują koordynację cynku(II) w palcach cynkowych, dehydrogenazie alkoholowej, transferazie farnesyli (pierwszy taki model opisany w literaturze) i metaloproteinazach matrycowych. Przeprowadzono również analizę porównawczą struktur dehydrogenazy alkoholowej i szeregu modelowych kompleksów.

Wyznaczono przesunięcia  $^{113}Cd$  NMR kompleksów kadmu o koordynacji  $CdN_2S_2$  i  $CdN_2OS_2$  (po raz pierwszy dla tiolanowego kompleksu kadmu(II) o znanej

strukturze) i porównano te przesunięcia z danymi  $^{113}\text{Cd}$  NMR dla dehydrogenazy alkoholowej zawierającej  $^{113}\text{Cd}$  w miejscu aktywnym. Na podstawie absorpcyjnych widm elektronowych w zakresie UV kompleksów kobaltu(II) oraz struktur wyizolowanych kompleksów cynku(II) i kobaltu(II) zaproponowano szereg równowag ustalających się w metanolowych roztworach kompleksów cynku i kobaltu(II) z ligandem tri-*tert*-butoksylsylanotiolanowym i pochodnymi imidazolu.

Otrzymane wyniki, wskazują na obecność jonu cynku o liczbie koordynacji 5 w centrum aktywnym dehydrogenazy alkoholowej.

Ponadto porównano kwasowość wody związanej z jonami cynku i kobaltu(II) oraz oszacowano względną kwasowość etanolu związanego z jonem cynku w biomietycznych kompleksach odwzorowujących pierwszą sferę koordynacyjną metalu w miejscu aktywnym dehydrogenazy alkoholowej.

## PODZIĘKOWANIA

Autorka dziękuje anonimowemu recenzentowi/recenzentce za usunięcie niezręcznych, a niekiedy niepoprawnych, sformułowań z tekstu pracy. Opisane badania były częściowo finansowane przez MNiSW w ramach projektu badawczego N N204 274835.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] P.K. Agarwal, S.P. Webb, S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 4803.
- [2] R. Meijers, R.J. Morris, H.W. Adolph, A. Merli, V.S. Lamzin, E.S. Cedergren-Zeppezauer, *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**, 9316.
- [3] R. Meijers, H.-W. Adolph, Z. Dauter, K.S. Wilson, V.S. Lamzin, E.S. Cedergren-Zeppezauer, *Biochemistry*, 2007, **46**, 5446.
- [4] P.J. Baker, K.L. Britton, M. Fisher, J. Esclapez, C. Pire, M.J. Bonete, J. Ferrer, D.W. Rice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2009, **106**, 779.
- [5] *Chem.-Biol. Interact.* 2003, **143–144**, 1.
- [6] *Cell. Mol. Life Sci.* 2008, **65**, 3873.
- [7] R. Meijers, E. Cedergren-Zeppezauer, *Zn-dependent, medium-chain dehydrogenases/reductases*, [w:] Ed. A. Messerschmidt, W. Bode, M. Cygler, *Handbook of Metalloproteins*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 2004.
- [8] W. Kaim, B. Schwederski, *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 1994.
- [9] R. Piękoś, W. Wojnowski, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1962, **318**, 212.
- [10] W. Wojnowski, A. Herman, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1976, **425**, 91.
- [11] A. Herman, B. Becker, W. Wojnowski, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1979, **450**, 178.
- [12] A. Kropidłowska, J. Chojnacki, B. Becker, *J. Inorg. Biochem.*, 2007, **101**, 578.
- [13] B. Becker, A. Pładzyk, A. Konitz, W. Wojnowski, *Appl. Organomet. Chem.*, 2002, **16**, 517.
- [14] A. Dołęga, M. Wierczak, K. Baranowska, *Acta Crystallogr. Struct. Rep. Online*, 2007, **E63**, m1774.

- [15] A. Dołęga, K. Baranowska, D. Gudat, A. Herman, J. Stangret, A. Konitz, M. Śmiechowski, S. Godlewska, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2009, 3644.
- [16] A. Dołęga, A. Pladzyk, K. Baranowska, M. Wiczerzak, *Inorg. Chem. Commun.*, 2008, **11**, 847.
- [17] A. Dołęga, A. Pladzyk, K. Baranowska, J. Jezierska, *Inorg. Chim. Acta.*, 2009, **362**, 5085.
- [18] A. Dołęga, K. Baranowska, J. Gajda, S. Kaźmierski, M. Potrzebowski, *Inorg. Chim. Acta.*, 2007, **360**, 2973.
- [19] A. Dołęga, M. Walewski, *Magn. Reson. Chem.*, 2007, **45**, 410.
- [20] G. Parkin, *Chem. Rev.*, 2004, **104**, 699.
- [21] A. Otero, J. Fernández-Baeza, A. Antiñolo, J. Tejada, A. Lara-Sánchez, *Dalton Trans.*, 2004, 1499.
- [22] J. Weston, *Chem. Rev.*, 2005, **105**, 2151.
- [23] L.M. Berreau, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2006, 273.
- [24] L.M. Berreau, *Comment. Inorg. Chem.*, 2007, **28**, 123.
- [25] G. Parkin, *New J. Chem.*, 2007, **31**, 1996.
- [26] D. Coquière, S. Le Gac, U. Darbost, O. Sénèque, I. Jabin, O. Renaud, *Org. Biomol. Chem.*, 2009, **7**, 2485.
- [27] J.S. Pap, J. Kaizer, G. Speier, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 781.
- [28] A. Dołęga, *Coord. Chem. Rev.*, 2010, **254**, 916.
- [29] M. Wojnowska, W. Wojnowski, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1974, **403**, 179.
- [30] W. Wojnowski, M. Wojnowska, K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1985, **530**, 79.
- [31] W. Wojnowski, M. Wojnowska, K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1986, **535**, 56.
- [32] B. Becker, W. Wojnowski, L. Walz, K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, *Polyhedron*, 1990, **14**, 1659.
- [33] W. Wojnowski, B. Becker, L. Walz, K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, *Polyhedron*, 1992, **11**, 513.
- [34] W. Wojnowski, B. Becker, J. Sassmannshausen, K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1994, **620**, 1417.
- [35] B. Becker, K. Radacki, A. Konitz, W. Wojnowski, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1995, **621**, 904.
- [36] B. Becker, K. Radacki, W. Wojnowski, *J. Organomet. Chem.*, 1996, **521**, 39.
- [37] M. Tesmer, M. Shu, H. Vahrenkamp, *Inorg. Chem.*, 2001, **40**, 4022.
- [38] J. Seebacher, M. Shu, H. Vahrenkamp, *Chem. Commun.*, 2001, 1026.
- [39] M. Shu, R. Walz, B. Wu, J. Seebacher, H. Vahrenkamp, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2003, 2502.
- [40] M.M. Ibrahim, M. Shu, H. Vahrenkamp, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2005, 1388.
- [41] C. Kimblin, B.M. Bridgewater, D.G. Churchill, G. Parkin, *Chem. Commun.*, 1999, 2301.
- [42] C. Bergquist, G. Parkin, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 422.
- [43] L.M. Berreau, M.M. Makowska-Grzyska, A.M. Arif, *Inorg. Chem.*, 2001, **40**, 2212
- [44] M.M. Makowska-Grzyska, P.C. Jeppson, R.A. Allred, A.M. Arif, and L.M. Berreau, *Inorg. Chem.*, 2002, **41**, 4872.
- [45] L.M. Berreau, R.A. Allred, M.M. Makowska-Grzyska, A.M. Arif, *Chem. Commun.*, 2000, 1423.
- [46] K.J. Tubbs, E. Szajna, B. Bennett, J.A. Halfen, R.W. Watkins, A.M. Arif, L.M. Berreau, *Dalton Trans.*, 2004, 2398.
- [47] B. Becker, A. Dołęga, A. Konitz, W. Wojnowski, *Polyhedron*, 2001, **20**, 949.
- [48] M. Hassanein, I.F. Hewaidy, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 1970, **373**, 80.
- [49] R.G. Pearson, R.L. Dillon, *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 2439.
- [50] A. Dołęga, A. Farmas, K. Baranowska, A. Herman, *Inorg. Chem. Commun.*, 2009, **12**, 823.
- [51] A. Dołęga, B. Becker, J. Chojnacki, A. Konitz, W. Wojnowski, *Inorg. Chim. Acta.*, 2004, **357**, 461.

- [52] A. Dołęga, A. Ciborska, J. Chojnacki, M. Walewski, W. Wojnowski, *Thermochim. Acta*, 2005, **429**, 103.
- [53] A. Dołęga, A. Konitz, E. Baum, W. Wojnowski, *Acta Crystallogr. Struct. Rep. Online*, 2005, **E61**, m2582.
- [54] A. Dołęga, K. Baranowska, *Acta Crystallogr. Struct. Rep. Online*, 2008, **E64**, m616.
- [55] M.F. Dunn, H. Dietrich, A.K.H. MacGibbon, S.C. Koerber, M. Zeppezauer, *Biochemistry*, 1982, **21**, 354.
- [56] D.R. Holland, A.C. Hausrath, D. Juers, B.W. Matthews, *Protein Sci.*, 1995, **4**, 1955.
- [57] U. Ryde, *Protein Sci.*, 1995, **4**, 1124.
- [58] T. Vosegaard, U. Andersen, H.J. Jakobsen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 1970.
- [59] A.S. Lipton, M.D. Smith, R.D. Adams, P.D. Ellis, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 410.
- [60] A.S. Lipton, T.A. Wright, M.K. Bowman, D.L. Reger, P.D. Ellis, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 5850.
- [61] A.S. Lipton, P.D. Ellis, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 9192.
- [62] A.S. Lipton, M.M. Morlok, G. Parkin, P.D. Ellis, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 5184.
- [63] M.F. Summers, *Coord. Chem. Rev.*, 1988, **86**, 46.
- [64] J.E. Coleman, *Methods in Enzymology*, 1993, **227**, 16.
- [65] B.R. Bobsein, R.J. Myers, *J. Biol. Chem.*, 1981, **256**, 5313.
- [66] A. Dołęga, J. Chojnacki, A. Konitz, W. Komuda, W. Wojnowski, *Acta Crystallogr. Struct. Rep. Online*, 2006, **E62**, m636.
- [67] F.H. Allen, *Acta Crystallogr.*, 2002, **B58**, 380; Cambridge Structural Database, Wersja 5.30, listopad 2008, uaktualnienie 4 Września 2009.
- [68] J. Bąkiewicz, A. Kropidłowska, I. Turowska-Tyrk, B. Becker, *Acta Crystallogr. Struct. Rep. Online*, 2007, **E63**, m973.
- [69] B. Becker, A. Zalewska, A. Konitz, W. Wojnowski, *Polyhedron*, 2001, **20**, 2567.
- [70] A. Dołęga, K. Baranowska, A. Pladzyk, K. Majcher, *Acta Crystallogr.*, 2008, **C64**, m259.
- [71] K.E. Hightower, C.A. Fierke, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1999, **3**, 176.
- [72] S.F. Sousa, P.A. Fernandes, M.J. Ramos, *Biophys. J.*, 2005, **88**, 484.
- [73] N.M.G.M. Appels, J.H. Beijnen, J.H.M. Schellens, *Oncologist*, 2005 **10**, 565.
- [74] D. Jozic, G. Bourenkov, N.-H. Lim, R. Visse, H. Nagase, W. Bode, K. Maskos, *J. Biol. Chem.*, 2005, **280**, 9578.
- [75] a) A. Pladzyk, K. Januszewicz, K. Baranowska, A. Sikorski, A. Konitz, K. Majcher, A. Dołęga, *Zinc(II) and cobalt(II) tri-tert-butoxysilanethiolates with chelating 2-(2-hydroxyethyl)pyridine ligand*, XVIth International Winter School on Coordination Chemistry, Karpacz, 2008, 113;  
b) A. Dołęga, A. Pladzyk, K. Baranowska, *Tri-tert-butoksylosilanotiolany cynku(II) i kobaltu(II) z chelatującą 2-(2-hydroksyetylo)pirydyną jako dodatkowym ligandem. Struktura i widma elektronowe*. LII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, Łódź, 2009, 162.
- [76] A. Dołęga, K. Baranowska, Ż. Jarzabek, *Acta Crystallogr. Struct. Rep. Online*, 2008, **E64**, m1515.



**ZASTOSOWANIE CIECZY JONOWYCH  
W ENZYMATYCZNEJ SYNTEZIE ORGANICZNEJ  
Z WYKORZYSTANIEM KATALITYCZNYCH  
WŁAŚCIWOŚCI LIPAZY B  
Z *CANDIDA ANTARCTICA***

APPLICATION OF IONIC LIQUIDS  
IN ORGANIC SYNTHESIS CATALYZED BY  
*CANDIDA ANTARCTICA* LIPASE B

**Renata Kołodziejska, Lidia Jasińska,  
Aleksandra Karczmarska-Wódzka, Marcin Dramiński**

*Katedra i Zakład Chemii Ogólnej, Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK Toruń  
ul. Dębowa 3, 85-626 Bydgoszcz  
email: Renatakol@poczta.fm*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wstęp

1. Krótka charakterystyka lipazy B z *Candida antarctica*
2. Medium reakcji w enzymatycznej syntezie organicznej
  - 2.1. Wpływ właściwości cieczy jonowych na reakcję enzymatyczną
    - 2.1.1. Hydrofobowość
    - 2.1.2. Polarność
    - 2.1.3. Lepkość
3. Stabilność i aktywność lipazy B z *Candida antarctica* w cieczach jonowych
4. Selektywne właściwości lipazy B z *Candida antarctica* w cieczach jonowych

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---





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



**Dr Lidia Jasińska**, starszy wykładowca w Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w Katedrze i Zakładzie Chemii Ogólnej. Jej zainteresowania naukowe dotyczą oceny interakcji frakcji białkowych mleka i krótkich peptydów pochodzących z trawienia białek mleka z witaminą D oraz badanie pochodnych *N*-chromionych aminokwasów.



**Mgr Aleksandra Karczmarzka-Wódzka**, ukończyła chemię na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu. Pracę magisterską wykonała w Zakładzie Chemii Organicznej. Obecnie pracuje w Katedrze i Zakładzie Chemii Ogólnej Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. W ramach pracy doktorskiej zajmuje się enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



**Prof. dr hab. Marcin Dramiński**, kieruje pracą w Zakładzie Chemii Ogólnej Collegium Medicum. Interesuje się chemią i stereochemią syntez związanych z analogami nukleozydów pirymidynowych oraz zajmuje się dydaktyką przedkliniczną dla studentów medycyny i kierunków pokrewnych.

**ABSTRACT**

In organic reactions chemical catalysts as well as catalytic proteins are used. Biocatalysts have become a useful tool for organic chemists, allowing selective, one-step syntheses. Lipases, hydrolytic enzymes, have gained a considerable attention [1]. Lipase-catalyzed reaction proceeds according to the „bi-bi ping-pong” (Scheme 1) [16].

Catalytic potential of lipases allows to obtain a wide range of organic compounds by formation of C-C, C-N, and C-S bonds [6–8]. Enzyme-catalyzed reactions depend on change of basic-acidic properties or redox potential and an application of appropriate solvent can increase the control over chemical balance.

The solvent used as the reaction medium should allow enzyme stability, increase its activity and selectivity. In organic hydrophobic solvents, enzyme is more stable and selective, its activity, however, is reduced in comparison to polar solvents [6–8]. During a search for optimal solvent special attention was paid to a typical organic solvents – ionic liquids.

Ionic liquids are organic salts (Scheme 2) [9–13]. They do not mix with hydrophobic solvents such as hexane (Tab. 2) [9, 12, 13, 23] and their polarity is similar to low molecular weight alcohols (Tab. 3) [9, 12, 13, 22, 23, 32]. Because of their specific physical properties, ionic liquids may be optimal microenvironment for enzymes, influencing their activity and stability.

CALB is widely used in organic syntheses because of its adaptive capability (Tab. 1) as well as regio- and enantioselective properties [18–21]. Due to its exceptional conformation stability in ionic liquids, CALB can be successfully applied both in heterogeneous (Tab. 4) [22, 36] and homogeneous catalysis (Scheme 4, Tab. 5) [37]. The activity of CALB after incubation in ionic liquids is comparable or greater than in conventional organic solvents (Tab. 6, Fig. 1) [9, 13, 23, 38]. A solvent used as a reaction medium should help to maintain enzyme stabilizing its active conformation and protecting it from deactivating factors such as temperature and  $scCO_2$  (Tab. 7) [38–43].

Some ionic liquids constitute a bridge between conventional organic solvents and physiological enzyme environment. They provide exceptional activity of catalytic proteins, which allows efficient and selective reaction catalysis (Tab. 8) [6, 38–40, 43–61].

**Keywords:** ionic liquids, biocatalysis, lipase activity and stability, green chemistry

**Słowa kluczowe:** ciecze jonowe, biokataliza, aktywność i stabilność lipaz, „zielona” chemia

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

b	– butylo-
c	– kokosalkilo- (reszta alkilowa C <sub>10</sub> -C <sub>18</sub> pochodząca z oleju kokosowego)
CALB	– lipaza B z <i>Candida antarctica</i>
dm	– dimetylo-
de	– dietylo-
e	– etylo-
et	– etoksy-
h	– heksylo-
im	– kation imidazoliowy
m	– metylo-
mt	– metoksy-
n	– nonylo-
o	– oktylo-
p	– pentylo-
pr	– propylo-
py	– kation pirolidyniowy
pyr	– kation pirydyniowy
sb	– <i>sec</i> -butylo-
scCO <sub>2</sub>	– nadkrytyczny CO <sub>2</sub>
to	– trioktylo-
tos	– tosylo-

## WSTĘP

W reakcjach związków organicznych standardowo obok katalizatorów chemicznych stosuje się białka katalityczne. Biokatalizatory stały się doskonałym narzędziem w ręku chemika organika umożliwiając przeprowadzenie selektywnej reakcji w jednoetapowej syntezie. Szczególną popularność w syntezach organicznych zyskały enzymy hydrolityczne – lipazy [1].

Stereogeniczna struktura białka enzymatycznego umożliwia przeprowadzenie skomplikowanych reakcji z wysoką regio- i enancjoselektywnością bez stosowania dodatkowych procedur. Uzyskanie związków czystych optycznie, ma szczególne znaczenie, gdy enancjomer jest związkiem biologicznie czynnym a jego właściwości terapeutyczne są uzależnione od jego konfiguracji absolutnej [2–5].

Potencjał katalityczny lipaz pozwala na otrzymanie szerokiej gamy związków organicznych poprzez syntezę wiązań C-C, C-N i C-S [6–8]. Reakcje enzymatyczne przebiegają ze zmianą właściwości kwasowo-zasadowych lub potencjału redoks układu a odpowiednio dobrany rozpuszczalnik zwiększa możliwość sterowania równowagą chemiczną.

Lipazy wykazują dużą tolerancję wobec zmian strukturalnych reagentów (labilność konformacyjna – struktura substratu może odbiegać od naturalnych reagentów) i szerokie spektrum działania (pracują nie tylko w układach wodnych, ale również w układach hydrofobowych). Enzym jest bardziej selektywny w hydrofobowym rozpuszczalniku organicznym, ale jego aktywność jest mniejsza niż w odpowiednim rozpuszczalniku polarnym. Niekorzystne oddziaływania enzym–rozpuszczalnik spowodowane interakcją białkowych reszt enzymu z cząsteczkami rozpuszczalnika, mogą wywoływać duże zmiany konformacyjne białka katalitycznego, prowadzące do dezaktywacji enzymu [9–14].

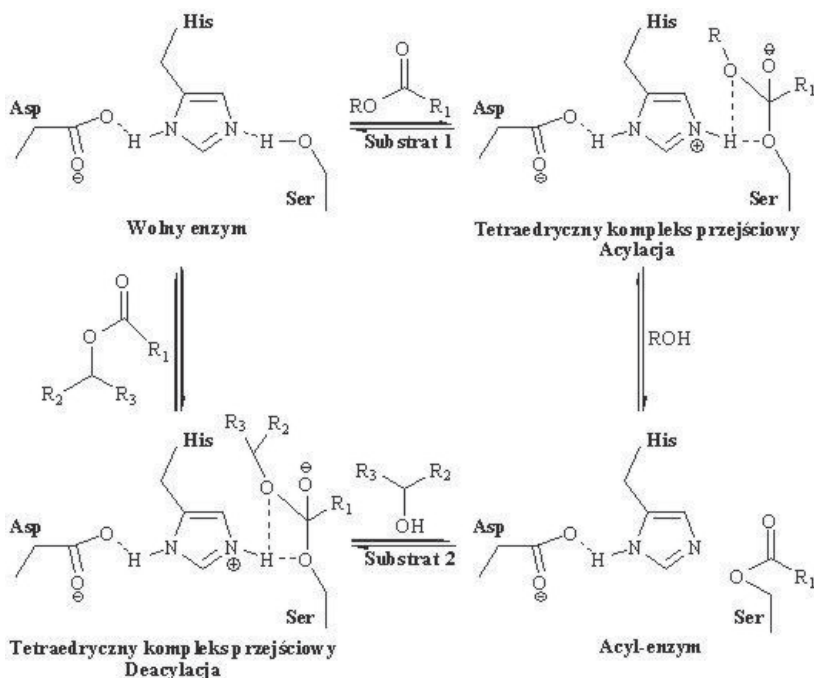
W ostatnim czasie w reakcjach enzymatycznych cieczy jonowe wypierają konwencjonalne rozpuszczalniki organiczne. Dzięki specyficznym właściwościom fizycznym niektóre cieczy jonowe zapewniają optymalne środowisko dla enzymu, zwiększając aktywność katalityczną i stabilność białka enzymatycznego [9–14]. Dodatkowo, niewątpliwą zaletą reakcji enzymatycznych prowadzonych w cieczach jonowych, jest aspekt ekologiczny – cieczy jonowe mają status przyjaznych dla środowiska (brak emisji do atmosfery) [15].

W pracy przedstawiono zastosowanie cieczy jonowej w katalizie enzymatycznej i wpływ zastosowanego medium na aktywność i stabilność lipazy B z *Candida antarctica* (CALB).

## 1. KRÓTKA CHARAKTERYSTYKA LIPAZY B Z *CANDIDA ANTARCTICA*

Lipazy (E. C. 3.1.1.3) zgodnie z zaleceniami Międzynarodowej Unii Biochemicznej zdefiniowano jako hydrolazy estrów glicerolowych.

Aktywność CALB podobnie jak większość lipaz zależy wyłącznie od apoenzymu. Centrum aktywne lipaz składa się z katalitycznej triady (Asp/Glu, His, Ser). Enzymatyczna reakcja katalizowana lipazą przebiega według mechanizmu „bi-bi ping-pong” (Schemat 1) [16].



Schemat 1. Mechanizm katalizy enzymatycznej  
Scheme 1. The mechanism of enzymatic catalysis

Z reguły centrum aktywne jest ukryte pod hydrofobowymi  $\alpha$ -helisowymi warstwami. Obecność  $\alpha$ -helisowej pętli pokrywającej miejsce aktywne tłumaczy potrzebę reorientacji na granicy faz. W tym celu do układu reakcyjnego w rozpuszczalnikach organicznych dodaje się 0,02–10% wody w stosunku do masy makrocząsteczki, jest to niezbędna ilość wody potrzebna do aktywacji międzyfazowej. Jedną z nielicznych lipaz, która nie potrzebuje aktywacji międzyfazowej (brak hydrofobowej pokrywy w konformacji tych enzymów) jest CALB [17].

Źródłem CALB są psychrofilne mikroorganizmy pochodzące z Antarktyki. Mikroorganizmy te wykształciły molekularne mechanizmy adaptacyjne umożliwiające im przeżycie w niskich temperaturach. Wyizolowana CALB jest jednym z nielicznych białek katalitycznych przystosowanych do niekorzystnego abiotycznego

czynnika środowiska, jakim jest obniżona temperatura. Optymalne pH pracy enzymu wynosi 7. Lipaza ta jest stabilna w alkalicznym środowisku (pH od 7–10). Termostabilność lipazy B z *Candida antarctica* jest mniejsza niż lipazy A z *Candida antarctica* – immobilizacja na stałym złożu chroni enzym przed działaniem wysokich temperatur [15].

Pełna charakterystyka CALB została przedstawiona w Tabeli 1 [18–21].

Tabela 1. Charakterystyka CALB  
Table 1. Characteristics of CALB

Masa molekularna (kD) <sup>19</sup>	33
Punkt izoelektryczny (pI) <sup>19</sup>	6,0
pH optymalne <sup>20</sup>	7
Aktywność (LU/mg) <sup>20a</sup>	435
Termostabilność w 70°C <sup>19a</sup>	15 [0]
pH stabilność <sup>19b</sup>	7–10
Aktywacja międzyfazowa <sup>20</sup>	Nie
Specyficzność w stosunku do triacyloglicerydów <sup>21</sup>	<i>sn-3</i>

<sup>a</sup> Aktywność po inkubacji w 60°C w 0,1 M tris buforze o pH = 7,0 po 20 min i [120 min].

<sup>b</sup> pH w którym zachowana jest 75% aktywności po inkubacji przez 20 h w temperaturze pokojowej.

CALB jest stereospecyficzna, w stosunku do acylogliceroli preferencyjnie hydrolizuje wiązania estrowe przy trzecim atomie węgla tzw. lipaza *sn-3* stereospecyficzna [18].

## 2. MEDIUM REAKCJI W ENZYMATYCZNEJ SYNTEZIE ORGANICZNEJ

Podczas planowania syntezy organicznej istotny jest wybór rozpuszczalnika zastosowanego jako medium reakcji. Podstawowym kryterium doboru rozpuszczalnika są jego właściwości fizyczne, które wpływają na aktywność, stabilność i selektywność enzymu.

Naturalną funkcją lipaz, kiedy one pracują w układach wodnych jest hydroliza acylogliceroli. W celu przeprowadzenia reakcji acylowania ilość wody w układzie reakcyjnych powinna być zredukowana do minimum (minimalna ilość wody niezbędna do aktywacji katalitycznej enzymu).

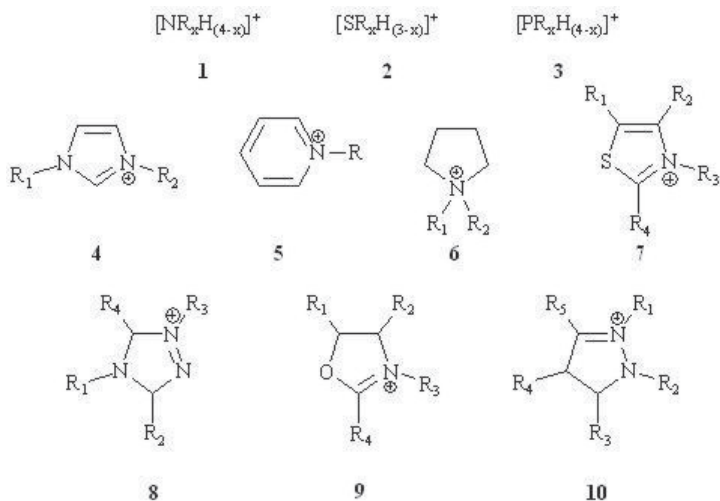
Generalnie w rozpuszczalnikach hydrofilowych enzym jest bardziej aktywny niż w hydrofobowym rozpuszczalniku organicznym, jednak wraz ze wzrostem polarności medium reakcji enzymatycznej zmniejsza się ilość wody niezbędna do aktywacji enzymu, ponieważ cząsteczki wody wchodzą w interakcję z polarnym roz-

puszczalnikiem. W konsekwencji niekorzystne zmiany konformacyjne katalizatora powodują spadek aktywności i selektywnych właściwości enzymu, a usunięcie warstwy monomolekularnej wody z białka enzymatycznego w rozpuszczalniku polarnym w większości przypadków jest przyczyną dezaktywacji katalizatora [22–24].

W rozpuszczalnikach hydrofobowych selektywność reakcji enzymatycznej jest lepsza niż w polarnych – niestety jednak czas pracy enzymu jest ograniczony. Rozpuszczalnik zastosowany jako medium reakcji powinien z jednej strony zapewnić stabilność enzymu, zwiększyć jego aktywność a z drugiej strony wpływać na poprawę selektywnych właściwości. Podczas poszukiwań optymalnego rozpuszczalnika zwrócono szczególną uwagę na nietypowe rozpuszczalniki organiczne – ciecze jonowe.

## 2.1. WPŁYW WŁAŚCIWOŚCI CIECZY JONOWYCH NA REAKCJĘ ENZYMATYCZNĄ

Ciecze jonowe są organicznymi solami, które składają się z dużego niesymetrycznego kationu (tetraalkiloamoniowy (1), trialkilosulfoniowy (2), tetraalkilofosfoniowy (3), *N,N*-dialkiloimidazoliowy (4), *N*-alkilopirydyniowy (5), *N,N*-dialkilo-pirolidyniowy (6), *N*-alkilotiazoliowy (7), *N,N*-dialkilotriazoliowy (8), *N*-alkilooksazoliowy (9), *N,N*-dialkilo-pirazoliowy (10)) i nieorganicznego lub organicznego anionu towarzyszącego ( $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{PF}_6^-$ ,  $\text{AlCl}_4^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SbF}_6^-$ ,  $\text{ZnCl}_4^{2-}$ ,  $\text{CuCl}_2^-$ ,  $\text{SnCl}_3^-$ ,  $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$ ,  $(\text{C}_2\text{F}_5\text{SO}_2)_2\text{N}^-$ ,  $(\text{FSO}_2)_2\text{N}^-$ ,  $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_3\text{C}^-$ ,  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$ ,  $\text{CH}_3\text{SO}_3^-$ ) [9, 13]. Strukturę powszechnie stosowanych cieczy jonowych przedstawiono na Schemacie 2.



Schemat 2. Struktura powszechnie stosowanych kationów cieczy jonowych

Scheme 2. Common cations of ionic liquids

Ciecze jonowe, które stosuje się w reakcjach organicznych mają niską temperaturę topnienia (są ciekłe w temperaturze pokojowej). Ze względu na swoje właściwości fizyczne, takie jak wysoka temperatura wrzenia, niska temperatura topnienia, mała prężność par (nielotne), niepalność, termiczna i chemiczna stabilność, stały się atrakcyjną alternatywą dla konwencjonalnych rozpuszczalników organicznych (Schemat 3) [9, 15]. Znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach życia:

- utrwalają tkanki miękkie (zamiennik formaliny),
- konserwują drewno i papier,
- są stosowane w technikach rozdzielczych (chromatografia, elektroforeza kapilarna),
- wykazują aktywność przeciwbakteryjną i grzybiczą,
- wykazują właściwości elektrostatyczne [15, 25–30].

Ciecze jonowe są nazywane projektowanymi rozpuszczalnikami, ponieważ istnieje możliwość modyfikacji zarówno w obrębie kationu jak i anionu, które umożliwiają otrzymanie rozpuszczalników o określonych właściwościach fizycznych z przeznaczeniem do konkretnej reakcji np.: enzymatycznej [9, 13, 15]. Odpowiednio dobrana ciecz jonowa może nie tylko zwiększyć aktywność katalizatora enzymatycznego, ale również skutecznie poprawić enancjoselektywność.



Schemat 3. Zalety cieczy jonowych

Scheme 3. The advantages of ionic liquids



### 2.1.1. Hydrofobowość

Podstawowym parametrem określającym stopień hydrofobowości rozpuszczalników organicznych jest  $\log P$ , jest to logarytm ze stałej podziału między dwie niemieszające się ciecze oktanol:woda. Wraz ze wzrostem wartości  $\log P$  wzrasta hydrofobowość rozpuszczalnika organicznego np.: dla heksanu  $\log P = 3,5$ . Reakcje enzymatyczne korzystniej jest prowadzić w rozpuszczalnikach hydrofobowych (wysoka wartość  $\log P$ ) niż hydrofilowych np.: w etanolu ( $\log P = -0,24$ ) [9, 12, 13, 23]. Po raz pierwszy parametr hydrofobowości dla cieczy jonowych został wyznaczony przez Kaar i in. [13, 23]. Grupa ta zbadała hydrofobowość imidazoliowych pochodnych cieczy jonowych określając stężenie formy kationowej, dzięki pomiarom wartości absorpcji przy długości fali 211 nm charakterystycznej dla pierścienia imidazolu. Eksperymentalnie zmierzone wartości  $\log P$  dla badanych cieczy jonowych były ekstremalnie małe ( $-2,90$  do  $-2,39$ ), co sugeruje, że badane ciecze są wysoce hydrofilowe. Większość cieczy jonowych nie miesza się z hydrofobowymi rozpuszczalnikami organicznymi takimi jak heksan, natomiast mieszają się np.: z dichlormetanem i tetrahydrofuranem.

W Tabeli 2 przedstawiono wartości  $\log P$  dla imidazolowych pochodnych cieczy jonowych w porównaniu z powszechnie stosowanymi rozpuszczalnikami organicznymi [7, 31].

Tabela 2. Wartości  $\log P$  dla cieczy jonowych i wybranych rozpuszczalników organicznych  
Table 2. Log  $P$  values for ionic liquids and selected organic solvents

Rozpuszczalnik	Log $P$
[Bmim][CH <sub>3</sub> COO]	$-2,77 \pm 0,11^7$
[Bmim][NO <sub>3</sub> ]	$-2,90 \pm 0,01^7$
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]	$-2,39 \pm 0,27^7$
Heksan	$3,5^{31}$
Tetrahydrofuran	$0,49^{31}$
Acetonitryl	$-0,33^{31}$

Przeprowadzenie reakcji enzymatycznej w silnie hydrofilowym środowisku powinno prowadzić do niekorzystnej zmiany konformacyjnej lipazy a tym samym jej dezaktywacji. Z reguły jednak lipazy są aktywne w cieczy jonowej, wynika z tego, że parametr  $\log P$  nie może w sposób jednoznaczny określić przydatności cieczy w reakcji enzymatycznej. Prawdopodobnie wartość  $\log P$  nie tylko zależy od stężenia formy kationowej (pierścień imidazolowy), ale również od anionu towarzyszącego i utworzonych par jonowych w obu fazach [9, 12, 13]. Z tego powodu wyznaczone doświadczalnie właściwości hydrofilowo-hydrofobowe cieczy jonowych

nie korespondują z właściwościami powszechnie stosowanych rozpuszczalników organicznych.

### 2.1.2. Polarność

Jedną z właściwości cieczy jonowych jest ich wysoka polarność. Polarność rozpuszczalników organicznych określa się na podstawie przesunięcia solwatochromowego wzorca (maksimum intensywnego niskoenergetycznego pasma absorpcji). W skali polarności Reichardt'a ( $E_T^N$ ) wzorcem jest fenolan 2,6-difenylo-4-(2,4,6-trifenylo-1-pirydyniowy). Przesunięcie maksimum absorpcji barwnika Reichardt'a jest spowodowany tworzeniem wiązań wodorowych pomiędzy rozpuszczalnikiem a tlenem w grupie fenolanowej wzorca. Według tej skali najbardziej polarna jest woda ( $E_T^N = 1$ ), a najmniej tetrametylosilan ( $E_T^N = 0$ ) [22, 23, 31, 32].

Na podstawie eksperymentalnie wyznaczonych wartości polarności wynika, że ciecze jonowe wykazują zbliżoną polarność do krótkołańcuchowych alkoholi (metanol, etanol, 1-butanol) – np. wartość współczynnika polarności cieczy jonowej [Bmim][PF<sub>6</sub>] jest identyczna jak dla etanolu (0,67). Tak wysokie wartości współczynnika  $E_T^N$  wynikają z jonowego charakteru cieczy jonowych [9, 12, 13, 23].

W Tabeli 3 przedstawiono wartości  $E_T^N$  dla niektórych cieczy jonowych.

Tabela 3. Wartości  $E_T^N$  dla cieczy jonowych i wybranych rozpuszczalników organicznych  
Table 3.  $E_T^N$  values for ionic liquids and selected organic solvents

Rozpuszczalnik	$E_T^N$
[Bmim][CH <sub>3</sub> COO]	0,57 <sup>23</sup>
[Bmim][NO <sub>3</sub> ]	0,65 <sup>23</sup>
[Bmim][CF <sub>3</sub> COO]	0,63 <sup>23</sup>
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]	0,67 <sup>23</sup>
[Mmtepy][CH <sub>3</sub> COO]	0,52 <sup>23</sup>
[Mmtepy][NO <sub>3</sub> ]	0,84 <sup>23</sup>
[Mmtepy][CF <sub>3</sub> COO]	0,37 <sup>23</sup>
[Mmtepy][CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]	0,91 <sup>23</sup>
[Mmtepy][CH <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]	0,78 <sup>23</sup>
Heksan	0,009 <sup>2</sup>
Tetrahydrofuran	0,207 <sup>33</sup>
Acetonitryl	0,47 <sup>33</sup>

Pomimo, iż wartości polarności imidazolowych pochodnych cieczy jonowych są porównywalne, to ich powinowactwo do wody jest zróżnicowane, ciecz jonowa [Bmim][PF<sub>6</sub>] jest na przykład tylko w 0,13% rozpuszczalna w wodzie, podczas gdy [Bmim][BF<sub>4</sub>] miesza się z wodą bez ograniczeń [9, 13].

Ciecze jonowe są polarne a mimo to mieszalność z wodą niektórych jest niewielka. Podobnie jak parametr hydrofobowości, wartość polarności  $E_T^N$  nie może być jednoznacznym wyznacznikiem przydatności cieczy jonowych w syntezie organicznej. Mają one inną budowę i ich właściwości fizyczne klasyfikują je do odrębnej grupy rozpuszczalników, dlatego wartość parametru polarności cieczy jonowych trudno porównać z wyznaczonymi wartościami  $E_T^N$  standardowych rozpuszczalników organicznych.

W celu przedstawienia pełnej charakterystyki właściwości fizycznych cieczy jonowych oprócz parametru hydrofobowości i polarności należy dodatkowo uwzględnić charakter nukleofilowy anionu towarzyszącego. W przypadku imidazolowych cieczy jonowych o porównywalnej polarności prawdopodobnie głównie charakter nukleofilowy anionu może kształtować właściwości cieczy jonowych: hydrofobowość, mieszalność z rozpuszczalnikami organicznymi, rozpuszczalność substancji organicznych i nieorganicznych [9, 12, 13, 34, 35].

Podczas doboru cieczy jonowej w enzymatycznej syntezie organicznej należy uwzględnić nukleofilowość anionu, ponieważ wraz ze wzrostem charakteru nukleofilowego jon towarzyszący silniej koordynuje się z miejscem aktywnym enzymu powodując niekorzystne zmiany konformacyjne katalizatora [9, 34, 35].

### 2.1.3. Lepkość

Ciecze jonowe w porównaniu z typowymi rozpuszczalnikami organicznymi są bardziej lepkie. Lepkość powszechnie stosowanych cieczy jonowych: 35–350 mPa·s, podczas gdy wartości lepkości w temperaturze 25°C dla toluenu i wody wynoszą odpowiednio 0,6 mPa·s i 0,9 mPa·s. Lepkość cieczy jonowych jest zbliżona do typowych olejów i rośnie wraz ze wzrostem długości łańcucha alifatycznego podstawnika formy kationowej i zależy od wielkości anionu towarzyszącego (dla imidazolowych cieczy jonowych wzrasta w szeregu: Cl<sup>-</sup> > PF<sub>6</sub><sup>-</sup> > BF<sub>4</sub><sup>-</sup> ≈ NO<sub>3</sub><sup>-</sup> > (CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N<sup>-</sup>). Wysoką lepkość ciecze jonowe zawdzięczają również tendencji do tworzenia wiązań wodorowych oraz międzycząsteczkowych oddziaływań van der Waalsa [9, 12, 13, 15].

Aktywność enzymów w cieczy jonowej jest uzależniona od ich lepkości, ponieważ lepkość limituje efektywny transfer masy (wzrost lepkości cieczy jonowych powoduje spadek aktywności enzymatycznej) [13].

#### 4. STABILNOŚĆ I AKTYWNOŚĆ LIPAZY B Z *CANDIDA ANTARCTICA* W CIECZACH JONOWYCH

Aktywność CALB podobnie jak większość enzymów uzależniona jest od trwałej, stabilnej konformacji białka enzymatycznego. Słabe wiązania np.: wodorowe, siły van der Waalsa, oddziaływania donorowo-akceptorowe, hydrofobowe stabilizują drugorzędową strukturę białka katalitycznego. Natomiast obecność monomolekularnej warstwy wody zapewnia aktywność katalityczną.

W rozpuszczalnikach hydrofilowych zmiany w obrębie drugorzędowej struktury białka enzymatycznego z reguły prowadzą do dezaktywacji. Przyczyną niekorzystnych zmian konformacyjnych jest tendencja do tworzenia wiązań wodorowych pomiędzy rozpuszczalnikiem a polipeptydowym łańcuchem białkowym i monowarstwą wody konieczną do aktywacji [13].

Nasuwa się pytanie jak w cieczach jonowych w układach hydrofilowych i polarnych lipaza np.: lipaza B z *Candida antarctica* może być aktywna?

Aktywność CALB jest zależna od właściwości cieczy jonowej zastosowanej jako medium reakcji. Z reguły utworzenie trwałej enzymatycznej zawiesiny w cieczy jonowej umożliwi przeprowadzenie reakcji katalitycznej. Na przykład w reakcji transestryfikacji maślanu etylu 1-butanolem CALB wykazała porównywalną aktywność w cieczy jonowej [Bmim][PF<sub>6</sub>] i [Bmim][BF<sub>4</sub>] jak w standardowym rozpuszczalniku *t*-butanolu, podczas gdy w cieczach jonowych: [Bmim][CH<sub>3</sub>CH(OH)COO], [Bmim][NO<sub>3</sub>] szybkość reakcji zmniejszyła się 10-krotnie. W cieczach [Bmim][CH<sub>3</sub>CH(OH)COO], [Bmim][NO<sub>3</sub>] aktywność enzymu uległa zmianie prawdopodobnie w wyniku niekorzystnych zmian konformacyjnych w obrębie miejsca aktywnego rozpuszczonej w nich lipazy. Zmiany w obrębie drugorzędowej struktury białka zbadano wykonując widma FT-IR. Uzyskane widma fragmentu białkowego w badanych cieczach porównano z analizą spektralną w wodzie. Otrzymane wyniki potwierdzają, że konformacja białka w cieczach jonowych z anionem towarzyszącym: CH<sub>3</sub>CH(OH)COO<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uległa zmianie (brak charakterystycznych elementów struktury białka natywnego). Wnikanie jonów w głąb białka enzymatycznego prowadzi do dezaktywacji w wyniku dysocjacji międzycząsteczkowych wiązań wodorowych i utworzeniu nowych słabych połączeń donorowo-akceptorowych [9, 13, 22, 36].

Cieczą jonową o właściwościach pośrednich pomiędzy [Bmim][PF<sub>6</sub>], [Bmim][BF<sub>4</sub>] a cieczami dezaktywującymi enzym była ciecz [E<sub>3</sub>mN][CH<sub>3</sub>SO<sub>4</sub>]. Zachowanie CALB w cieczy jonowej [E<sub>3</sub>mN][CH<sub>3</sub>SO<sub>4</sub>] nie korespondowało z pozostałymi wynikami, pomimo iż podobnie jak w cieczach [Bmim][CH<sub>3</sub>CH(OH)COO], [Bmim][NO<sub>3</sub>] enzym się rozpuszczał to stężenie produktu maślanu *n*-butylu po 24 h było wyższe. Stwierdzono podobieństwo widm drugorzędowej struktury CALB w [E<sub>3</sub>mN][CH<sub>3</sub>SO<sub>4</sub>] w podczerwieni i w wodzie, co świadczy o częściowym zachowaniu natywnej struktury białka enzymatycznego. Wydajność reakcji w przeciwieństwie do pozostałych cieczy była zależna od ilości użytego enzymu. W cieczy jono-

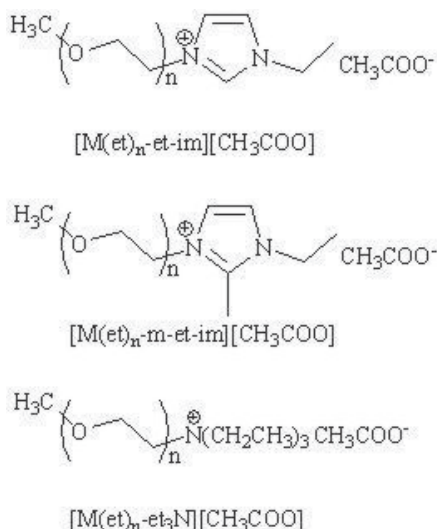
wej w 1 ml rozpuszcza się maksymalnie 3 mg lipazy, zastosowanie większej ilości biokatalizatora umożliwi przeprowadzenie reakcji z lepszą wydajnością (Tab. 4) [22, 36].

Tabela 4. Reakcja transestryfikacji maślanu etylu w obecności CALB w wybranych cieczach jonowych  
Table 4. Transesterification of ethyl butyrate with CALB in select ionic liquids

Rozpuszczalnik	Wydajność (% , 24 h)	Enzym tworzy zawiesinę w rozpuszczalniku
<i>t</i> -butanol	74	tak
[Bmim][BF <sub>4</sub> ]	78	tak
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]	71	tak
[Bmim][CH <sub>3</sub> CH(OH)COO]	5	nie
[Bmim][NO <sub>3</sub> ]	3	nie
[E <sub>3</sub> mN][CH <sub>3</sub> SO <sub>4</sub> ]	26	powyżej 3 mg/ml

Ciecze jonowe o charakterze hydrofilowym z anionami towarzyszącymi silnie nukleofilowymi (Cl<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, CN<sup>-</sup>) stanowią doskonałe medium dla polarnych substratów. Niestety poprzez tworzenie dodatkowych wiązań wodorowych w obrębie centrum aktywnego i jego pobliżu mogą prowadzić do dezaktywacji enzymu.

Zhao i in. przeprowadzili jednak reakcję enzymatycznej transestryfikacji wybranych hydrofilowych substratów w hydrofilowych cieczach jonowych z podstawnikami eterowymi (Schemat 4) w układzie homogenicznym [37].



Schemat 4 Struktura eterowych cieczy jonowych

Scheme 4. Structure of ether ionic liquids

Na wydajność katalizowanej reakcji w tych cieczach miała wpływ lepkość, kwasowość atomu węgla C-2 (np.: obecność grupy metylowej przy C-2 pierścienia imidazolowego redukuje tworzenie wiązań wodorowych) i stężenie formy anionowej (mniejsze stężenie formy anionowej wzrost aktywności lipazy). Najlepsze wyniki uzyskano stosując ciecz jonową z anionem towarzyszącym  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , który przy niewielkim stężeniu nie powodował niekorzystnych zmian w drugorzędowej strukturze białka (Tab. 5).

Tabela 5. Aktywność CALB w cieczach jonowych (wydajność maślanu butylu w %)   
 Table 5. CALB activity in ionic liquids (percent yield of butyl butyrate)

Rozpuszczalnik	CALB immobilizowana		CALB wolna		Rozpuszczalność wolnej CALB (mg/ml)	[anion] (M)
	5 h	24 h	5 h	24 h		
<i>t</i> -butanol	70	73	11	26	nie zaobserwowano	–
[Emim][CH <sub>3</sub> COO]	17	44	11	22	5	7,05
[Omim][CH <sub>3</sub> COO]	56	70	11	40	5	4,72
[M(et) <sub>2</sub> -et-im][CH <sub>3</sub> COO]	60	56	6	17	>5	4,65
[M(et) <sub>3</sub> -et-im][CH <sub>3</sub> COO]	42	61	21	46	>5	3,97
[M(et) <sub>2</sub> -b-im][CH <sub>3</sub> COO]	55	81	6	18	4	3,63
[M(et) <sub>7</sub> -et-im][CH <sub>3</sub> COO]	58	78	14	43	1	2,46
[M(et) <sub>3</sub> -m-et-mt-im][CH <sub>3</sub> COO]	42	48	13	26	1	3,31
[M(pr) <sub>3</sub> -et-im][CH <sub>3</sub> COO]	57	72	8	21	>5	3,48
[M(et) <sub>3</sub> -m-et-im][CH <sub>3</sub> COO]	34	62	5	22	1	3,79
[M(et) <sub>2</sub> -et <sub>3</sub> N][CH <sub>3</sub> COO]	25	36	10	31	4	4,56
[M(et) <sub>3</sub> -et <sub>3</sub> N][CH <sub>3</sub> COO]	41	51	17	46	>5	3,90

Warunki reakcji: 0,1 M maślanu etylu, 0,5 M 1-butanolu, 5,0 mg wolnej CALB lub 25 mg Novozym 435 w 1 ml roztworu w 50°C. W tabeli przedstawiono tylko wyniki dla cieczy jonowej z anionem towarzyszącym  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ .

Wynika stąd, że CALB może przeprowadzić reakcję katalityczną w cieczy jonowej zarówno w układzie heterogenicznym jak i homogenicznym. W celu zapewnienia optymalnych warunków dla enzymu należy uwzględnić kilka parametrów:

- hydrofobowość cieczy jonowej tzw. stopień powinowactwa do wody (modyfikacja w obrębie kationu),
- nukleofilowość anionu towarzyszącego,
- lepkość cieczy,
- stężenie formy anionowej,
- kwasowość atomów węgla formy kationowej (w przypadku pierścieni imidazolowych atomu C-2),

- obecność wody,
- wpływ substancji pomocniczych (np.: dodatek soli),
- stopień oczyszczenia cieczy jonowej.

Dobranie odpowiedniej cieczy jonowej nie jest zagadnieniem łatwym i nie do końca wiadomo, który z wymienionych parametrów ma szczególny wpływ na stabilność i aktywność lipaz w cieczy.

Wiadomo, że w hydrofobowym rozpuszczalniku organicznym, z wartością  $\log P$  powyżej dwóch, enzym ma trwałą „zamrożoną” konformację. Okazuje się, że lipazy w niektórych cieczach są bardziej stabilne pomimo ich wysokiej polarności i mniejszej od 2 wartości  $\log P$ .

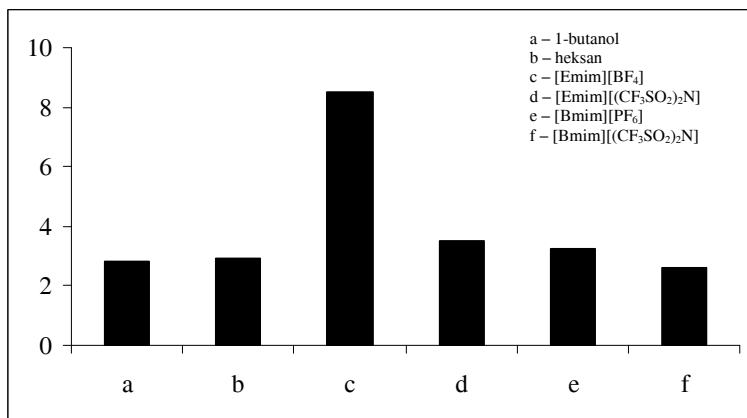
W Tabeli 6 przedstawiono aktywność immobilizowanej CALB (Novozym 435) w wybranych cieczach jonowych i porównano z aktywnością w rozpuszczalnikach organicznych po inkubacji w różnych temperaturach [13, 23].

Tabela 6. Aktywność lipazy Novozym 435 w cieczach jonowych i rozpuszczalnikach organicznych  
Table 6. Activity of Novozym 435 in ionic liquids and organic solvents

Ciecz jonowa	Rozpuszczalnik organiczny	Warunki inkubacji	Aktywność %
[Mmtepy][CH <sub>3</sub> COO]		Novozym 435 inkubowano przez 24 godziny w 30°C (enzym wyizolowano i zanalizowano w wodzie)	297
[Bmim][CH <sub>3</sub> COO]			202
[Mmtepy][CH <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]			176
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]			93
[Mmtepy][NO <sub>3</sub> ]			59
[Bmim][NO <sub>3</sub> ]			0
	Heksan		100
	Terahydrofuran		73
	Acetonitryl		68
	Dimetylosulfotlenek		55
	Butanol	0	
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]		Inkubowano przez 48 godzin w 50°C	67
	Tetrahydrofuran		21
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]		Inkubowano przez 120 godzin w 70°C	20
	Oktan		3

Podobnie podczas inkubacji CALB (Novozym 525) w 50°C z 2% (v/v) ilością wody, Lozano i in. [38] zaobserwowali wzrost aktywności lipazy w cieczach jonowych w porównaniu do standardowych rozpuszczalników organicznych. Najlepsze

wyniki uzyskali inkubując lipazę w najbardziej hydrofilowej cieczy jonowej [Bmim]-[BF<sub>4</sub>]. Wzrost hydrofobowych właściwości cieczy powodował obniżenie  $t_{1/2}$  [h] (Wykres 1) [9, 38].



Wykres 1. Wartość  $t_{1/2}$  [h] CALB w różnych rozpuszczalnikach organicznych i cieczach jonowych (zawartość 2% v/v wody)

Figure 1. Half-life times ( $t_{1/2}$  [h]) of CALB in different organic solvents and ionic liquids (2% v/v water content)

Ci sami autorzy Lozano i in. przeprowadzili reakcję enzymatycznej transestryfikacji w układzie ciecz jonowa:nadkrytyczny CO<sub>2</sub> (supercritical CO<sub>2</sub>– scCO<sub>2</sub>) [39]. Nadkrytyczny CO<sub>2</sub> z jednej strony jest bardzo dobrym rozpuszczalnikiem dla większości związków organicznych, z drugiej jednak wpływa dezaktywująco na białko katalityczne powodując lokalne zmiany pH. W dwufazowym układzie ciecz jonowa/scCO<sub>2</sub> zaobserwowano podczas reakcji syntezy maślanu butylu oraz rozdziału kinetycznego 1-fenyletanolu wzrost aktywności i selektywnych właściwości CALB. Zastosowane cieczy jonowe [Emim][(CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N] i [Bmim][(CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N] stanowiły swoisty ciekły nośnik, który chronił CALB przed dezaktywującymi właściwościami scCO<sub>2</sub> i wysokiej temperatury. Aktywność enzymu rosła wraz ze wzrostem temperatury, ponieważ ciecz jonowa chroniła enzym przed dezaktywacją a zmniejszenie gęstości scCO<sub>2</sub> umożliwiło swobodny transfer substratu do miejsca aktywnego lipazy (Tab. 7) [9, 13, 14, 38].



Tabela 7. Aktywność CALB w reakcji syntezy maślanu butylu w cyklicznym układzie [Bmim][(CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N]/scCO<sub>2</sub>

Table 7. Activity of CALB dissolved in [Bmim][(CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N] for continuous butyl butyrate synthesis in scCO<sub>2</sub>

Temp./°C	Ciśnienie/MPa	CO <sub>2</sub> gęstość/gm <sup>-1</sup>	Aktywność (U/mg enzymu)	Selektywność (%)
40	15,0	0,792	44 ± 2,1	96 ± 0,8
50	12,5	0,618	62 ± 3,8	98 ± 0,5
100	15,0	0,336	71 ± 3,9	99 ± 0,9

W reakcji enzymatycznej niektóre ciecze jonowe stanowią idealne mikrośrodowisko dla enzymu, prowadząc do bardziej zwartej konformacji zdolnej wykazywać dużą aktywność i stabilność. Ciecz jonowa immobilizując enzym poprzez wiązania wodorowe, siły van der Waalsa, oddziaływania jonowe stabilizuje aktywną konformację białka katalitycznego nawet w niekorzystnych, dezaktywujących warunkach (wysoka temperatura, scCO<sub>2</sub>) [38–43].

#### 4. SELEKTYWNE WŁAŚCIWOŚCI LIPAZY B Z *CANDIDA ANTARCTICA* W CIECZACH JONOWYCH

CALB jest szeroko stosowana w syntezach organicznych ze względu na swoje możliwości adaptacyjne oraz regio- i enancjoselektywne właściwości. Lipaza ta umożliwia przeprowadzenie reakcji enancjoselektywnej zarówno w wyniku rozdziału kinetycznego mieszaniny racemicznej jak również enzymatycznej modyfikacji związku achiralnego.

Ciecze jonowe stanowią swoisty pomost pomiędzy konwencjonalnymi rozpuszczalnikami organicznymi a fizjologicznym układem, w którym pracują enzymy. Zapewniają wyjątkową stabilność konformacyjną białka katalitycznego, która umożliwia przeprowadzenie skutecznej i selektywnej reakcji katalitycznej. Pierwsza wzmianka literaturowa dotycząca syntezy enzymatycznej w cieczy jonowej z zastosowaniem CALB jako katalizatora pojawiła się w roku 2000. Sheldon i in. przeprowadzili reakcję transestryfikacji, amonolizy i utlenienia. Uzyskane wyniki były porównywalne lub lepsze niż w konwencjonalnych rozpuszczalnikach organicznych. Na przykład w reakcji kwasu oktanowego z amoniakiem w [Bmim][BF<sub>4</sub>] w 40°C otrzymano ilościowo amid w ciągu czterech dni podczas, gdy na uzyskanie całkowitej konwersji w ketonie metylowo-izobutylovym potrzeba było 17 dni [6].

Ciecze jonowe stanowią doskonałe medium reakcji umożliwiając przeprowadzenie regio- i enancjoselektywnej enzymatycznej syntezy organicznej. Na przykład w reakcji transestryfikacji D-glukozy w cieczach jonowych CALB selektywnie wprowadza acyl na pierwszorzędową grupę wodoroflenową (6-O-acylo-D-glukoza)

[37, 44]. Podobnie regioselektywne acylowanie identycznych chemicznie grup OH etano-1,2-diolu prowadzi do uzyskania mono pochodnej z dużą wydajnością [45].

W cieczech jonowych możliwa jest enancjoselektywna synteza, w której CALB preferencyjnie acyluje jeden z enancjomerów. W reakcji rozdziału kinetycznego mieszanin racemicznych alkoholi otrzymuje się produkt o określonej konfiguracji [39, 40, 44, 46–51]. Na przykład rozdziel kinetyczny (R, S)-1-fenylotanolu prowadzi do uzyskania czystego enancjomerycznie R-estru [39, 40, 46, 49]. W celu określenia czystości enancjomerycznej wyekstrahowanych z cieczy jonowych produktów stosuje się najczęściej chiralną wysokosprawną chromatografię.

W cieczech jonowych obok reakcji transestryfikacji [6, 37–40, 43–56] CALB katalizuje również reakcje np.: estryfikacji [57, 58], polimeryzacji [59], syntezy amidu [6, 60] i hydrolizy [61].

W Tabeli 8 przedstawiono przykłady syntez z wykorzystaniem katalitycznych właściwości CALB w cieczech jonowych.

Tabela 8. Przykłady zastosowań CALB w cieczech jonowych  
Table 8. Example of a use of CALB in ionic liquids

Ciecz jonowa	Typ reakcji enzymatycznej	Odnośnik literaturowy	Reakcje regioselektywne
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]	Transestryfikacja (synteza maślanu butylu, oktanianu butylu i 2-propylu) Amonoliza (synteza amidu kwasu oktanowego) Utlenienie (epoksydacja cykloheksenu)	[6]	
[M(et) <sub>3</sub> -et-im][CH <sub>3</sub> COO]	Transestryfikacja (synteza estru z kwasu betulinowego i estru metylowego kwasu fiałowego)	[37]	
[Emim]BF <sub>4</sub> ; [Emim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]	Transestryfikacja (synteza maślanu butylu)	[38]	
[Emim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]/scCO <sub>2</sub> ; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]/scCO <sub>2</sub>	Transestryfikacja (synteza maślanu butylu)	[39]	
[Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]/scCO <sub>2</sub>	Transestryfikacja (synteza octanu oktylu)	[40]	
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Emim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Emim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]	Transestryfikacja (synteza maślanu butylu)	[53]	
[M(et) <sub>3</sub> -et-im][CH <sub>3</sub> COO]/t-butanol; [M(et) <sub>3</sub> -et <sub>3</sub> N][CH <sub>3</sub> COO]/t-butanol	Transestryfikacja (acylowanie D-glukozy kwasami tłuszczowymi)	[37]	
[Emim][BF <sub>4</sub> ]; [Pmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [sBmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bpyr][BF <sub>4</sub> ]; [Ppyr][BF <sub>4</sub> ]; [Metmim][BF <sub>4</sub> ]	Transestryfikacja (acetylowanie D-glukozy)	[44]	
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]	Transestryfikacja (acylowanie etano-1,2-diolu)	[45]	
[CpetmN][CH <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]	Transestryfikacja (gliceroliza triglicerydów)	[50]	
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Emim][PF <sub>6</sub> ]; [Hmim][BF <sub>4</sub> ]	Transestryfikacja (metanoliza oleju słonecznikowego)	[52]	

Tabela 8. Ciąg dalszy  
Table 8. Continuation

Ciecz jonowa	Typ reakcji enzymatycznej	Odnosnik literaturowy	
[MtoN][CF <sub>3</sub> COO]/scCO <sub>2</sub>	Transestryfikacja (butanoliza triacyloglicerolu)	[43]	
[Omim][PF <sub>6</sub> ]	Transestryfikacja (synteza O-acetylowych pochodnych cyjanohydrynu)	[54]	
[Bmpyr][N(CN) <sub>2</sub> ]/n-heksan	Transestryfikacja (synteza octanu izoamylu)	[56]	
[Omim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bdmim][PF <sub>6</sub> ]; [Hmim][PF <sub>6</sub> ]; [Omim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Hmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Emim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Hmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bdmim][BF <sub>4</sub> ]; [Emim][BF <sub>4</sub> ]; [Omim][N(CN) <sub>2</sub> ]; [Bmim][N(CN) <sub>2</sub> ]; [Bmim][C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> SO <sub>4</sub> ]; [Bmim][CH <sub>3</sub> COO]; [Bmim][NO <sub>3</sub> ]	Transestryfikacja (synteza estrów 1-butanolu, metanolu, 1-heksanolu, 1-oktanolu)	[55]	
[Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]/scCO <sub>2</sub>	Transestryfikacja (rozdziel kinetyczny (R, S)-1-fenylloetanolu)	[40]	Reakcje enancjoselektywne
[Emim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]/scCO <sub>2</sub> ; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]/scCO <sub>2</sub>	Transestryfikacja (rozdziel kinetyczny (R, S)-1-fenylloetanolu)	[39]	
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Bmim][CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]; [Nmim][PF <sub>6</sub> ]; [Hmim][BF <sub>4</sub> ]; [Omim][BF <sub>4</sub> ]; [4-Mbpyr][BF <sub>4</sub> ]	Transestryfikacja (rozdziel kinetyczny (R, S)-1-fenylloetanolu)	[46]	
[Emim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]	Transestryfikacja (rozdziel kinetyczny drugorzędowych alkoholi)	[47]	
[Omim][PF <sub>6</sub> ]; [Omim][N(CN) <sub>2</sub> ]	Transestryfikacja (acylowanie (R,S)-2-oktanolu z bezwodnikiem bursztynowym)	[51]	
[Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Bmim][CF <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> ]; [Bmim][SbF <sub>6</sub> ]	Transestryfikacja (rozdziel kinetyczny alkoholi alilowych)	[48]	
[Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]	Transestryfikacja (rozdziel kinetyczny (R,S)-1-fenylloetanolu)	[49]	
[MtoN][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Mopyr][BF <sub>4</sub> ]; [Omim][BF <sub>4</sub> ]; [Omim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][CF <sub>3</sub> COO]; [Mepyr][C <sub>4</sub> F <sub>9</sub> SO <sub>3</sub> ]; [Mbpyr][N(CN) <sub>2</sub> ]; [Mbpyr][N(CN) <sub>2</sub> ]; [MtoN][CF <sub>3</sub> COO]; [Emim][C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> SO <sub>4</sub> ]; [Emim][C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> SO <sub>4</sub> ]; [Emim][C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> tos]; [Dmim][(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ]; [Hmim][Cl]	Estryfikacja (synteza estru kwasu palmitynowego i eskuliny)	[57]	
[Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Emim][Tos]; [Bmim][C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> SO <sub>4</sub> ]; [MtoN][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]	Estryfikacja (synteza estru kwasu palmitynowego i kwasu askorbinowego)	[58]	
[Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N]; [Bmim][N(CN) <sub>2</sub> ]	Polimeryzacja (synteza poli(L-laktydu))	[59]	
[Bmim][PF <sub>6</sub> ]; [Bmim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N];	Synteza amidu (reakcja alifatycznego estru/kwasu z aminą)	[60]	
[Omim][BF <sub>4</sub> ]; [Bmim][PF <sub>6</sub> ]	Hydroliza (synteza (S)-1-halogeno-2-oktanolu)	[61]	

## PODSUMOWANIE

Ciecze jonowe stanowią doskonale medium reakcji enzymatycznej, wypierając konwencjonalne rozpuszczalniki organiczne. Zapewniają wyjątkową stabilność konformacyjną białka katalitycznego, immobilizując enzym chronią przed niekorzystnymi czynnikami. Istotną zaletą cieczy jonowych jest możliwość zmiany ich właściwości fizycznych poprzez modyfikację w obrębie kationu i anionu, a tym samym zaprojektowanie cieczy jonowych do konkretnej reakcji chemicznej.

Reakcje enzymatyczne prowadzone w cieczach jonowych charakteryzują się wysoką selektywnością. Z powodzeniem prowadzi się reakcje zarówno regio- jak i stereoselektywne wykorzystując potencjał katalityczny enzymów np.: lipazy B z *Candida antarctica*.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Ghanem, H.Y. Aboul-Enein, *Chirality*, 2005, **17**, 1.
- [2] S.H. Ha, S.H. Lee, D.T. Dang, M.S. Kwon, W.J. Chang, Y.J. Yu, I.S. Byun, Y.M. Koo, *Korean J. Chem. Eng.*, 2008, **25**, 291.
- [3] J. Brem, C. Paizs, M.I. Toşa, E. Vass, F.D. Irimie, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 489.
- [4] T. Mahapatra, T. Das, S. Nanda, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 2497.
- [5] R. Chênevert, C. Lévesque, P. Morin, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 9501.
- [6] R.M. Lau, F. van Rantwijk, K.R. Seddon, R.A. Sheldon, *Org. Lett.*, 2000, **2**, 4189.
- [7] K.P. Dhake, Z.S. Qureshi, R.S. Singhal, B.M. Bhanage, *Tetrahedron Letters*, 2009, **50**, 2811.
- [8] U.K. Sharma, N. Sharma, R. Kumar, R. Kumar, A.K. Sinha, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 4846.
- [9] N. Jain, A. Kumar, S. Chauhan, S.M.S. Chauhan, *Tetrahedron*, 2005, **61**, 1015.
- [10] R.A. Sheldon, R.M. Lau, M.J. Sorgedraeger, F. van Rantwijk, K.R. Seddon, *Green Chem.*, 2002, **4**, 147.
- [11] S. Park, R.J. Kazlauskas, *Curr. Opin. Biotech.*, 2003, **14**, 432.
- [12] U. Kragl, M. Eckstein, N. Kaftzik, *Curr. Opin. Biotech.*, 2002, **13**, 565.
- [13] Z. Yang, W. Pan, *Enzyme Microb. Technol.*, 2005, **37**, 19.
- [14] S.J. Nara, P.U. Naik, J.R. Harjani, M.M. Salunkhe, *Indian J. Chem.*, 2006, **45B**, 2257.
- [15] S. Kowalska, P. Stepnowski, B. Buszewski, *Analityka*, 2006, **3**, 4.
- [16] F. Héffner, T. Norin, *Chem. Pharm. Bull.*, 1999, **47**, 591.
- [17] E. Ledóchowska, *Wybrane aspekty enzymatycznego przeestryfikowania triacylogliceroli*, praca habilitacyjna, Gdańsk 1999.
- [18] O. Kirk, M.W. Christensen, *Org. Process Res. Dev.*, 2002, **6**, 446.
- [19] S.A. Patkar, F. Bjorkling, M. Zundel, W. Schulein, A. Svendsen, H.P. Heldt-Hansen, E. Gormsen, *Indian J. Chem.*, 1993, **32**, 76.
- [20] M. Martinelle, M. Holmquist, K. Hult, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, **1258**, 272.
- [21] E. Rogalska, C. Cudrey, F. Ferrato, R. Verger, *Chirality*, 1993, **5**, 24.
- [22] F. van Rantwijk, F. Secundo, R.A. Sheldon, *Green Chem.*, 2006, **8**, 282.
- [23] J.L. Kaar, A.M. Jesionowski, J.A. Berberich, R. Moulton, A.J. Russell, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 4125.
- [24] F.J. Hernández-Fernández, A.P. de los Ríos, M. Rubio, D. Gómez, G. Villora, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2007, **82**, 882.

- [25] Y. Wang, M. Tian, W. Bi, K.H. Row, *Int. J. Mol. Sci.*, 2009, **10**, 2591.
- [26] B. Buszewski, S. Studzińska, *Chromatographia*, 2008, **68**, 1.
- [27] B. Buszewski, S. Kowalska, P. Stepnowski, *J. Sep. Sci.*, 2006, **29**, 1116.
- [28] R. Kaliszan, M.P. Marszał, M.J. Markuszewski, T. Bączek, J. Pernak, *J. Chromatogr. A.*, 2004, **1030**, 263.
- [29] M.P. Marszał, T. Bączek, R. Kaliszan, *J. Sep. Sci.*, 2006, **29**, 1138.
- [30] P. Stepnowski, J. Niechthäuser, W. Mroziak, B. Buszewski, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, **385**, 1483.
- [31] C. Laane, S. Boeren, K. Vos, C. Veeger, *Biotechnol. Bioeng.*, 1987, **30**, 81.
- [32] J.L. Anderson, J. Ding, T. Welton, D.W. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 14247.
- [33] C. Reichardt, *Chem. Rev.*, 1994, **94**, 2319.
- [34] P. Vidya, A. Chadha, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2009, **57**, 145.
- [35] E. Fehér, B. Major, K. Bélafi-Bakó, L. Gubicza, *Biochem. Soc. Trans.*, 2007, **35**, 1624.
- [36] R.M. Lau, M.J. Sorgedragger, G. Carrea, F. van Rantwijk, F. Secundo, R.A. Sheldon, *Green Chem.*, 2004, **6**, 483.
- [37] H. Zhao, C.L. Jones, J.V. Cowins, *Green Chem.*, 2009, **11**, 1128.
- [38] P. Lozano, T. de Diego, D. Carrié, M. Vaultier, J.L. Iborra, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2003, **21**, 9.
- [39] P. Lozano, T. de Diego, D. Carrié, M. Vaultier, J.L. Iborra, *Chem. Commun.*, 2002, 692.
- [40] M.T. Reetz, W. Wiesenhöfer, G. Franciň, W. Leitner, *Chem. Commun.*, 2002, 992.
- [41] P. Lozano, T. de Diego, S. Gmouh, M. Vaultier, J.L. Iborra, *Biotechnol. Prog.*, 2004, **20**, 661.
- [42] S. Keskin, D. Kayrak-Talay, U. Akman, Ö. Hortaçsu, *J. of Supercritical Fluids*, 2007, **43**, 150.
- [43] O. Miyawaki, M. Tatsuno, *J. Biosci. Bioeng.*, 2008, **105**, 61.
- [44] S. Park, R.J. Kazlauskas, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 8395.
- [45] T. Yasmin, T. Jiang, B. Han, *Catal. Lett.*, 2007, **116**, 46.
- [46] S.H. Schöfer, N. Kaftzik, P. Wasserscheid, U. Kragl, *Chem. Commun.*, 2001, 425.
- [47] K.W. Kim, B. Song, M.Y. Choi, M.J. Kim, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 1507.
- [48] T. Itoh, E. Akasaki, K. Kudo, S. Shirakami, *Chem. Lett.*, 2001, **1**, 262.
- [49] M. Noël, P. Lozano, M. Vaultier, J.L. Iborra, *Biotechnol. Lett.*, 2004, **26**, 301.
- [50] Z. Guo, X. Xu, *Green Chem.*, 2006, **8**, 54.
- [51] R. Bogel-Lukasik, V. Najdanovic-Visak, S. Barreiros, M. Nunes da Ponte, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2008, **47**, 4473.
- [52] S. Sunitha, S. Kanjilal, P.S. Reddy, R.B.N. Prasad, *Biotechnol. Lett.*, 2007, **29**, 1881.
- [53] P. Lozano, T. de Diego, D. Carrié, M. Vaultier, J.L. Iborra, *Biotechnol. Lett.*, 2001, **23**, 1529.
- [54] Z.L. Shen, W.J. Zhou, Y.T. Liu, S.J. Ji, T.P. Loh, *Green Chem.*, 2008, **10**, 283.
- [55] A.P. de los Ríos, F.J. Hernández-Fernández, F. Tomás-Alonso, D. Gómez, G. Villora, *Flavour Fragr. J.*, 2008, **23**, 319.
- [56] A. Pohar, I. Plazl, P. Žnidaršič-Plazl, *Lab. Chip.*, 2009, **9**, 3385.
- [57] Y. Hu, Z. Guo, B.M. Lue, X. Xu, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 3845.
- [58] M. Adamczak, U.T. Bornscheuer, *Process Biochem.*, 2009, **44**, 257.
- [59] M. Yoshizawa-Fujita, C. Saito, Y. Takeoka, M. Rikukawa, *Polym. Adv. Technol.*, 2008, **19**, 1396.
- [60] K.P. Dhake, Z.S. Qureshi, R.S. Singhal, B.M. Bhanage, *Tetrahedron Letters*, 2009, **50**, 2811.
- [61] M. Oromí-Farrús, J. Eras, N. Sala, M. Torres, R. Canela, *Molecules*, 2009, **14**, 4275.

**ASYMETRYCZNA REAKCJA ALDOLOWA:  
CZEŚĆ I – NOWE KONCEPCJE, KATALIZATORY  
I ICH PRAKTYCZNE ZASTOSOWANIE  
W SYNTEZIE PRODUKTÓW NATURALNYCH**

**ASYMMETRIC ALDOL REACTION:  
PART I – NEW CONCEPTS, CATALYSTS  
AND THEIR APPLICATIONS IN THE SYNTHESIS OF  
NATURAL PRODUCTS**

**Maciej Stodulski<sup>a</sup>, Jacek Młynarski<sup>a,b</sup>**

<sup>a</sup> *Instytut Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk  
ul. Kasprzaka 44/52, 01-224, Warszawa*

<sup>b</sup> *Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński  
ul. Ingardena 3, 30-060, Kraków  
e-mail: [jacek.mlynarski@gmail.com](mailto:jacek.mlynarski@gmail.com)  
[www.jacekmlynarski.pl](http://www.jacekmlynarski.pl)*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Bezpośrednia, asymetryczna reakcja aldolowa katalizowana kompleksami metali
2. Bezpośrednia, asymetryczna reakcja aldolowa katalizowana małymi cząsteczkami organicznymi
3. Tandemowa reakcja aldolowa-redukcji

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

---



**Maciej Stodulski** studiował chemię na Uniwersytecie w Białymstoku, który ukończył w roku 2005. Pracę doktorską obronił w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie w roku 2010. Tematem pracy wykonanej w zespole VI IChO PAN było poszukiwanie nowych katalizatorów asymetrycznej reakcji aldolowej-Tiszczhenki. Po krótkim stażu naukowym w grupie prof. Mike'a Boysena w Instytucie Chemii Organicznej Uniwersytetu w Hanowerze wrócił do Warszawy gdzie kontynuuje badania w obszarze syntezy asymetrycznej związków biologicznie aktywnych.



**Jacek Młynarski**, studiował chemię na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie (praca dyplomowa – 1995 pod kierunkiem J. Sepioła, P. Milarta). Następnie przeniósł się do Warszawy, gdzie wykonywał pracę doktorską pod kierunkiem prof. Anny Banaszek w zespole prof. Aleksandra Zamojskiego. Tematem obronionej w roku 2000 pracy doktorskiej była synteza monosacharydów – kwasów ulozonowych. Po odbyciu stażu naukowego w grupie Aloisa Fürstnera w Instytucie Maxa Plancka w Mülheim (stypendium Fundacji im. Aleksandra von Humboldta) wrócił do Instytutu Chemii Organicznej PAN.

Stopień doktora habilitowanego uzyskał w roku 2006. Od roku 2008 jest kierownikiem zespołu w IChO PAN. Od roku 2009 jest profesorem i kierownikiem Zespołu Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Jacek Młynarski jest również profesorem wizytującym Uniwersytetu w Orleanie. Od roku 2008 jest członkiem Editorial Board i redaktorem Monatshefte für Chemie Chemical Monthly. Więcej informacji o pracach grupy znajduje się na stronie: [www.jacekmlynarski.pl](http://www.jacekmlynarski.pl)

## ABSTRACT

The aldol reaction is one of the most important method for the stereoselective construction of polyketide natural products in both – living organisms and laboratory. The tremendous development in this field has led to development of many new variants of the aldol addition. There has been some success in the use of asymmetric catalysts, although they normally rely on a Mukaiyama-type process. This reaction required a conversion of a donor substrate into more reactive species such as enol silyl ether using not less than stoichiometric amounts of a silicon reagent and a base. From atom economic perspectives, such stoichiometric amounts of reagents should be excluded from the procedures. An exciting challenge in enhancement of the efficiency of the aldol reaction is to find a compound that will catalyze direct aldol addition without pre-formation of a nucleophile and to do so asymmetrically.

Direct asymmetric aldol reaction, catalyzed by both metallic complexes and purely organic molecules now becomes one of the most desired tools in organic chemistry. After an initial period of validating methodology by using a wide range of important model reactions, the time has now been reached to address specific synthesis and solve pending problems of practical relevance. In this review we describe recently discovered, most important and most flexible catalysts for direct asymmetric aldol reaction and their application in total synthesis of target natural products and known compounds of biological and pharmaceutical relevance.

Keywords: direct aldol reaction, asymmetric aldol reaction, tandem aldol-reduction reaction, bifunctional catalysts, organocatalysis, total synthesis

Słowa kluczowe: bezpośrednia reakcja aldolowa, asymetryczna reakcja aldolowa, tandemowa reakcja aldolowa-redukcji, katalizatory dwufunkcyjne, organokataliza, synteza totalna

---

---

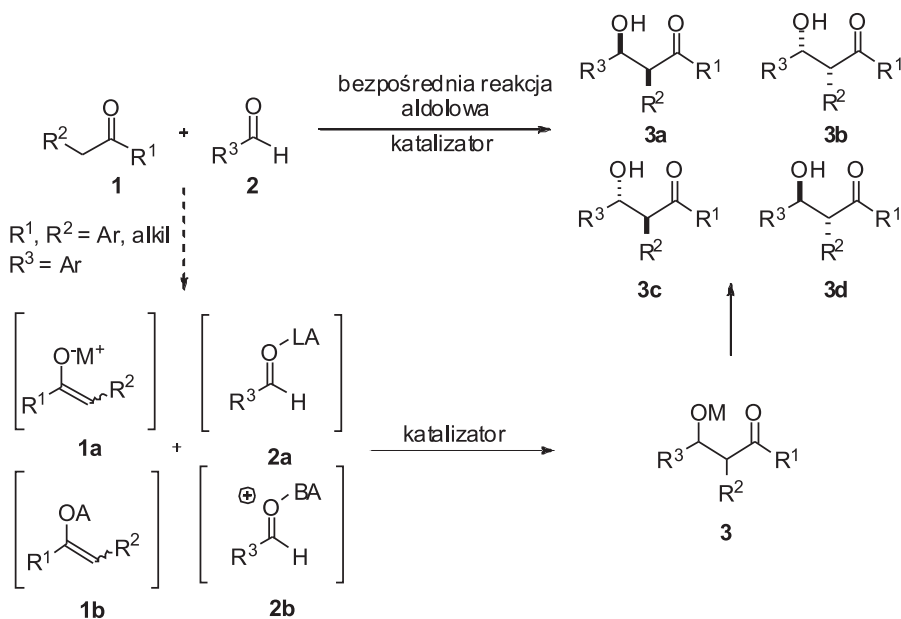


## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

Ac	– acyl
Ar	– aryl
BINOL	– 1,1'-bi-2-naftol
DCM	– chlorek metylenu
DHA	– 1,2-dihydroksyacetone
DMF	– dimetyloformamid
DMSO	– dimetylosulfotlenek
DOWEX	– żywica jonowymienna
<i>ee</i>	– nadmiar enancjomeryczny
<i>er</i>	– skład enancjomeryczny, stosunek enancjomerów
<i>de</i>	– nadmiar diastereoizomeryczny
<i>dr</i>	– skład diastereoizomeryczny, stosunek diastereoizomerów
EWG	– grupa elektronoakceptorowa
His	– histydyna
IBX	– kwas 2-jodoksybenzoesowy
Lys	– lizyna
LA	– kwas Lewisa
M	– metal
MOM	– metoksymetyl
Ms	– metanosulfonyl, mesyl
PMB	– 4-metoksybenzyl
równ.	– równoważnik
RT	– temperatura pokojowa
TBS	– <i>tert</i> -butyloдимetylosilil
THF	– tetrahydrofuran

## WPROWADZENIE

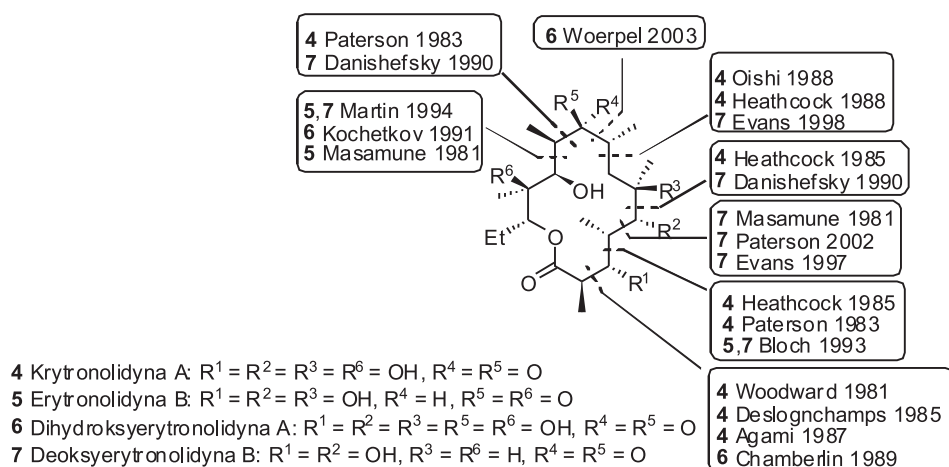
Inspirowana procesami enzymatycznymi reakcja aldolowa zyskuje nieustannie rosnące zainteresowanie wielu badaczy na całym świecie. W klasycznym ujęciu reakcję aldolową można scharakteryzować jako przyłączenie enolu lub enolanu do karbonylowego elektrofilu z utworzeniem aldolu. Jednakże termin *reakcja aldolowa* w bardziej zaawansowanej terminologii naukowej, jest używany do każdego enolizującego związku karbonylowego m.in. estrów kwasów karboksylowych, amidów, karboksylanów, regujących z aldehydami lub ketonami [1]. Praktyczne wykorzystanie narzędzia jakim jest reakcja aldolowa wiąże się z opanowaniem i kontrolą konfiguracji wszystkich tworzonych w procesie centrów stereogenicznych. W reakcji ketonów metylenowych typu **1** mogą powstać cztery stereoisomery — dwa izomery *syn* **3a**, **3b** i dwa izomery *anti* **3c**, **3d** (Rys. 1).



Rysunek 1. Ogólny przebieg reakcji aldolowej  
Figure 1. General scheme of aldol reaction

W przeciwieństwie do reakcji przebiegających w naturze, reakcje aldolowe prowadzone w laboratorium polegają głównie na wcześniejszym przekształceniu cząsteczki donora w bardziej reaktywną formę np. w enolan, enoloeter (reakcja aldolowa Mukaiyamy) lub jego analog [2, 3]. Przekształcenie ketonu w enolan (**1a**, **1b**) wymaga dodatkowego etapu syntezy, co wiąże się z obniżeniem wydajności procesu (Rys. 1). Ta uniwersalna i wszechstronna procedura została dobrze poznana dla wielu enolanów (litu, boru, tytanu), a dla większości metod opracowano efek-

tywne wersje stereo- i enancjoselektywne stosowane z powodzeniem w syntezach związków naturalnych [4]. Rozwój metod umożliwiających stereoselektywną konstrukcję wiązań węgiel–węgiel z wykorzystaniem reakcji aldolowej stymulowany jest uniwersalnością metody oraz jej potencjalnym zastosowaniem do syntezy produktów naturalnych. Jako przykład może posłużyć tu rodzina erytromycyn – wytwarzanych przez *Streptomyces erythraeus*, hamujących syntezę białka poprzez wiązanie tRNA (Rys. 2). W literaturze zaprezentowano wiele strategii syntezy rodziny erytromycyn. Zestawienie tych metod pokazuje, że osiem z dwunastu wiązań C–C obecnych w cząsteczce zostało utworzonych stereoselektywnie z wykorzystaniem różnych strategii w których reakcja aldolowa była główną metodą tworzenia nowych wiązań.



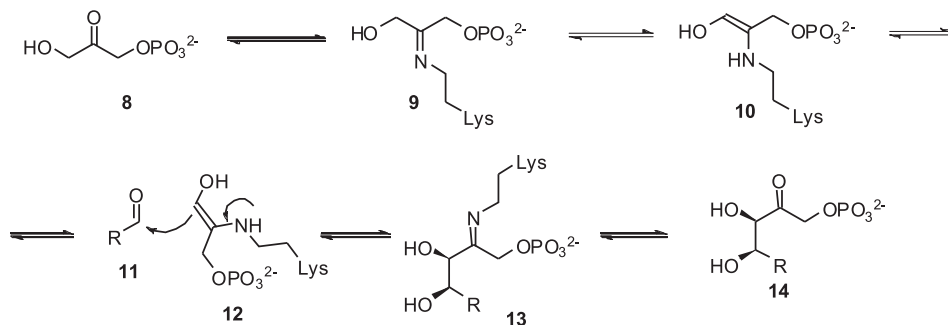
Rysunek 2. Wykorzystanie reakcji aldolowej w syntezie totalnej erytromycyn (na podstawie Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 7506)

Figure 2. Application of aldol reaction in total synthesis of erythromycin compounds (based on Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 7506)

Naturalnymi katalizatorami reakcji aldolowej w organizmach żywych są enzymy — aldolazy, należące do grupy liaz, które uczestniczą w biosyntezie węglowodanów, ketokwasów i niektórych aminokwasów [5]. Aldolazy występują w prawie wszystkich organizmach żywych. Dotychczas wyodrębniono dwie grupy aldolaz klasyfikowane w zależności od mechanizmu reakcji. Doskonale w swym działaniu enzymy omijają etap aktywacji substratów i wykorzystują synergiczny — równoczesny mechanizm aktywacji zarówno donora jak i akceptora, kontrolując przy tym orientację w przestrzeni obydwu reagentów.

Aldolazy typu I katalizują reakcje enzymatyczne poprzez tworzenie zasady Schiffa **9** w kluczowym etapie procesu (Rys. 3) [6]. Dzięki obecności donora i akceptora w chiralnym otoczeniu enzymu dwa nowe centra stereogeniczne powstają z wysoką stereoselektywnością. Hydroliza iminy **13** w ostatnim etapie prowadzi do uwolnienia

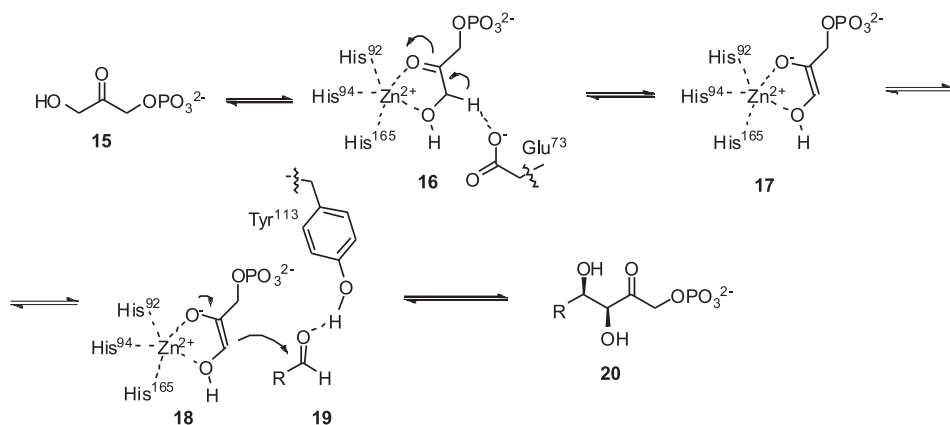
nia ketodiolu **14** i odtworzenia cząsteczki enzymu, wstępującego w kolejny cykl katalityczny.



Rysunek 3. Przebieg reakcji aldolowej z udziałem aldolaz typu I  
Figure 3. Aldol reaction catalyzed by type I aldolases

W przypadku drugiej grupy — aldolaz typu II charakterystyczna jest obecność jonów metalu (najczęściej cynku) wspomagających aktywność biokatalizatora (Rys. 4). W kluczowym etapie procesu jon  $Zn^{2+}$  (skoordynowany przez trzy atomy azotu jednostek histydynowych) wiąże się poprzez grupę hydroksylową i karbonylową z cząsteczką donora **15** prowadząc do utworzenia kompleksu **16**, oraz enolanu **17**.

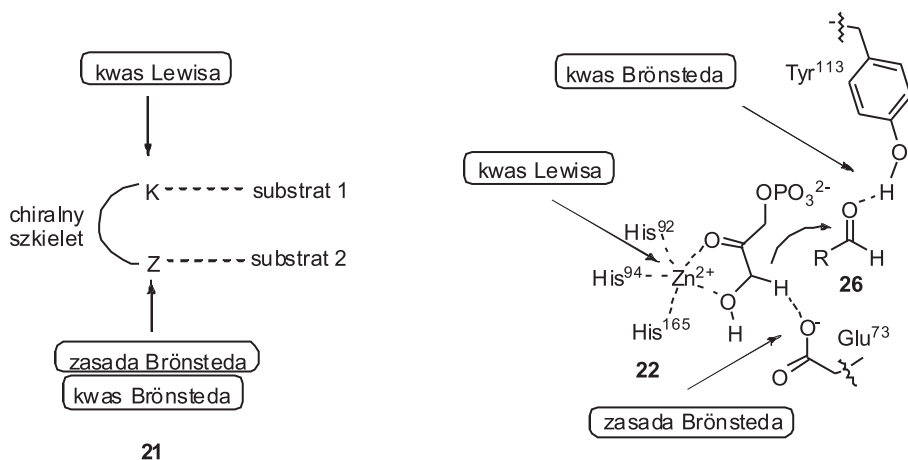
Zastosowanie enzymów w syntezach laboratoryjnych jest jednak ograniczone, głównie z powodu ich wysokiej specyficzności, zawężającej możliwe spektrum stosowanych substratów. Poszukiwanie niebiologicznych związków katalizujących reakcję aldolową i projektowanie katalizatorów reakcji naśladujących działanie enzymów to nowe zadania współczesnej chemii organicznej.



Rysunek 4. Przebieg reakcji aldolowej z udziałem aldolaz typu II  
Figure 4. Aldol reaction catalyzed by type II aldolases

Podobnie jak w naturze znacznie efektywniejszym sposobem „wprowadzenia chiralności” do cząsteczki w przypadku syntezy laboratoryjnej jest wykorzystanie strategii opartej na wykorzystaniu nieaktywowanych ketonów i zastosowanie chiralnych katalizatorów, kontrolujących stereoselektywność reakcji. Tego typu strategia zwana jako *bezpośrednia reakcja aldolowa* [7–9], eliminuje dodatkowe etapy syntezy związane z preaktywacją substratu.

Intensywny rozwój tej koncepcji doprowadził do wyodrębnienia nowej grupy układów katalitycznych **21** wykorzystujących działanie synergiczne — dwufunkcyjnych kompleksów kwasów Lewisa–zasad Brönsteda (Rys. 5), pozwalających na wykorzystywanie nieaktywowanych substratów, wstępujących w reakcję aldolową. W kolejnych częściach tekstu przedstawione zostały najnowsze trendy badań bezpośredniej reakcji aldolowej (katalizowanej kompleksami metali i małymi cząsteczkami organicznymi), z uwzględnieniem najistotniejszych przykładów wykorzystania reakcji w syntezie produktów naturalnych.



Rysunek 5. Działanie katalizatorów dwufunkcyjnych

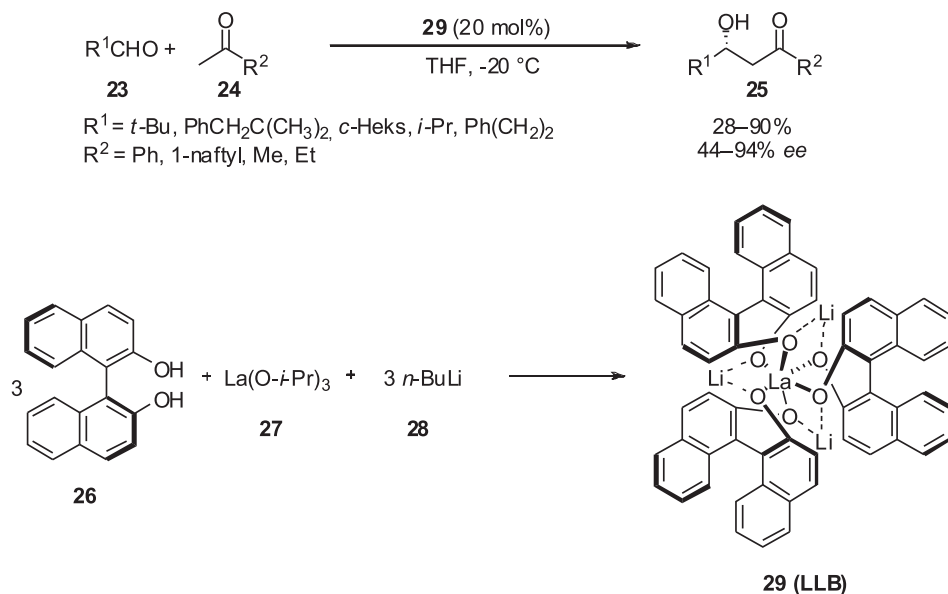
Figure 5. Effect of bifunctional catalysts

## 1. BEZPOŚREDNIA, ASYMETRYCZNA REAKCJA ALDOLOWA KATALIZOWANA KOMPLEKSAMI METALI

Pierwsze doniesienia w literaturze na temat efektywnego wykorzystania kompleksów metali w bezpośredniej reakcji aldolowej przedstawił Shibasaki wraz z współpracownikami [10, 11]. Shibasaki zaprezentował reakcję aldehydów typu **23** z ketonami metylowymi **24** katalizowaną dwufunkcyjnym katalizatorem (*S,S*)-LLB **29**, otrzymanym w wyniku reakcji trzech cząsteczek (*S,S*)-binaftolu **26** z triizopropoksylantanem **27** i butylolitem **28** [10, 11]. Dzięki tak skonstruowanemu układowi katalitycznemu odpowiednie produkty reakcji aldolowej **25** powstają z wydajnościami

dochodzącymi do 90% i enancjoselektywnością na poziomie 44–94% (Rys. 6). Atom lantanu umieszczony jest w centrum kompleksu i zachowuje się jak kwas Lewisa, natomiast alkoksylan litu pełni funkcję zasady Brönsteda.

Synergiczne działanie dwóch centrów aktywnych o odmiennym charakterze zlokalizowanych w jednej cząsteczce aktywatora jest nowym, interesującym zagadnieniem w chemii organicznej [12].

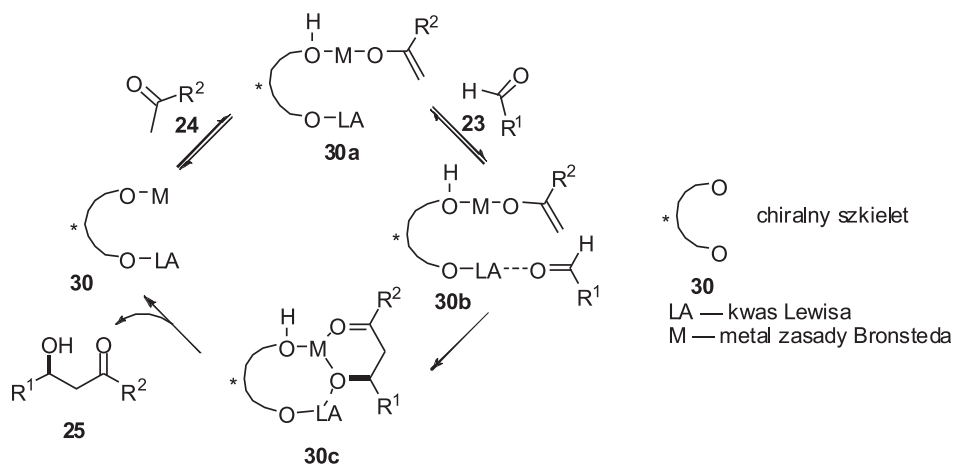


Rysunek 6. Wykorzystanie katalizatorów LLB w bezpośredniej reakcji aldolowej

Figure 6. Application of LLB catalysts in direct aldol reaction

Działanie takie sprawia, iż oba substraty są aktywowane równocześnie oraz przyjmują odpowiednią orientację względem siebie. Pozwala to na przeprowadzenie transformacji i otrzymania produktu o ściśle określonej stereochemii bez potrzeby wstępnej aktywacji substratów. Kompleks ten można więc rozpatrywać w kategorii naśladowania działania enzymów aldolaz typu II.

Proponowany mechanizm reakcji został przedstawiony na Rysunku 7. Fragment pełniący rolę zasady Brönsteda (OM) może deprotonować cząsteczkę ketonu **24** generując odpowiedni enolan **30a**, w tym samym czasie drugi fragment bimetalicznego kompleksu działający jak kwas Lewisa (LA) aktywuje cząsteczkę aldehydu **23** z utworzeniem kompleksu **30b**. Tak aktywowane substraty znajdujące się dodatkowo blisko siebie prowadzą do powstania produktu reakcji aldolowej **30c**, w którym chiralne otoczenie i efekty chelatujące gwarantują wysoką enancjoselektywność reakcji. Kolejny etap polegający na przeniesieniu protonu na grupę hydroksylową aldolu prowadzi do powstania optycznie wzbogaconego  $\beta$ -hydroksyketonu **25**, odtwarzając jednocześnie cząsteczkę katalizatora **30**.



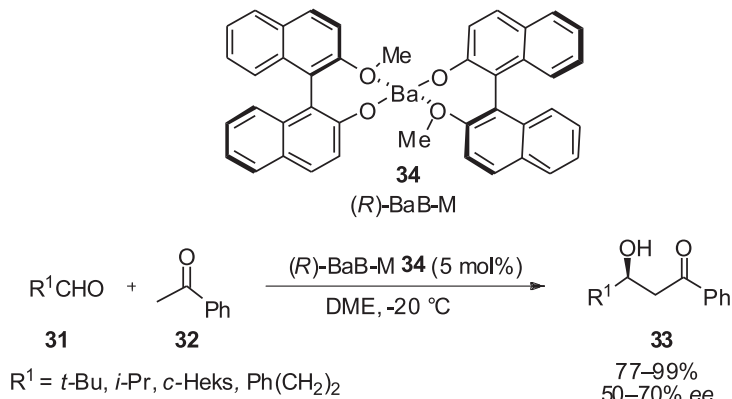
Rysunek 7. Mechanizm działania katalizatorów dwufunkcyjnych  
Figure 7. Mechanism of bifunctional catalysis

Metodologia bezpośredniej reakcji aldolowej została w późniejszym czasie znacznie usprawniona poprzez opracowanie nowego heterobimetalicznego układu katalitycznego ((*R*)-LLB, KOH, H<sub>2</sub>O) generowanego *in situ* w wyniku reakcji KHMDS z wodą. Tego typu katalizator wykazuje reaktywność już przy 3–8 mol% [13].

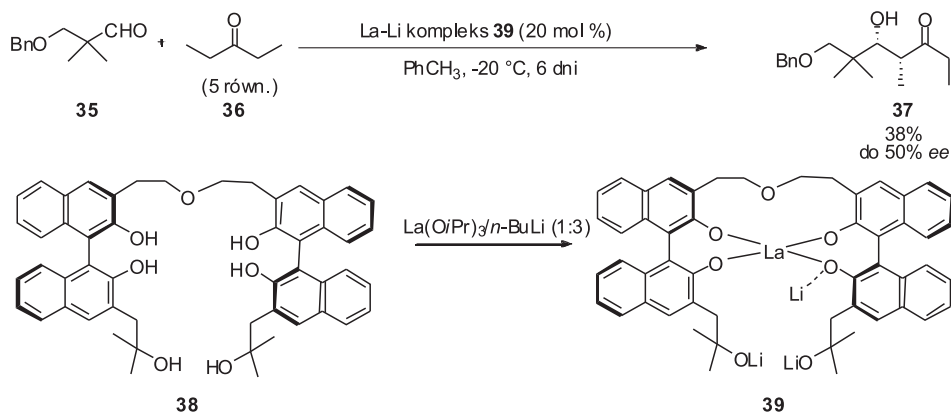
Zbliżony strukturalnie katalizator BaB-M **34** zawierający w swej strukturze cząsteczki binolu i kation baru został zaprojektowany przez Shibasakiego w celu ominięcia wad katalizatorów LLB (znacznym nadmiar używanego ketonu, 20 mol% ilość katalizatora, długi czas reakcji) [14]. Najbardziej selektywne układy katalityczne powstają w wyniku reakcji izopropoksybaru z metylową pochodną (*R*)-binolu w dimetoksyetanie. Podobnie jak w przypadku kompleksów LLB, BaB-M posiada w swej budowie funkcje kwasu Lewisa oraz zasady Brönsteda. BaB-M katalizuje reakcje aldehydów **31** z acetofenonem **32** już w ilości 5 mol%, w znacznie krótszym czasie reakcji oraz przy zaledwie dwukrotnym molowym nadmiarze ketonu w stosunku do aldehydu. Warto podkreślić, iż reakcje mogą ulegać zarówno silnie zatłoczone aldehydy, jak również aldehydy zawierające protony  $\alpha$ , prowadząc do otrzymania jedynie produktów krzyżowej reakcji aldolowej. Powstające produkty **33** otrzymuje się z wydajnościami dochodzącymi do 99%, jednakże z nadmiarem enancjomerycznym mieszczącym się w przedziale 50–70% (Rys. 8).

W dużej mierze ważniejsze substraty – ketony metylenowe ( $R-CO-CH_2-R'$ ) pozostawały przez długi czas jako niedostępne dla znanych układów katalitycznych. W 2001 roku Shibasaki przedstawił rozwiązanie problemu braku reaktywności ketonów metylenowych w bezpośredniej reakcji aldolowej projektując złożony układ katalityczny **39** o zwiększonej zasadowości [15]. Powstające aldole **37** otrzymywane były jednakże z wydajnościami nie przekraczającymi 38% oraz nadmiarami enancjomerycznymi rzędu 50% po sześciu dniach prowadzenia reakcji. Autorzy tłu-

maczyli ten fakt zawadą steryczną jaką wywiera terminalna grupa metylowa w związku **36**, blokująca oderwanie protonu z pozycji  $\alpha$  ketonu (Rys. 9).



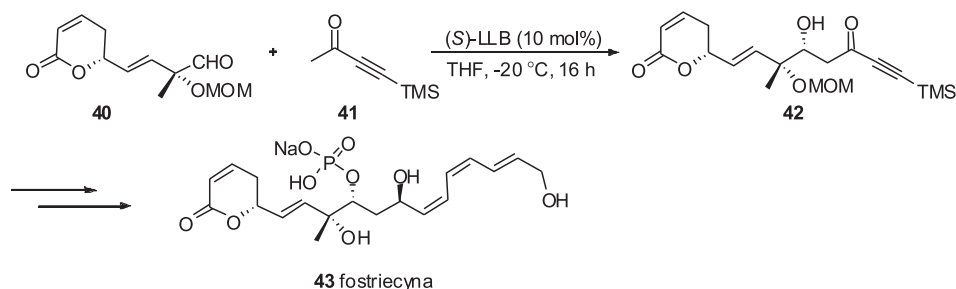
Rysunek 8. Bezpośrednia reakcja aldolowa katalizowana kompleksami BaB-M  
Figure 8. Direct aldol reaction catalyzed by BaB-M complexes



Rysunek 9. Reakcja aldolowa pentan-3-onu katalizowana pochodnymi binolu  
Figure 9. Aldol reaction of pentan-3-on catalyzed by binol derivatives

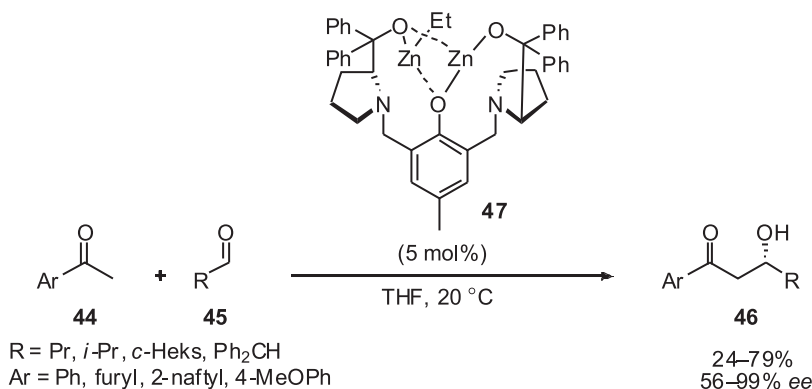
Opracowane przez Shibasakię katalizatory dla bezpośredniej reakcji aldolowej znalazły zastosowanie w syntezie totalnej fostriecyny **43**, cytotoksycznego estru fosforanowego wyizolowanego z *Streptomyces pulveraceus* [16–18]. Związek ten wykazuje aktywność antynowotworową przeciw leukemii [19]. W reakcji pomiędzy pochodną acetonu **41** i aldehydu **40**, katalizowanej kompleksem (*S*)-LLB (10 mol%) autorzy wydzielili produkt reakcji aldolowej **42** z 70% wydajnością, (Rys. 10) [20, 21].





Rysunek 10. Synteza fostriecyny  
Figure 10. Synthesis of fostriecin

Trost wraz ze współpracownikami [22, 23] zaprezentował inną klasę katalizatorów bezpośredniej reakcji aldolowej ketonów aromatycznych **44** z aldehydami **45**. Autorzy zademonstrowali ligandy uzbrojone w funkcje fenolowe i pierścienie piperolidynowe **47**, pochodne proliny (Rys. 11).

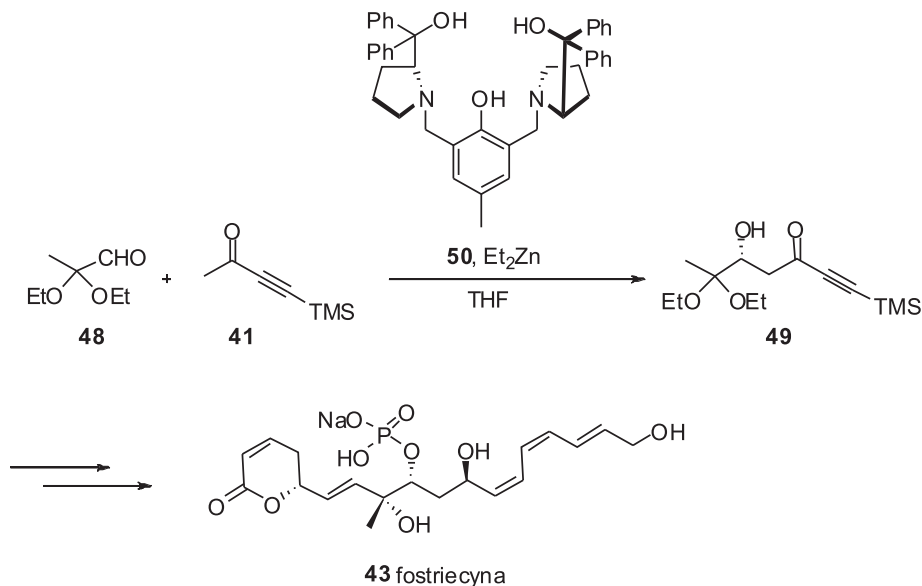


Rysunek 11. Bezpośrednia reakcja aldolowa katalizowana kompleksami Trosta  
Figure 11. Direct aldol reaction catalyzed by Trost's complexes

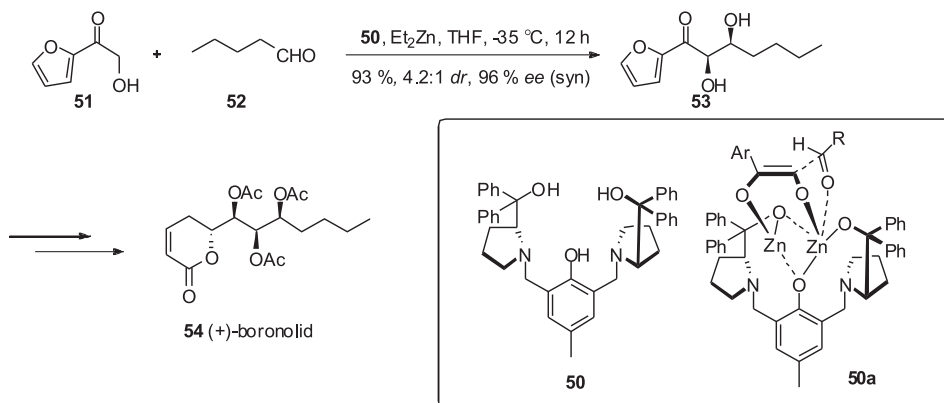
Zaprezentowano również zastosowanie katalizatorów tego typu w alternatywnej metodzie syntezy fostriecyny **43**. Wykorzystując dinuklearny katalizator cynkowy **50**, Trost wraz z współpracownikami otrzymał niezbędny intermediat **49** z 99% czystością optyczną (Rys. 12) [24].

Trost zademonstrował również zastosowanie opracowanych przez siebie katalizatorów homobimetalicznych **50** w reakcji aldolowej hydroksyketonów **51** (Rys. 13) [25]. Przewaga katalizatorów **50** w porównaniu z poprzednio zaprezentowanym układem katalitycznym polega na możliwości zastosowania stechiometrycznej ilości obu reagentów. W ten sposób autorzy byli w stanie otrzymać boronolid **54**, związek polihydroksylowy wyizolowany z kory drzewa *Tetradenia fruticosa* i liści *Tetradenia Barberae* [26, 27]. Ekstrakt z kory jest stosowany w ludowej medycynie na

Madagaskarze i południowej Afryce [28] jako środek wymiotny, i wykazujący skuteczność przeciwmalaryczną [29, 30]. Niezbędny intemediat **53** zsyntezowano na drodze reakcji pentanalę **52** z  $\alpha$ -hydroksyketonem **51**. Wydzielony aldol **53** o konfiguracji *syn* charakteryzował się 96% czystością optyczną [31].

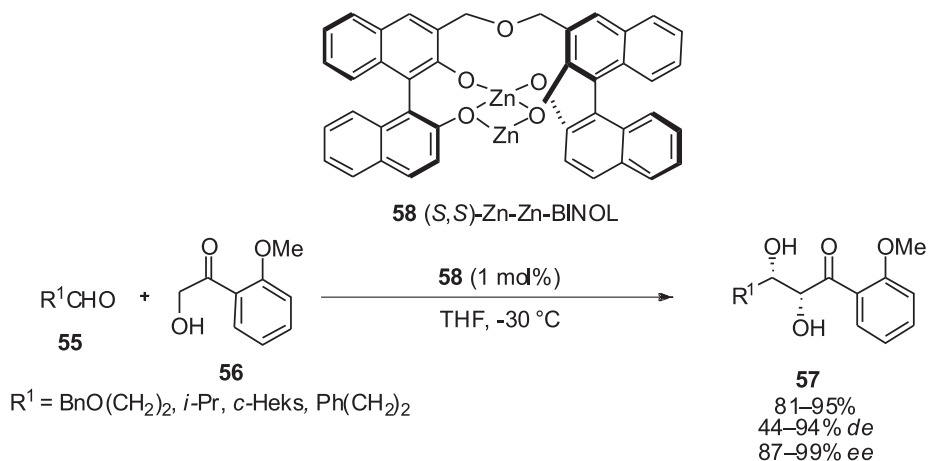


Rysunek 12. Synteza totalna Trosta fostriecyny  
Figure 12. Total synthesis of fostriecin by Trost



Rysunek 13. Synteza totalna boronolidu  
Figure 13. Total synthesis of boronolide

W tym samym czasie laboratorium Shibasakiego pracowało również nad syntezą i zastosowaniem innych kompleksów cynku. Równoległe z pracami Trosta zaprezentowano bezpośrednią katalityczną enancjo- i diastereo-selektywną reakcję aldolową 2-hydroksy-2'-metoksyacetofenonu **56** katalizowaną 1 mol% roztworem dinuklearnego katalizatora cynkowego **58**. Produkty reakcji aldolowej **57** powstają z wysoką *syn*-selektywnością (*syn/anti* 97 : 3); wydajnościami na poziomie 95% i enancjoselektywnością rzędu 99% (Rys. 14) [32]. Katalizator cynkowy **58** stanowi przy tym najbardziej reaktywny katalizator o relatywnie małej masie wykorzystywany w bezpośredniej reakcji aldolowej.



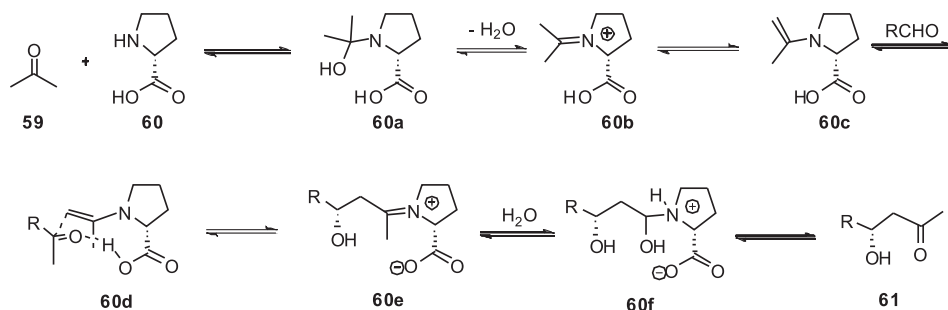
Rysunek 14. Reakcja aldolowa hydroksyketonów katalizowana kompleksami Zn-Zn-BINOL  
Figure 14. Aldol reaction of hydroxyketones catalyzed by Zn-Zn-BINOL complexes

Wśród innych układów katalitycznych wykorzystywanych w bezpośredniej reakcji aldolowej warto wspomnieć o katalizatorach Noyori'ego zbudowanych w oparciu o chiralny szkielet (1*S*,2*S*)-hydrobenzoiny, aktywny już przy 3 mol% [33], a także kompleksy tytanu opisane przez Mahrwalda, otrzymywane z racemicznego BINOLu i kwasu (*R*)-migdałowego [34]. Interesującym faktem jest, że kombinacja racemicznego diolu i optycznie czystego kwasu migdałowego prowadzi do otrzymania wydajnego chiralnego kompleksu, zdolnego do prowadzenia reakcji aldolowej z bardzo dobrymi nadmiarami enancjomerycznymi.

Kompleksy metali tworzą interesującą klasę związków wykorzystywanych jako katalizatory bezpośredniej reakcji aldolowej. Stanowią tym samym alternatywę dla reakcji aldolowych opartych o dodatkowy etap aktywacji substratów. Pionierskie badania w tym obszarze spowodowały rozwój koncepcji i przyczyniły się do poszukiwania alternatywnych metod aktywacji partnerów wstępujących w reakcję aldolową. W kolejnym rozdziale zaprezentowana jest inna koncepcja bezpośredniej reakcji aldolowej, oparta na wykorzystaniu małych cząsteczek organicznych – organokataliza.

## 2. BEZPOŚREDNIA, ASYMETRYCZNA REAKCJA ALDOLOWA KATALIZOWANA MAŁYMI CZĄSTECZKAMI ORGANICZNYMI

Obserwacja i zrozumienie mechanizmów aktywacji substratów przez aldolazy przebiegająca w oparciu o dwa różne mechanizmy musiała skutkować poszukiwaniem alternatywnych metod aktywacji substratów. Niezwykle szybko rozwijająca się dziedzina badań bezpośredniej reakcji aldolowej zaowocowała rozwojem układów katalitycznych nie zawierających jonów metalu, naśladujących działanie aldolaz typu I. Najprostszym powszechnie stosowanym przykładem katalizatora nie wykorzystującego jonów metalu do aktywacji substratów jest naturalny aminokwas – prolina [35]. Dwufunkcyjna prolina, podobnie jak inne aminokwasy posiada grupę aminową i karboksylową. Dzięki obecności dwóch grup funkcyjnych prolina może reagować zarówno jak kwas, jak i zasada, umożliwiając synergiczną aktywację odpowiednich substratów karbonylowych. Prolina ze względu na swoją cykliczną budowę – drugorzędową grupę aminową (pirolidyna), posiada unikalne właściwości wyróżniające ją na tle innych aminokwasów. Te właściwości sprawiają, iż prolina wykazuje wyższą zasadowość, pKa grupy aminowej, w porównaniu do innych aminokwasów. Nukleofilowość związana jest z fragmentem pirolidynowym znacznie ułatwiającym formowanie się imin i enamin w porównaniu z innymi związkami aminowymi [36, 37]. Prolina działa jak mikroaldolaza, w której drugorzędowa grupa aminowa sprzyja tworzeniu enaminy **60c**, a dodatkowo grupa karboksylowa obecna w cząsteczce ułatwia aminokatalizę działając jako kokatalizator typu kwasu Brönsteda (Rys. 15).

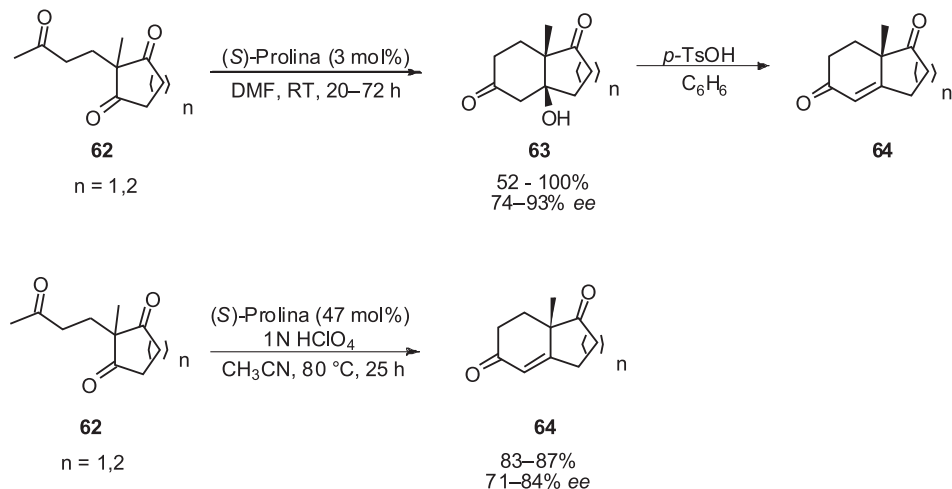


Rysunek 15. Mechanizm reakcji aldolowej z udziałem proliny  
Figure 15. Mechanism of aldol reaction catalyzed by proline

Pierwsze doniesienia o wykorzystaniu mechanizmu enaminy z użyciem proliny sięgają początku lat 70. XX wieku i pochodzą od dwóch grup badawczych, działających w przemyśle. Hajos i Parrish pracujący dla firmy Hoffmann La Roche przedstawili wykorzystanie proliny jako katalizatora wewnątrzcząsteczkowej reakcji aldolowej triketonu **62** prowadzącego do utworzenia cyklicznego aldolu **63** z wydajnościami dochodzącymi do 100% i enancjoselektywnością rzędu 74–93%

[38, 39]. Następcza dehydratacja katalizowana kwasem *p*-TsOH prowadziła do utworzenia cyklicznego diketonu **64** (Rys. 16).

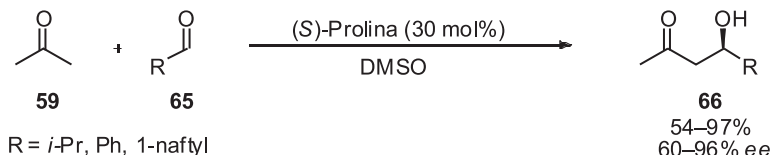
Nieco później Eder, Sauer i Wiechert pokazali, iż produkty kondensacji aldolowej, w tym keton Wielanda-Mieschera (**64**,  $n = 1$ ) można również otrzymać używając znacznie większej ilości prolina (10–100 mol%) w obecności  $\text{HClO}_4$  jako kokatyzatora (Rys. 16) [40]. Ta prosta metoda była przez wiele lat stosowana w przemysłowej syntezie bicyklicznych ketoli **63** i  $\alpha$ -,  $\beta$ -nienasyconych ketonów **64** wykorzystywanych w syntezie steroidów.



Rysunek 16. Reakcja Hajosa-Parrisha-Edera-Sauera-Wiecherta

Figure 16. Hajos-Parrish-Eder-Sauer-Wiechert reaction

Znaczący rozwój organokatalizy nastąpił dopiero 30 lat później, kiedy to oczywistym stało się, iż prolina jest w stanie katalizować również międzycząsteczkową reakcję aldolową. List i Barbas udowodnili to na przykładzie reakcji pomiędzy acetonem **59** i aldehydami **65** o różnej budowie strukturalnej (Rys. 17) [41]. W wyniku reakcji aldehydów aromatycznych odpowiednie aldole **66** powstają z enancjoselektywnością na poziomie 70%, podczas gdy  $\alpha$ -mono- i dipodstawione alifatyczne aldehydy prowadzą do otrzymania produktów **66** z enancjoselektywnościami rzędu 96%, co zwykle wystarcza już do praktycznego wykorzystania organokatalizatorów w produkcji farmaceutyków.

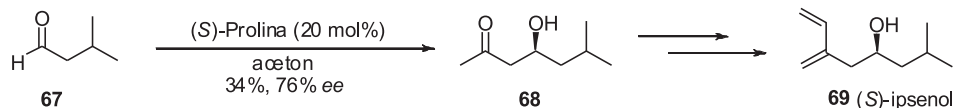


Rysunek 17. Bezpośrednia reakcja aldolowa acetonu katalizowana prolina

Figure 17. Direct aldol reaction of acetone catalyzed by proline

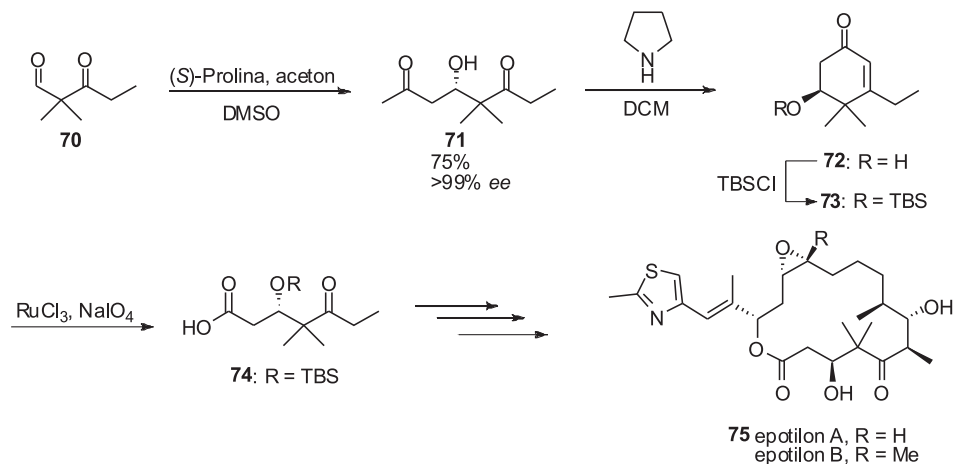
Organokataliza jest bezsprzecznie jednym z najciekawszych osiągnięć współczesnej chemii organicznej. Jej rozwój dokonuje się na naszych oczach i obejmuje nowe katalizatory, substraty oraz reakcje [42].

List rozszerzył również tę metodologię o  $\alpha$ -niepodstawione aldehydy **67** w reakcji z acetonem. W ten sposób otrzymany produkt reakcji aldolowej **68** wykorzystał w syntezie ipsenolu **69** (Rys. 18), feromonu korników [43].



Rysunek 18. Synteza totalna ipsenolu  
Figure 18. Total synthesis of ipsenol

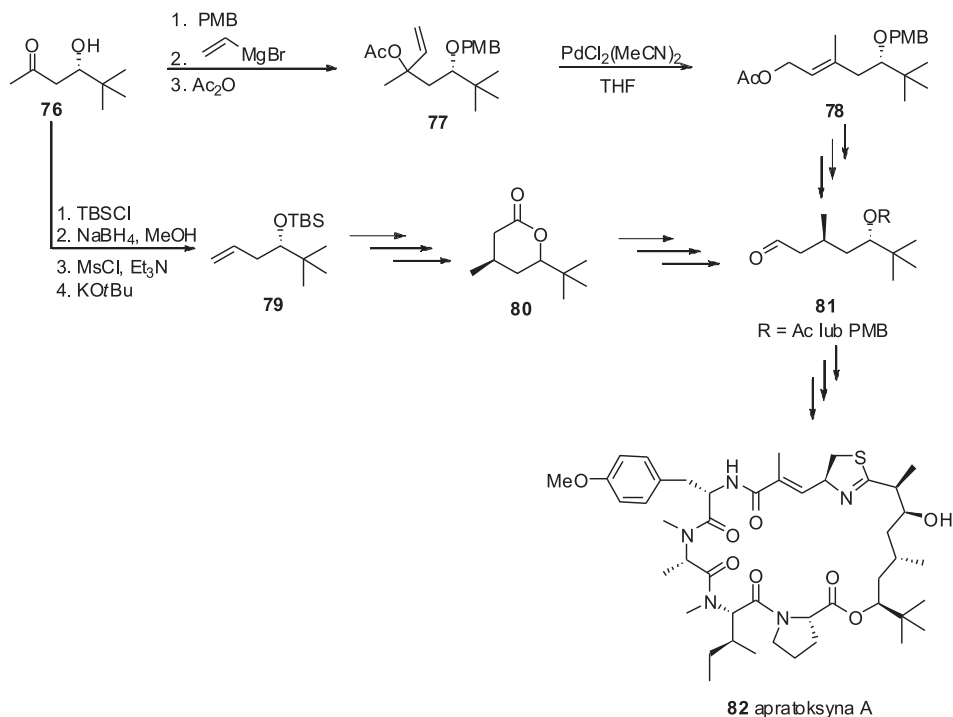
Avery i Zeng zastosowali bezpośrednią reakcję aldolową katalizowaną proliną w syntezie epotilonu **75**, otrzymując hydroksydiketone **71** z 75% wydajnością i 99% nadmiarem enancjomerycznym (Rys. 19) [44]. Praktyczne znaczenie epotilonu spowodowane jest jego aktywnością antynowotworową (preparat handlowy Taxotere) [45–51].



Rysunek 19. Synteza totalna epotilonu  
Figure 19. Total synthesis of epothilone

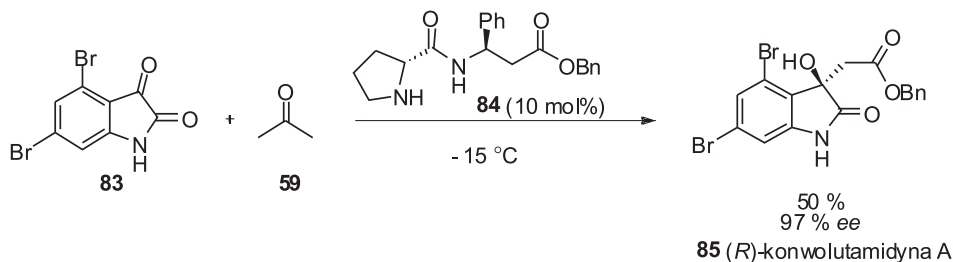
W wyniku katalizowanej proliną reakcji acetonu i aldehydu piwaloilowego można otrzymać hydroksyketone **76** z 99% czystością optyczną. Dwie grupy badawcze wybrały ten substrat jako dogodny materiał wyjściowy w syntezie apatoksyny **A 82** (Rys. 20) – cyklicznego związku zawierającego zarówno wiązania peptydowe jak i łańcuch poliketydowy, wyizolowanego z morskich cyjanobakterii *Lyngbya majuscula* [52]. Podejście Doi'ego i in. polegało na zabezpieczeniu grupy hydrok-

syłowej w wyjściowym aldołu **76**, a następnie przekształceniu grupy ketonowej w ester allilowy kwasu octowego (Rys. 20). Otrzymany związek **77** poddano izomerizacji w obecności katalizatora palladowego, a następnie przekształcono w aldehyd **81** [53]. Ma i współpracownicy wykorzystali koncepcję z użyciem laktonu **80**, otrzymany również z ketonu **76** [54], który w serii dodatkowych przekształceń prowadził do otrzymania apratoksyny A **82**.



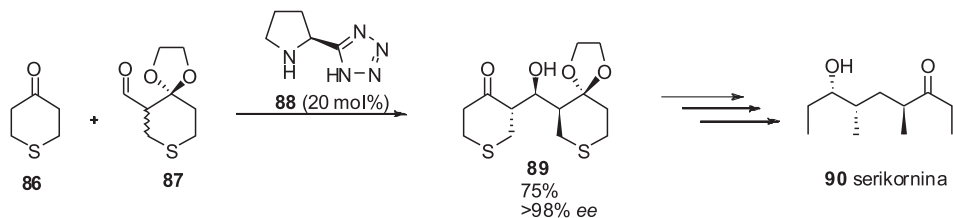
Rysunek 20. Synteza apratoksyny  
Figure 20. Synthesis of apratoxin

Luppi i in. zaprezentowali syntezę konwolutamidyny **85**, wykorzystując reakcję aldolową acetonu **59** z 4,6-dibromoizatyną **83**, katalizowaną dipeptydem **84**. W ten sposób otrzymali pochodną indolu **85** z 50% wydajnością i 97% nadmiarem enancjomerycznym (Rys. 21). Jest to interesujący przykład stereokontrolowanej syntezy związku z czwartorzędowym centrum stereogenicznym. Produkt reakcji – konwolutamidyna wchodzi w skład alkaloidów morskich mszywiolów *Amathia convolute*, wykazując aktywność w rozróżnianiu promielocytowych komórek HL-60 towarzyszących białaczce [55].



Rysunek 21. Synteza totalna konwolutamidyny  
Figure 21. Total synthesis of convolutamidine

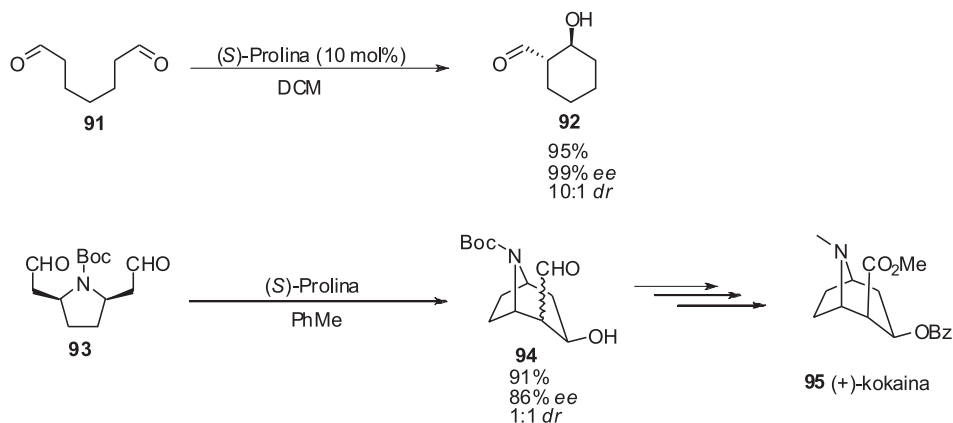
Interesującym przykładem jest wykorzystanie tiopiranonu **86** w syntezie poli-propionianów. Autorzy zastosowali keton cykliczny, dla którego obserwowana stereoselektywność reakcji jest wyższa niż dla układów niecyklicznych. Związek ten wykazuje również większą reaktywność w porównaniu do syntetycznego ekwiwalentu – pentan-3-onu. Wykorzystując taką strategię Ward zaprezentował efektowną syntezę serikorniny **90** [56]. W obecności 20 mol% terazolowej pochodnej proliny **88** jako katalizatora reakcja pomiędzy substratami **86** i **87**, prowadziła do otrzymania aldolu **89** z 75% wydajnością i 98% nadmiarem enancjomerycznym (Rys. 22). Wartym odnotowania jest fakt, że w tych warunkach reakcji dochodzi do kinetycznego rozdziału racemicznego związku **87**. W kolejnych sześciu etapach autorzy przekształcili prekursor **89** w serikorninę **90**, feromon wydzielany przez samice cygarowca (*Lasioderma serricorne Fabricius*).



Rysunek 22. Wykorzystanie reakcji aldolowej w syntezie totalnej serikorniny  
Figure 22. Application of aldol reaction in total synthesis of serricornin

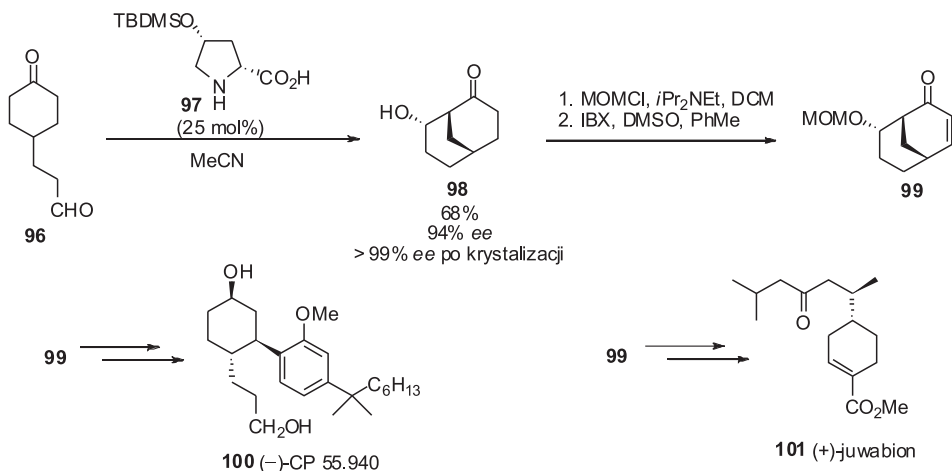
Dotychczas w tekście zaprezentowane zostały międzycząsteczkowe warianty reakcji aldolowej. Możliwe jest również przeprowadzenie wewnątrzcząsteczkowej reakcji aldolowej. Rozszerza to zakres i możliwości reakcji aldolowej katalizowanej aminokwasami. List zaprezentował pierwszą wewnątrzcząsteczkową aldolizację *enolexo* dialdehydu **91** otrzymując pochodną cykloheksanolu **92** [57]. Proces ten wydaje się atrakcyjny w desymetryzacji związków *mezo* [58], co zostało wykorzystane w syntezie (+)-kokainy **95** przez Pearsona i Mansa (Rys. 23) [59]. Szkielet tropanu **94** wykorzystany do dalszych przemian otrzymano z 91% wydajnością jako mieszaninę epimerów w reakcji *mezo*-dialdehydu katalizowanej (*S*)-proliną (Rys. 23).





Rysunek 23. Synteza (-)-kokainy na drodze bezpośredniej reakcji aldolowej katalizowanej proliną  
 Figure 23. Synthesis of (-)-cocaine by direct aldol reaction catalyzed by proline

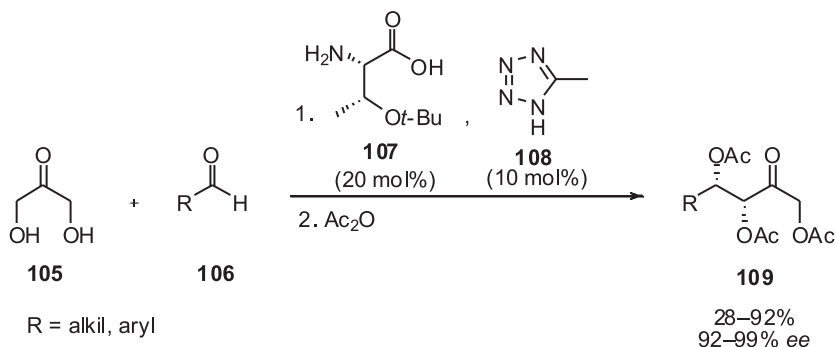
Iwabuchi zaprezentował wewnątrzcząsteczkową aldolizację oraz desymetryzację 4-podstawionych cykloheksanonów (Rys. 24). W obecności 25 mol% zabezpieczonej hydroksyproliny **97** jako katalizatora, odpowiedni bicykliczny produkt **98** otrzymano z 68% wydajnością z 94% nadmiarem enancjomerycznym (99% ee po dodatkowej rekryystalizacji) [60]. Po zabezpieczeniu grupy hydroksylowej i dehydrogenacji za pomocą IBX autorzy otrzymali nienasycony keton **99**, który posłużył do syntezy dwóch różnych związków naturalnych. Iwabuchi wychodząc z ketonu **99** otrzymał w ten sposób agoniste receptora kanabinoidowego (-)-CP 55940 **100** [61]. W kolejnej syntezie Iwabuchi'ego, keton **99** został użyty jako element strukturalny w syntezie (+)-juwabionu **101** [62], seskwiterpenu ujawniającego aktywność hormonalną u insektów.



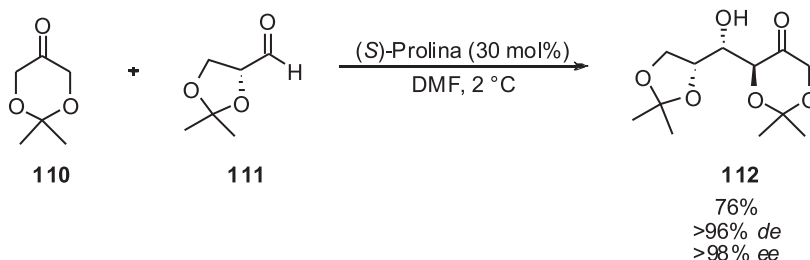
Rysunek 24. Wykorzystanie organokatalizy w syntezie juwabionu i CP 55.940  
 Figure 24. Application of organocatalysis in total synthesis of juvabione and CP 55.940



oraz enancjoselektywnością na poziomie 90%. Powstające w reakcji stereoizomery charakteryzują się konfiguracją *anti* (Rys. 27), analogicznie jak to ma miejsce w katalizowanej aldolazami biosyntezie tagatozy i fukulozy o stereochemii *anti*.



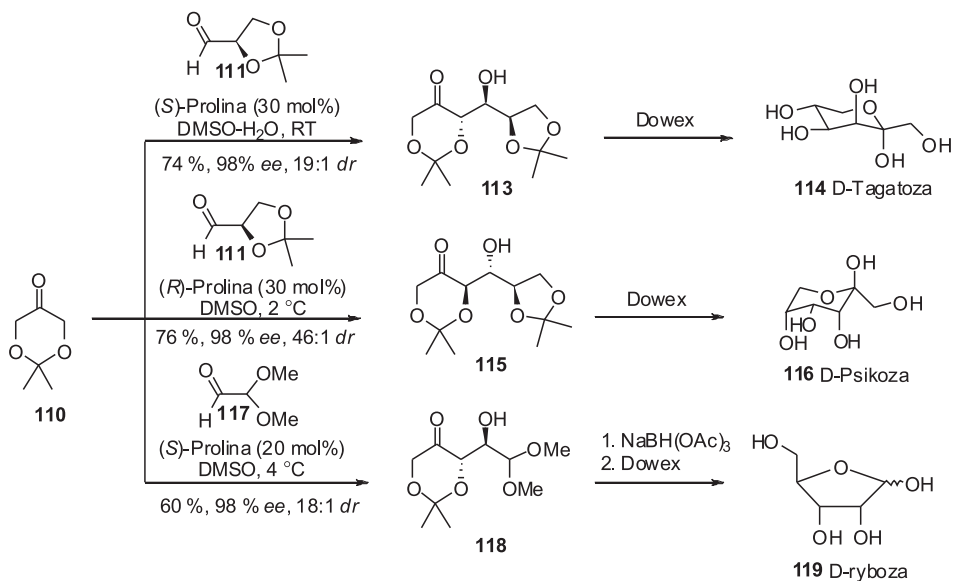
Rysunek 26. Reakcja aldolowa DHA katalizowana pierwszorzędową aminą  
Figure 26. Aldol reaction of DHA catalyzed by primary amine



Rysunek 27. Reakcja aldolowa zabezpieczonego DHA  
Figure 27. Aldol reaction of protected DHA

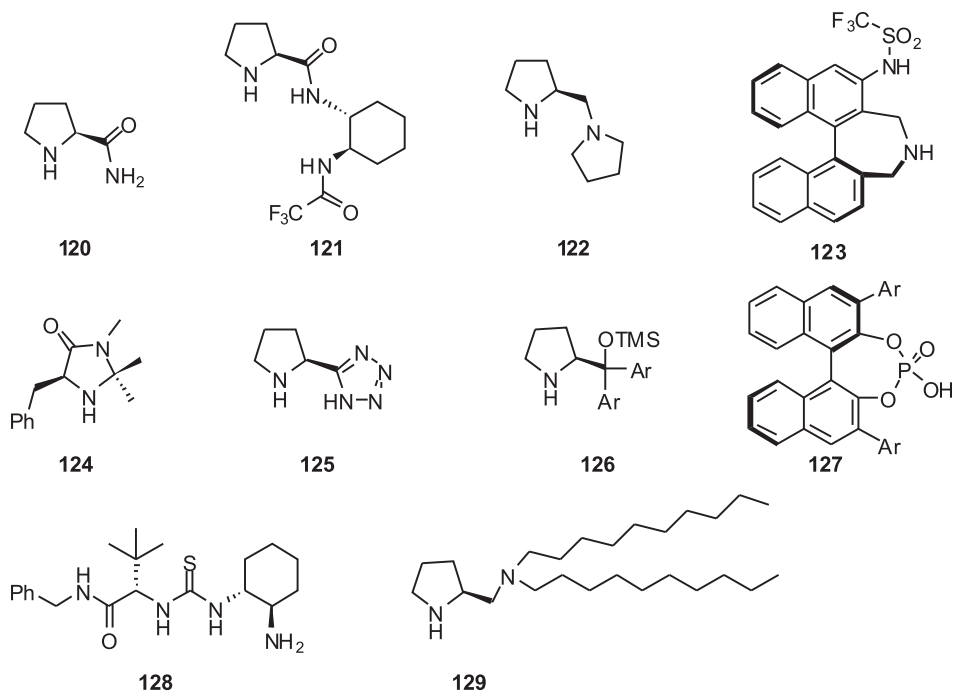
Przytoczone przykłady ukazują, w jaki sposób rodzaj substratu i katalizator mogą prowadzić do otrzymania diastereoizomerycznych produktów, rozszerzając możliwości otrzymania szeregu pochodnych polihydroksylovych. Dobierając odpowiednie warunki reakcji, reagenty i układy katalityczne można otrzymać szereg pochodnych cukrów z doskonałymi wydajnościami i czystością optyczną (Rys. 28) [70].

Prolina nie jest tylko jedynym związkiem wykorzystywanym w reakcjach katalizowanych małymi cząsteczkami organicznymi. W literaturze można spotkać szereg różnych, nawet bardzo odmiennych strukturalnie od swojego prekursora, układów katalitycznych, przykłady niektórych z nich zaprezentowane zostały na Rysunku 29.



Rysunek 28. Wykorzystanie bezpośredniej reakcji aldolowej w syntezie cukrów

Figure 28. Application of direct aldol reaction in synthesis of sugars



Rysunek 29. Przykłady najczęściej używanych organokatalizatorów

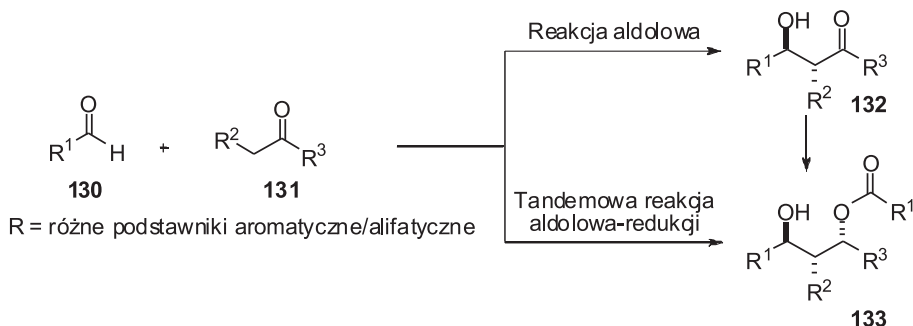
Figure 29. Examples of most common organocatalysts

Obecnie organokataliza jest szeroko wykorzystywana w wielu laboratoriach na całym świecie – dąży się do opracowania coraz bardziej zaawansowanych układów katalitycznych oraz rozwoju nowych strategii prowadzenia reakcji chemicznych [71–75].

Koncepcja bezpośredniej reakcji aldolowej niemodyfikowanych aldehydów i ketonów w warunkach kontroli asymetrycznej znalazła szerokie zastosowanie w chemii organicznej, a ogromny sukces katalizatorów dwufunkcyjnych spowodował, iż znalazły one zastosowanie również w innych reakcjach enancjoselektywnych [76, 77].

### 3. TANDEMOWA REAKCJA ALDOLOWA-REDUKCJI

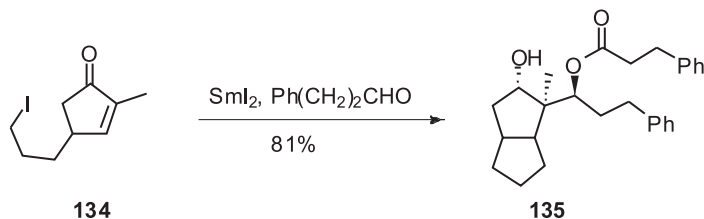
Szczególnym rodzajem bezpośredniej reakcji aldolowej jest reakcja aldolowa-Tiszczenki, zdefiniowana jako reakcja ketonu z dwiema cząsteczkami aldehydu. Stanowi przy tym metodę komplementarną do klasycznej, bezpośredniej reakcji aldolowej. Jest to jedna z mało znanych w literaturze metod syntezy enancjomerycznie wzbogaconych 1,3-dioli **133** o określonej konfiguracji absolutnej. W reakcji tej dzięki połączeniu etapu addycji z nieodwracalną reakcją redukcji można w jednej prostej sekwencji uzyskać produkty, które wcześniej otrzymywane były w kilku etapach [78]. Podczas gdy w klasycznej reakcji aldolowej mogą powstawać dwa nowe centra stereogeniczne (związek **132**), to w drugim przypadku mamy do czynienia z utworzeniem aż trzech centrów stereogenicznych (związek **133**, Rys. 30).



Rysunek 30. Tandemowa reakcja aldolowa-redukcji  
Figure 30. Tandem aldol-reduction reaction

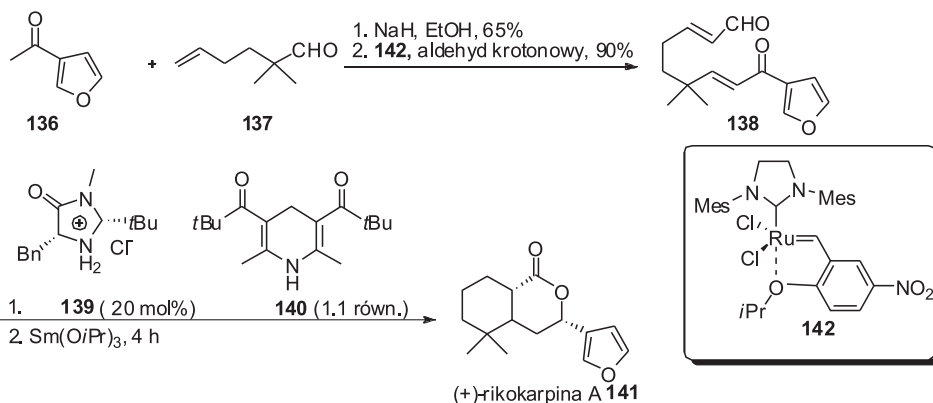
Pierwszy przykład stereoselektywnej reakcji aldolowej-redukcji ketonów z aldehydami został zaprezentowany w 1990 roku przez Heathcocka [79]. W reakcji ketonów z aldehydami katalizowanych kompleksami niklu, samaru [80, 81], cynku [82], tytanu [83, 84], powstają odpowiednie monoestry 1,3-dioli o konfiguracji 1,2-*anti*-1,3-*anti* [85, 86].

Curran i Wolin [81] zaprezentowali diastereo selektywną tandemową reakcję aldolową-redukcji katalizowaną jodkiem samaru połączoną dodatkowo z etapem cyklizacji (Rys. 31). Zaobserwowali przy tym powstawanie tylko jednego stereoisomeru **135**, o konfiguracji (1,2-*anti*-1,3-*anti*).



Rysunek 31. Wykorzystanie reakcji aldolowej-Tiszchenki w syntezie związku bicyklicznego  
Figure 31. Application of aldol-Tishchenko reaction in a synthesis of bicyclic compound

List zaprezentował interesującą syntezę totalną rikokarpiny A **141** [87], seskwiterpenu wyizolowanego z wątrobowca *Ricciocarpos natans*, wykazującego aktywność przeciw wodnym ślimakom *Biomphalaria glabrata*, przenoszącym choroby pasożytnicze wywoływane przez rozdzielnopłciowe przywry z rodzaju *Schistosoma*, występujące w rejonach subtropikalnych. Schistosomatoza jest obok malarii najpoważniejszym w skali światowej parazytologicznym problemem zdrowotnym [88–90]. Synteza rikokarpiny polegała na wykorzystaniu kaskadowej reakcji Michaela-Tiszchenki katalizowanej pochodną **139** w obecności estru **140**, a następnie reakcji z pochodną samaru (Rys. 32).

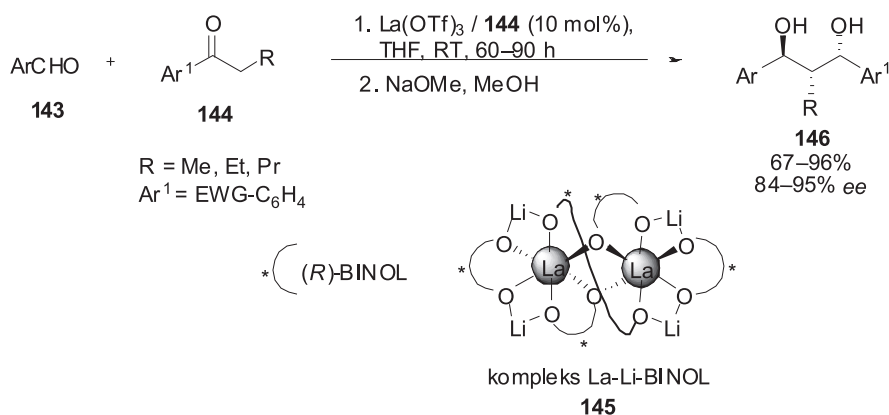


Rysunek 32. Wykorzystanie reduktywnej organokatalitycznej reakcji Michaela-Tiszchenki w syntezie rikokarpiny  
Figure 32. Application of organocatalytic reductive Michael-Tishchenko reaction in the synthesis of riccio-

carpin

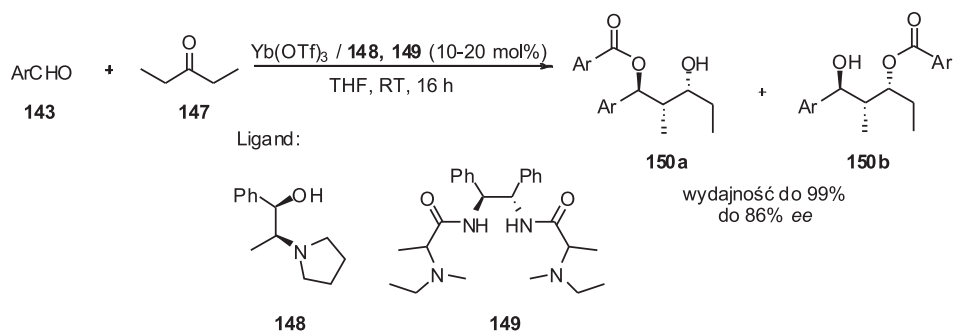
W 2004 roku Shibasaki i niezależnie Młynarski, zaprezentowali pierwsze przykłady międzycząsteczkowej asymetrycznej reakcji aldolowej-Tiszczenki [91, 92]. Zaproponowana metodologia jest również rozwiązaniem problemu braku reaktywności ketonów metylenowych w bezpośredniej asymetrycznej reakcji aldolowej. Ketony etylowe i wyższe chętnie wступują w reakcje aldolową, gdy następny etap redukcji przesuwa równowagę reakcji w stronę tworzenia diolu.

Shibasaki zademonstrował zastosowanie układu katalitycznego złożonego z  $\text{La}(\text{OTf})_3$ /*(R)*-BINOL/ $\text{BuLi}$  **145** w enancjoselektywnej reakcji pochodnych propiofenonu **144** z aldehydami aromatycznymi **143**. Przy wykorzystaniu takiego układu katalitycznego autorzy otrzymali 1,3-diole **146** z nadmiarami enancjomerycznymi dochodzącymi do 95%. Na uwagę zasługuje jednak fakt, że tak dobre wyniki osiągnęte są tylko dla pochodnych propiofenonu zawierających w pierścieniu podstawniki silnie elektroakceptorowe, w szczególności grupę trifluorometylową, ograniczając tym samym możliwości praktycznego zastosowania tej reakcji (Rys. 33). Reakcja wymagała bardzo starannego doboru komponentów katalizatora. Najlepsze rezultaty uzyskano przy wykorzystaniu układu katalitycznego, w którym poszczególne reagenty pozostają względem siebie w ściśle określonej proporcji. Autorzy wykazali, że najskuteczniejszym układem jest  $\text{La}(\text{OTf})_3$ /*(R)*-BINOL/ $\text{BuLi}$  pozostający w stosunku 1 : 3 : 5,6. Przy tak dobranych warunkach reakcji odpowiednie monoestry 1,3-dioli tworzą się z wydajnościami rzędu 96%, a po hydrolizie wobec katalitycznej ilości metanolanu sodu powstają odpowiednie 1,3-diole. Badania mechanizmu reakcji i układu katalitycznego pokazały, iż tryflan litu prowadzi do zmian w strukturze kompleksu LLB, generując tym samym nowy binuklearny kompleks  $[\text{La}_2\text{Li}_4(\text{binaftolan})_5]$  **145**. Analizy spektroskopowe jak i inne eksperymenty wykazały powstawanie związku o ściśle określonej strukturze oligomerycznej (Rys. 33) [93].



Rysunek 33. Tandemowa reakcja aldolowa-redukcji ketonów metylenowych  
Figure 33. Tandem aldol-reduction reaction of methylene ketones

Nasza grupa badawcza przedstawiła pierwszy przykład reakcji pomiędzy alifatycznymi ketonami **147**, a aldehydami aromatycznymi **143**, katalizowanej chiralnymi kompleksami lantanowców [92, 94–97] (Rys. 34). Najlepsze zdolności katalityczne wykazywały kompleksy złożone z tryfluanu iterbu i pochodnych aminoalkoholi **148** oraz pochodnych dioli i diaminy **149**. Tak otrzymane katalizatory promują reakcję pentan-3-onu z benzaldehydem; z wydajnością 96%, diastereo selektywnością 95% oraz nadmiarami enancjomerycznymi dochodzącymi do 86% [96, 97]. W oparciu o analizę wpływu struktury liganda na wydajność i stereoselektywność reakcji autorzy ustalili, iż najlepsze rezultaty dają pochodne norefedrynowe (Rys. 34). Pochodna (1*R*,2*S*)-1-fenilo-2-(1-pirolidyno)-1-propanolu **148** w połączeniu z tryflanem iterbu (w proporcji 4 : 1) katalizuje reakcję pomiędzy etylo- i propyloketonami z aldehydami aromatycznymi, prowadząc do powstania monoestrów *anti*-1,3-dioli **150a/150b** zarówno z wysoką diastereo selektywnością (> 95%) i nadmiarami enancjomerycznymi dochodzącymi do 86% w zależności od użytego substratu.



Rysunek 34. Tandemowa reakcja aldolowa-redukcji pentan-3-onu  
Figure 34. Tandem aldol-reduction reaction of pentan-3-one

Zaprezentowane do tej pory układy katalityczne tandemowej reakcji aldolowej-redukcji wykazują również reaktywność w reakcji redukcji Evansa, polegającej na redukcji grupy karbonylowej aldoli. Tego typu koncepcja wykorzystana została m.in. w syntezie totalnej rapamycyny [98], callipeltosidu [99], bryostatyny 2 [100, 101], czy (+)-13-deoksytedonalidu [102, 103].

## PODSUMOWANIE

Reakcja aldolowa jest jedną z najważniejszych reakcji w chemii organicznej, szeroko wykorzystywaną zarówno w syntezie laboratoryjnej, jak i przez organizmy żywe. Często postrzegana jako addycja enolanu lub jego ekwiwalentu do związku karbonylowego, prowadzi do otrzymania związku  $\beta$ -hydroksykarbonylowego, z utworzeniem dwóch centrów stereogenicznych. Badania reakcji aldolowej doprowadziły do opracowania szeregu metod syntezy enolanów i zaprojektowania rozmaitych



katalizatorów promujących przebieg reakcji aldolowej, dając dostęp do wszystkich stereoizomerów. Bezpośrednie obserwacje procesów przebiegających w naturze przyczyniły się do opracowania nowej klasy układów katalitycznych reakcji aldolowej wykorzystujących działanie synergiczne — dwufunkcyjnych kompleksów kwasów Lewisa — zasad Brønsteda, w których podobnie jak w naturze donor przyłącza się do akceptora bez uprzedniej modyfikacji ich struktury. Brak etapu związanego z aktywacją substratów to niewątpliwie duża zaleta, skracająca czas reakcji i koszty syntezy. Bezpośrednia reakcja aldolowa aldehydów, ketonów i innych związków karbonylowych może być katalizowana zarówno dwufunkcyjnymi kompleksami metalicznymi, jak i na drodze organokatalitycznej [104].

Wykorzystanie organokatalizy niesie za sobą szereg korzyści, szczególnie z punktu widzenia przemysłu farmaceutycznego, dlatego też jest ona intensywnie rozwijana w wielu laboratoriach na całym świecie. Bardzo trudnym zadaniem jest jednoznaczne stwierdzenie, która z metod prowadzenia bezpośredniej reakcji aldolowej przynosi więcej korzyści. Natura opracowała dwie klasy uzupełniających się enzymów, obu nadając specyficzne funkcje, a kompleksy metaliczne posiadają unikalne właściwości, których brakuje małym cząsteczkom organicznym. Mimo jednak dużego postępu i rozwoju w tej dziedzinie chemii, poszukiwanie nowych, ulepszonych katalizatorów reakcji aldolowej ma ogromne znaczenie, z jednej strony z powodu niezwyklej użyteczności tej reakcji w syntezie związków pochodzenia naturalnego, a z drugiej z uwagi na wiele ograniczeń aplikacyjnych znanych układów katalitycznych.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. Mahrwald, Eds *Modern Aldol Reactions*, Vol. 1–2, Wiley–VCH, Weinheim, 2004.
- [2] T. Mukaiyama, K. Narasaka, K. Banno, *Chem. Lett.*, 1973, 1011.
- [3] T. Mukaiyama, *Org. React.*, 1982, **28**, 203.
- [4] B. Schetter, R. Mahrwald, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 7506.
- [5] S.M. Dean, W.A. Greenberg, C.-W. Wong, *Adv. Synth. Catal.*, 2007, **349**, 1308.
- [6] T.D. Machajewski, Ch.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2000, **39**, 1352.
- [7] M. Shibasaki, H. Sasai, T. Arai, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1997, **36**, 1236.
- [8] S. Saito, H. Yamamoto, *Acc. Chem. Res.*, 2004, **37**, 570.
- [9] W. Notz, F. Tanaka, C.F. Barbas III, *Acc. Chem. Res.*, 2004, **36**, 580.
- [10] Y.M.A. Yamada, N. Yoshikawa, H. Sasai, M. Shibasaki, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1997, **36**, 1871.
- [11] N. Yoshikawa, N. Kumagai, S. Matsunaga, G. Moll, T. Ohshima, T. Suzuki, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 2466.
- [12] H. Yamamoto, K. Futatsugi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2005, **44**, 1924.
- [13] N. Yoshikawa, Y.M.A. Yamada, J. Das, H. Sasai, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 4168.
- [14] Y.M.A. Yamada, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 5561.
- [15] N. Yoshikawa, M. Shibasaki, *Tetrahedron*, 2001, **57**, 2569.
- [16] J.B. Tunac, B.D. Graham, W.E. Dobson, *J. Antibiot.*, 1983, **36**, 1595.

- [17] S.S. Stampwala, R.H. Bunge, T.R. Hurley, N.E. Willmer, A.J. Brankiewicz, C.E. Steinman, T.A. Smitka, J.C. French, *J. Antibiot.*, 1983, **36**, 1601.
- [18] G.C. Hokanson, J.C. French, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 462.
- [19] R.C. Jackson, D.W. Fry, T.J. Boritzki, B.J. Roberts, K.E. Hook, W.R. Leopold, *Adv. Enzyme Reg.*, 1985, **23**, 193.
- [20] K. Fujii, K. Maki, M. Kanai, M. Shibasaki, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 733.
- [21] K. Makai, R. Motoki, K. Fujii, M. Kanai, T. Kobayashi, S. Tamura, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 17111.
- [22] B.M. Trost, H. Ito, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 12003.
- [23] B.M. Trost, E.R. Silcoff, H. Ito, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 2497.
- [24] B.M. Trost, M.U. Frederiksen, J.P.N. Papillon, P.E. Harrington, S. Shin, B.T. Shireman, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 3666.
- [25] B.M. Trost, H. Ito, E.R. Silcoff, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 3367.
- [26] N.C. Franca, J.C.R. Polonsky, *Acad. Sci. Paris*, 1971, **273**, 439.
- [27] M.T. Davis-Coleman, D.E. Rivett, *Phytochemistry*, 1987, **26**, 3047.
- [28] J.M. Watt, M.G.B. Brandwijk, *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, Livingston: Edinburgh, 1962, 516.
- [29] L. Van Puyvelde, S. Dube, E. Uwimana, C. Uwera, R.A. Domisse, E.L. Esmans, O. Van Schoor, A. Vlietinck, *Phytochemistry*, 1979, **18**, 1215.
- [30] L. Van Puyverde, N. De Kimpe, S. Dube, M. Chagnon-Dube, F. Boily, F. Borremans, M.J.O. Schamp, *Phytochemistry*, 1981, **20**, 2753.
- [31] B.M. Trost, Y.S.C. Yeh, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 3513.
- [32] N. Kumagai, S. Matsunaga, N. Yoshikawa, T. Ohshima, M. Shibasaki, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 1539.
- [33] T. Suzuki, N. Yamagiwa, Y. Matsuto, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, M. Shibasaki, R. Noyori, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **40**, 4669.
- [34] R. Mahrwald, B. Ziemer, *Tetrahedron Lett.*, 2002, **43**, 4459.
- [35] B. List, *Tetrahedron*, 2002, **58**, 5573.
- [36] B. List, *Synlett*, 2001, 1675.
- [37] P.W. Hickmott, *Tetrahedron*, 1982, **38**, 1975.
- [38] Z.G. Hajos, D.R. Parrish, *Asymmetric Synthesis of Optically Active Polycyclic Organic Compounds*. Patent Niemiecki DE 2102623, 29 lipiec 1971.
- [39] Z.G. Hajos, D.R. Parrish, *J. Org. Chem.*, 1974, **39**, 1615.
- [40] U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1971, **10**, 496.
- [41] B. List, R.A. Lerner, C.F. Barbas, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 2395.
- [42] S. Mukherjee, J.W. Yang, S. Hoffmann, B. List, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 5471.
- [43] B. List, P. Pojarliev, C. Castello, *Org. Lett.*, 2001, **3**, 573.
- [44] Y. Zheng, M.A. Avery, *Tetrahedron*, 2004, **69**, 2091.
- [45] Z. Yang, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, K.C. Nicolaou, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1997, **36**, 166.
- [46] K.C. Nicolaou, F. Sarabia, S. Ninkovic, Z. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1997, **36**, 525.
- [47] K.C. Nicolaou, N. Winssinger, J. Pastor, S. Ninkovic, F. Sarabia, Y. He, D. Vourloumis, Z. Yang, T. Li, *Nature*, 1997, **387**, 268.
- [48] K.C. Nicolaou, Y. He, D. Vourloumis, H. Vallberg, F. Roschangar, F. Sarabia, S. Ninkovic, Z. Yang, J.I. Trujillo, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 7960.
- [49] K.C. Nicolaou, S. Ninkovic, F. Sarabia, D. Vourloumis, Y. He, H. Vallberg, M.R.V. Finlay, Z. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 7974.
- [50] K.C. Nicolaou, D. Vourloumis, T. Li, J. Pastor, N. Winssinger, Y. He, S. Ninkovic, F. Sarabia, H. Vallberg, F. Roschangar, N.P. King, M.R.V. Finlay, P. Giannakakou, P. Verdier-Pinard, E. Hamel, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1997, **36**, 2097.

- [51] K.C. Nicolaou, H. Vallberg, N.P. King, F. Roschangar, Y. He, D. Vourloumis, C.G. Nicolaou, *Chem. Eur. J.*, 1997, **3**, 1957.
- [52] H. Leusch, W.Y. Yoshida, R.E. Moore, V.J. Paul, T.H. Corbett, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 5418.
- [53] T. Doi, Y. Numajiri, A. Munakata, T. Takahashi, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 531.
- [54] B. Zou, J. Wei, G. Cai, D. Ma, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 3503.
- [55] G. Luppi, M. Monari, R.J. Corre a, F.A. Violante, A.C. Pinto, B. Kaptein, Q.B. Broxterman, S.J. Garden, C. Tomasini, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 12017.
- [56] D.E. Ward, V. Jheengut, G.E. Beye, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 8989.
- [57] C. Pidathala, L. Hoang, N. Vignola, B. List, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 2785.
- [58] R.W. Hoffmann, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 1096.
- [59] D.M. Mans, W.H. Pearson, *Org. Lett.*, 2004, **6**, 3305.
- [60] N. Itagaki, M. Kimura, T. Sugahara, Y. Iwabuchi, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 4185.
- [61] N. Itagaki, T. Sugahara, Y. Iwabuchi, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 4181.
- [62] N. Itagaki, Y. Iwabuchi, *Chem. Comm.* 2007, 1175.
- [63] M. Market, R. Mahrwald, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 40.
- [64] W. Notz, B. List, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 5260.
- [65] W. Notz, T. Bui, C.F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, **123**, 5260.
- [66] S.S.V. Ramasastry, K. Albertshofer, N. Utsumi, F. Tanaka, C.F. Barbas III, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 5572.
- [67] D. Enders, C. Grondal, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 1210.
- [68] D. Enders, C. Grondal, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 329.
- [69] C. Grondal, D. Enders, *Adv. Synth. Catal.*, 2007, **349**, 694.
- [70] M. Market, R. Mahrwald, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 40.
- [71] A. Berkessel, H. Gr oger, *Asymmetric Organocatalysis — From Biomimetic Concept to Application in Asymmetric Synthesis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, 2005.
- [72] P.I. Dalko, *Enantioselective Organocatalysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, 2007.
- [73] G. Guillena, C. N jera, D.J. Ram n, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, **18**, 2249.
- [74] P. Melchiorre, M. Mariago, A. Carlone, G. Bartoli, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 6138.
- [75] A. Dondoni, A. Massi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 2.
- [76] S. Matsunaga, T. Ohshima, M. Shibasaki, *Adv. Synth. Catal.*, 2002, **344**, 3.
- [77] M. Shibasaki, N. Yoshikawa, *Chem. Rev.*, 2002, **102**, 2187.
- [78] S.E. Bode, M. Wolberg, M. M ller, *Synthesis*, 2006, 557.
- [79] E.R. Burkhardt, R.G. Bergman, C.H. Heathcock, *Organometallics*, 1990, **9**, 30.
- [80] L. Lu, H.-Y. Chang, J.-M. Fang, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 843.
- [81] D.P. Curran, R.L. Wolin, *Synlett*, 1991, 317.
- [82] Y. Horiuchi, M. Taniguchi, K. Oshima, K. Utimoto, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 5353.
- [83] R. Mahrwald, B. Cosisella, *Synthesis*, 1996, 1087.
- [84] C. Delas, O. Blacque, C. M ise, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1*, 2000, 2265.
- [85] A. Baramее, N. Chaichit, P. Intawee, C. Thebtaranonth, Y. Thebtaranonth, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1991, 1016.
- [86] F. Abu-Hasanayan, A. Streitwieser, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 2954.
- [87] A. Michrowska, B. List, *Nature Chemistry*, 2009, **1**, 225.
- [88] G. Wurzel, H. Becker, *Phytochemistry*, 1990, **29**, 2565.
- [89] G. Wurzel, H. Becker, H.T. Eicher, K. Tiefensee, *Planta Med.*, 1990, **56**, 444.
- [90] H.D. Zinsmeister, H. Becker, T. Eicher, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1991, **30**, 130.
- [91] V. Gnanadesikan, Y. Horiuchi, T. Ohshima, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 7782.
- [92] J. Mlynarski, M. Mitura, *Tetrahedron Lett.*, 2004, **45**, 7549.

- [93] Y. Horiuchi, V. Gnanadesikan, T. Ohshima, H. Masu, K. Katagiri, Y. Sie, K. Yamaguchi, M. Shibasaki, *Chem. Eur. J.*, 2005, **11**, 5195.
- [94] J. Mlynarski, J. Jankowska, B. Rakiel, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 1521.
- [95] J. Mlynarski, J. Jankowska, B. Rakiel, *Chem. Comm.*, 2005, 4854.
- [96] J. Mlynarski, B. Rakiel, M. Stodulski, A. Suszczyńska, J. Frelek, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 8158.
- [97] M. Stodulski, J. Jaźwiński, J. Mlynarski, *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, 5553.
- [98] D. Romo, S.D. Meyer, D.D. Johnson, S.L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 7906.
- [99] I. Paterson, R.D.M. Davies, R. Marquez, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 603.
- [100] D.A. Evans, P.H. Carter, E.M. Carreira, A.B. Charette, J.A. Prunet, M. Lautens, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1998, **37**, 2354.
- [101] D.A. Evans, P.H. Carter, E.M. Carreira, A.B. Charette, J.A. Prunet, M. Lautens, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 7540.
- [102] A.B. Smith III, D. Lee, C.M. Adams, M.C. Kozlowski, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 4539.
- [103] A.B. Smith III, C.M. Adams, S.A.L. Barbosa, A.P. Degnan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 350.
- [104] Najnowszy artykuł na temat bezpośredniej reakcji aldolowej: B.M. Trost, Ch.S. Brindle, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 1600.

Praca wpłynęła do Redakcji 30 marca 2010



**SUBSTANCJE BIOLOGICZNIE AKTYWNE  
W OLEJACH JADALNYCH**

**BIOACTIVE COMPOUNDS IN EDIBLE OILS**

**Jan Malyszko\*, Sławomir Michałkiewicz**

*Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy Jana Kochanowskiego, Instytut Chemii,  
ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce  
\*e-mail: malyszko@ujk.edu.pl*

---

Abstract

Wstęp

1. Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe
2. Witamina E
3. Lignany
4. Fitosterole
5. Inne substancje bioaktywne

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr hab. Jan Małyszko** jest absolwentem Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego (1958). Stopień naukowy doktora nauk chemicznych uzyskał na Uniwersytecie Warszawskim (1966), a doktora habilitowanego na Uniwersytecie Marii Curie Skłodowskiej (1978). Obecnie jest emerytowanym profesorem chemii Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego (UJK) w Kielcach. Jego zainteresowania skupiają się wokół mechanizmu i kinetyki procesów elektrodowych oraz elektrochemii i elektroanalitycznego oznaczania związków o znaczeniu biologicznym.

**Dr Sławomir Michalkiewicz** ukończył w 1989 r. studia chemiczne na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Kielcach (obecnie Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy Jana Kochanowskiego). Stopień doktora nauk chemicznych uzyskał w 1998 r. na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie. Pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii UJK w Kielcach. Prowadzi badania nad elektrochemicznymi właściwościami antyoksydantów oraz ich elektroanalitycznym oznaczaniem w produktach spożywczych i farmaceutycznych.

## ABSTRACT

Recently, the food industry, the agricultural community and consumers have shown a growing interest in the so-called functional food [1–3]. Natural bioactive compounds in some dietary products are claimed to prevent various diseases such as inflammation, degenerative diseases and cancer [5]. This paper reviews molecular structures, nutritional importance and availability of natural bioactive compounds present in vegetable and fish oils.

Chapter 1 includes general description of polyunsaturated fatty acids (PUFA's), their physiological role and metabolism in mammalian organisms ([7–20], Schemes 1 and 2, Figs. 1 and 2). There is a link between dietary PUFA intake, inflammation and immunity. A composition of fatty acids in mammalian cells is sensitive to change in the fatty acids diet. The *n*-6 PUFA's are the precursors of prostaglandines and related compounds, which play an important role in inflammation and in regulation of immunity. On the contrary, the *n*-3 PUFA's abundant in fish oils and also present in some plant seed oils have anti-inflammatory properties and are therapeutically useful in several diseases. DHA from this family may also exert beneficial effects on development of the nervous system.

Irrespective of PUFA's, vegetable oils contain a variety of bioactive compounds, mainly lipid-soluble antioxidants. This class of antioxidants includes vitamin E ([21–37], Figs. 3 and 4), which is a generic term that constitutes a group of structurally related compounds comprising of tocopherols and tocotrienols. A presence of the phenolic hydroxyl group in these compounds is critical for their antioxidant activity and enables to scavenge free-radical species both *in vitro* and *in vivo*.

Other bioactive compounds present in vegetable oils are plant lignans ([38–64], Fig. 5). In a human body, the plant lignans are converted to the mammalian lignans enterodiols and enterolactone. In the literature cited, lignans are discussed as anticancer agents, especially against breast and prostate cancer. Apart from a weak estrogenic properties, their anticancer activity may be supported on the antioxidation capacity.

Vegetable oils are also a good source of phytosterols ([65–80], Figs. 6 and 7). Despite their similar chemical structures, phytosterols and cholesterol differ markedly from each other in regard to their pharmacological characteristics including intestinal absorption and further metabolism. Phytosterols produce a wide spectrum of therapeutic effects in the human organism including anti-tumor properties.

In addition, another compounds present in edible oils are described, *e.g.* carotens and coenzyme Q<sub>10</sub>, all of which have potent biological activity, and exert beneficial effects in regard to cardiovascular and cancer diseases ([81–101], Fig. 8).

The majority of the bibliography included in the present review is selected from that published since 2000 by the year 2009.

Keywords: edible oils, essential fatty acids, tocopherols, lignans, phytosterols

Słowa kluczowe: oleje jadalne, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, tokole, lignany, fitosterole



**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

AA	kwasy arachidonowe
ALA	kwasy $\alpha$ -linolenowe
DGLA	kwasy dihomog $\gamma$ -linolenowe
DHA	kwasy dokozaheksaenowe
ED	enterodiol
EFA	niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (ang. <i>essential fatty acids</i> )
EL	enterolakton
EPA	kwasy eikozapentaenowe
GLA	kwasy $\gamma$ -linolenowe
HMR	hydroksymatairezynol
LA	kwasy linolowe
LAR	laricyrezynol
MAT	matairezynol
MED	mediorezynol
NNKT	niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe
PIN	pinorezynol
PUFA	wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. <i>polyunsaturated fatty acids</i> )
SEC	sekoizolaricyrezynol
SYR	syringarezynol

## WSTĘP

W ostatnich latach obserwuje się znaczny wzrost zainteresowania społeczeństw utrzymaniem dobrego stanu zdrowia i spowolnieniem procesów starzenia. Powoduje to wzrost popytu na żywność funkcjonalną, zwaną również żywnością probiotyczną, wywierającą pożądane oddziaływanie na organizm [1]. Wiadomo, że niedobór lub nadmiar pewnych składników odżywczych może wywołać zgubne następstwa zdrowotne. Żywność funkcjonalna powinna zatem zawierać określone substancje biologicznie aktywne pochodzenia naturalnego. Niektóre z nich mogłyby zastąpić tradycyjne leki w wielu chronicznych schorzeniach nie wykazując działania ubocznego. Żywność taka powinna być przetworzona w niewielkim stopniu [2], chociaż może być również wzbogacona w pewne składniki, jednak wyłącznie pochodzenia naturalnego [3].

Ważnym składnikiem żywności funkcjonalnej są oleje jadalne, które stanowią główny przedmiot naszego zainteresowania. Podstawowymi składnikami tych olejów są tłuszcze właściwe (proste), znane pod nazwą triacylogliceroli. Pod względem budowy chemicznej są one estrami wyższych kwasów tłuszczowych (monokarboksylowych) i glicerolu. Łańcuch naturalnych kwasów tłuszczowych zawiera zwykle parzystą liczbę atomów węgla (od 14 do 22), przy czym najczęściej występują kwasy o cząsteczkach 16-, 18- i 20-węglowych. Tłuszcze naturalne są na ogół estrami mieszanymi, tzn. ich cząsteczki zawierają reszty różnych kwasów tłuszczowych. Tłuszcze należą do głównych składników naszego pożywienia i często są traktowane wyłącznie jako skondensowane źródło energii. Jest to podejście z gruntu niesłuszne, gdyż fizjologiczna rola tłuszczów jest bardziej złożona i silnie zależna od ich składu. Tłuszcze wchodzące w skład organelli i błon komórkowych wpływają na ich przepuszczalność, a także są nośnikami wielu substancji biologicznie czynnych, takich jak cholesterol, hormony oraz niektóre witaminy (A, D, E i K). Nie mniej ważny jest fakt, że niektóre z nich utworzone są z tzw. niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych i stanowią materiał wyjściowy do biosyntezy hormonów lokalnych, w tym prostaglandyn. Typowy skład procentowy kwasów tłuszczowych w pospolitych olejach roślinnych i rybnych podaje Drozdowski [4].

Zawartość triglicerydów w olejach roślinnych wynosi zwykle powyżej 98%, na pozostałą część składają się związki nie ulegające zmydleniu (tzw. substancja niezmydlająca). Wśród nich najważniejszą grupę stanowią naturalne antyoksydanty (przeciwutleniacze), których obecność ma zapobiegać autooksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych. Niezależnie od tego przyjmowanie antyoksydantów z pożywieniem jest zalecane w celu zapobiegania stresowi oksydacyjnemu, stanowiącemu przyczynę wielu chorób degeneracyjnych, jak choroby nowotworowe, miażdżycy, cukrzyca oraz rozmaite choroby i stany o charakterze zapalnym [5, 6].

## 1. NIEZBĘDNE NIENASYCONE KWASY TŁUSZCZOWE

Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, w skrócie NNKT lub EFA (ang. *essential fatty acids*), należą do kwasów polienowych (wielonienasyconych), określanych skrótem PUFA (ang. *polyunsaturated fatty acids*). Zaliczamy do nich te kwasy, których cząsteczki zawierają dwa lub więcej (do sześciu) wiązań podwójnych. Na podstawie położenia ostatniego wiązania podwójnego względem krańcowej grupy metylowej w cząsteczce, rozróżniamy trzy rodziny kwasów: *n-9* (wg dawnej symboliki  $\omega 9$ ), *n-6* ( $\omega 6$ ) oraz *n-3* ( $\omega 3$ ). W olejach roślinnych występują w największych ilościach kwasy tłuszczowe zawierające 18 atomów w łańcuchu węglowym, a więc pochodne kwasu stearynowego. Tutaj podstawowym (wyjściowym) kwasem rodziny *n-9* jest kwas oleinowy, z rodziny *n-6* kwas linolowy (LA), a z rodziny *n-3* kwas  $\alpha$ -linolenowy (ALA). W przeciwieństwie do roślin – w organizmach ssaków nie występują enzymy zdolne do tworzenia wiązań podwójnych w łańcuchach węglowych kwasów tłuszczowych w położeniu dalszym niż przy węglu C9, a więc w części dystalnej łańcucha (łac. *distare* – być odległym). Ssaki nie potrafią syntezować LA i ALA, a zatem kwasy te jako niezbędne muszą być im dostarczane w pożywieniu. W organizmach ssaków LA i ALA mogą być dalej metabolizowane przez wydłużanie (elongację) łańcucha węglowego oraz tworzenie nowych wiązań podwójnych (desaturację), odpowiednio za pomocą enzymów: elongazy oraz desaturazy.

### Kwasy tłuszczowe rodziny *n-6* ( $\omega 6$ )



Schemat 1. Ścieżka metaboliczna kwasów tłuszczowych rodziny *n-6*

Scheme 1. Metabolism of the *n-6* fatty acids family

### Kwasy tłuszczowe rodziny $n-3$ ( $\omega 3$ )



Schemat 2. Ścieżka metaboliczna kwasów tłuszczowych rodziny  $n-3$   
 Scheme 2. Metabolism of the  $n-3$  fatty acids family

Schematy 1 i 2 przedstawiają ścieżki metaboliczne obydwu rodzin kwasów według danych Leonarda i in. [7]. Wydłużenie łańcucha alifatycznego następuje w wyniku dodawania dwu atomów węgla od strony grupy karboksylowej, czyli w części proksymalnej łańcucha (łac. *proximus* – najbliższy), a zatem nie zmienia przynależności kwasu do danej rodziny. Końcowym produktem na szlaku metabolicznym rodziny  $n-3$  jest kwas dokozaheksaenowy (DHA) o nazwie systematycznej kwas *all-cis*-dokoza-4,7,10,13,16,19-heksaenowy i skróconym zapisie symbolicznym 22:6  $n-3$ . Stanowi on bardzo istotny składnik fosfolipidów błon komórkowych. Innym ważnym produktem otrzymywanym na tym szlaku jest kwas eikozapentaenowy (EPA), czyli *all-cis*-eikoza-5,8,11,14,17-pentaenowy. W obydwu szlakach metabolicznych są wykorzystywane te same enzymy, a więc istnieje konkurencja w dostępie do nich [8]. Może to stać się przyczyną upośledzenia transformacji kwasów z jednej rodziny, jeżeli wystąpi duży nadmiar prekursora kwasów z rodziny konkurencyjnej. Procesy elongacji i desaturacji zachodzą powoli, a ich szybkość maleje z wiekiem, jak również w czasie dojrzewania, okresowo przed menstruacją oraz podczas chorób [9, 10]. Na szlaku metabolicznym  $n-6$  punktem krytycznym przemian jest przejście LA w kwas  $\gamma$ -linolenowy (GLA).

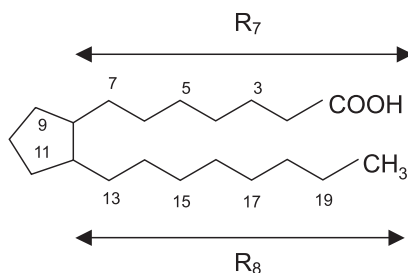
NNKT są istotnym i stałym składnikiem fosfolipidów błon komórkowych i mitochondriów. Wpływają one na utrzymanie prawidłowej struktury błon komórkowych, ich elastyczności oraz przepuszczalności. Przepuszczalność jest tym większa, im więcej zawierają kwasów nienasyconych w porównaniu z nasyconymi. Jest to konsekwencją przestrzennej struktury kwasów tłuszczowych. Łańcuch węglowy w cząsteczce kwasu nasyconego jest prosty, natomiast w przypadku kwasu nienasyconego o konfiguracji *cis* następuje jego zgięcie o  $120^\circ$  w miejscu wiązania podwójnego. Wzrost liczby wiązań podwójnych *cis* powoduje odpowiednio coraz większe wygięcie łańcucha węglowego, co przeszkadza w jego ścisłym upakowaniu w struk-

turze membranowej, a tym samym prowadzi do powstawania membran o większej elastyczności i przepuszczalności.

Wśród NNKT wchodzących w skład fosfolipidów stanowiących składnik membran komórkowych najważniejszą rolę odgrywa DHA przez wpływ na ich płynność i elastyczność. Jest on podstawowym NNKT w tkance nerwowej i odgrywa zasadniczą rolę w rozwoju mózgu w okresie płodowym i niemowlęcym [11]. Niedobór DHA w organizmie człowieka powoduje obniżenie poziomu stężenia serotoniny w mózgu i może wywierać istotny wpływ na występowanie zespołu nadpobudliwości psychoruchowej, czyli ADHD (ang. *attention deficit hyperactivity disorder*), depresji oraz demencji w postaci choroby Alzheimera [12]. Ostatnio coraz bardziej rozpowszechniony jest pogląd, że tej ostatniej chorobie można skutecznie zapobiegać stosując dietę bogatą w DHA i EPA [13], np. zawierającą oleje rybne [14].

NNKT odgrywają fundamentalną rolę w syntezie eikozanoidów (ikozanoidów), które są cyklicznymi pochodnymi kwasów wielonienasyconych zawierających 20 atomów węgla w łańcuchu. Zalicza się je do hormonów lokalnych, występujących we wszystkich tkankach ustroju. W odróżnieniu od „klasycznych” hormonów ich synteza nie zachodzi w wyspecjalizowanych komórkach i nie są one magazynowane, lecz działają w miejscu powstawania lub są wydzielane do krwi. Tworzą się w miarę potrzeb i rozpadają po wykonaniu swego zadania. Ich czas połowicznego rozpadu jest stosunkowo krótki, zaledwie do kilku minut. Dezaktywacja eikozanoidów odbywa się przez utlenienie grup hydroksylowych lub uwodornienie wiązań podwójnych. Działanie fizjologiczne eikozanoidów jest wielokierunkowe. Odgrywają one również ważną rolę w układzie immunologicznym ustroju, gdyż należą do mediatorów stanu zapalnego.

Eikozanoidy dzielą się na prostanoidy i leukotrieny. Do prostanoidów zalicza się prostaglandyny, prostacykliny i tromboksany, wykazujące podstawową strukturę hipotetycznego kwasu prostanowego (niewystępującego w przyrodzie), pokazaną na Rysunku 1. W cząsteczce tego kwasu można wyróżnić pierścień cyklopentanowy i dwa łańcuchy alifatyczne, składające się odpowiednio z siedmiu i ośmiu atomów węgla. Zasadniczym etapem biosyntezy prostanoidów jest utworzenie pierścienia cyklopentanowego przez cyklizację części łańcucha kwasu tłuszczowego, między C8 i C12. Prostaglandyny dzielą się na grupy oznaczone symbolami od PGA do PGJ, gdzie litery PG są skrótem nazwy, a ostatnia litera wskazuje na rodzaj i rozmieszczenie grup funkcyjnych w pierścieniu cyklopentanowym. W obrębie tych grup rozróżnia się serie oznakowane cyframi arabskimi w dolnym indeksie, wskazującymi na liczbę wiązań podwójnych w łańcuchach alifatycznych (np. PGE<sub>2</sub>). Prostaglandyny z grupy PGI nazywane są prostacyklinami. W sposób podobny do prostaglandyn oznacza się symbolami TX tromboksany, które w swej strukturze mają pierścień oksanowy, będący pochodną pierścienia cyklopentanowego. W przeciwieństwie do prostanoidów leukotrieny (symbol LT) nie mają struktury pierścieniowej, lecz zawierają 3 sprzężone wiązania podwójne (stąd ich nazwa).



Rysunek 1. Wzór strukturalny kwasu prostanowego  
Figure 1. Molecular structure of prostanoic acid

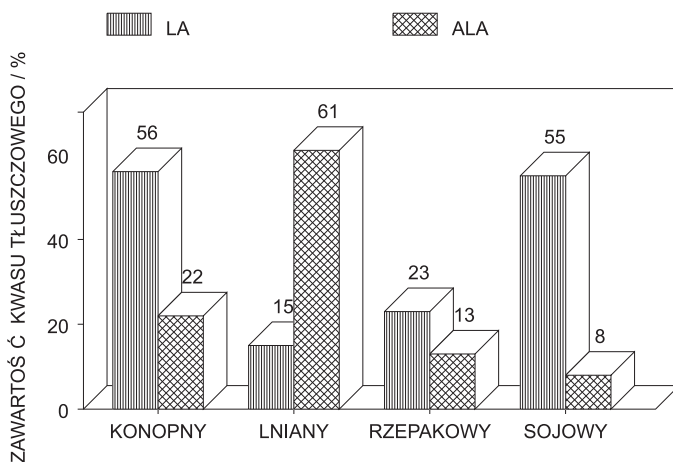
Eikozanoidy mogą być syntetyzowane z trzech wielonienasyconych kwasów tłuszczowych zawierających 20 atomów w łańcuchu węglowym: dihomo- $\gamma$ -linolenowego (DGLA, 20:3 *n*-6), arachidonowego (AA, 20:4 *n*-6), oraz eikozapentaenowego (EPA, 20:5 *n*-3) [15]. Z DGLA powstają eikozanoidy monoenowe, z AA dienowe, a z EPA trienowe. Tak więc z kwasów z rodziny *n*-6 wytwarzane są prostaglandyny PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> i PGI<sub>2</sub>, tromboksany TXA<sub>2</sub> i TXB<sub>2</sub> oraz leukotrieny LTA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> i LTE<sub>4</sub> [16]. Kwas EPA z rodziny *n*-3 jest prekursorem innych eikozanoidów: PGD<sub>3</sub>, PGE<sub>3</sub>, PGF<sub>3</sub>, PGI<sub>3</sub>, TXA<sub>3</sub>, TXB<sub>3</sub>, LTA<sub>5</sub>, LTB<sub>5</sub>, LTC<sub>5</sub>, LTD<sub>5</sub> oraz LTE<sub>5</sub>.

Eikozanoidy pochodzące od kwasów z rodzin *n*-3 i *n*-6 wykazują odmienne, a nawet przeciwstawne działanie fizjologiczne [7, 16, 17]. Tak np. większość eikozanoidów wytwarzanych z EPA działa przeciwzapalnie, podczas gdy te, które powstają z AA, stymulują procesy zapalne, rozszerzają naczynia włosowate i zwiększają ich przepuszczalność ułatwiając migrację krwinek do ogniska zapalnego. Niesterydowe leki przeciwzapalne (np. aspiryna) blokują syntezę prostaglandyn, co przy dłuższym ich stosowaniu może prowadzić do poważnych zaburzeń naturalnych reakcji obronnych organizmu. Prostaglandyny PGE<sub>2</sub> i PGI<sub>2</sub> (wytwarzane z AA) wywołują arytmie serca, natomiast prostaglandyny PGE<sub>3</sub> i PGI<sub>3</sub> (pochodzące od EPA) przeciwdziałają arytmii.

Do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka i innych ssaków niezbędne jest zatem zachowanie równowagi między obydwoma typami prostanoidów. Na wytwarzanie i równowagę tych związków wpływa w istotny sposób pobieranie NNKT z pożywieniem. Istotną rolę odgrywa tu nie tylko ilość NNKT, lecz również zachowanie właściwych wzajemnych proporcji kwasów z rodzin *n*-6 i *n*-3. Współczesna dieta „zachodnia”, tzn. europejska lub północnoamerykańska, dostarcza zwykle nadmiaru kwasów z rodziny *n*-6 przy jednoczesnym niedoborze kwasów *n*-3. Według niedawnych danych [18] omawiana proporcja zmieniła się w ostatnich latach z 8:1 do 20:1, podczas gdy jej optymalna wartość powinna wynosić od 1:1 do 4:1. Nadmierne spożycie kwasów z rodziny *n*-6 powoduje zachwianie równowagi immunologicznej w organizmie i wzrost skłonności do alergii oraz wytwarzania stanów zapalnych. To z kolei może ułatwiać rozwój różnych chorób degenera-

cyjnych, jak gościec stawowy, choroba Crohna, miażdżyca tętnic i choroby nowotworowe.

Z przedstawionych wyżej powodów wydaje się bardzo istotne dostarczanie w żywności w odpowiednich proporcjach tych kwasów tłuszczowych, które są prekursorami eikozanoidów z rodzin  $n-6$  i  $n-3$ , a więc odpowiednio LA i ALA. Wiele powszechnie spożywanym olejów roślinnych zawiera LA jako główny składnik, np. olej kukurydziany (57%) lub słonecznikowy (71%). Znaczne ilości GLA zawiera olej z nasion wiesiołka dziwnego, *Oenothera paradoxa* H. (ok. 10%). Oleje: arachidowy, z ziaren bawełny, z pestek winogron, kukurydziany oraz słonecznikowy zwykle zawierają niskie ilości ALA (poniżej 1%). W niektórych olejach zawartość ALA jest dość znaczna, lecz kwas ten nie jest w nich głównym składnikiem. Należy do nich olej sojowy (8% ALA) i rzepakowy niskoerukowy (ok. 13% ALA). Najbardziej obfitym źródłem ALA jest olej z nasion lnu, *Linum usitatissimum* L. (powyżej 50% [19]), a po nim olej z konopi, *Cannabis sativa* L. (ok. 20%). Obecnie olej konopny występuje masowo tylko w diecie azjatyckiej. Warto przypomnieć, że len i konopie należały do najstarszych roślin uprawnych na terenie Europy i Azji, natomiast kukurydza i słonecznik zostały sprowadzone z Ameryki. PUFA z rodziny  $n-3$  zawierające 5 lub 6 wiązań w cząsteczce (EPA i DHA), są obecne w planktonie morskim i w algach. W konsekwencji znajdują się one w dużych ilościach również w olejach z ryb żyjących w zimnych wodach morskich, takich jak śledzie, makrele i łososie.



Rysunek 2. Przeciętna zawartość kwasu linolowego (LA) i  $\alpha$ -linolenowego (ALA) w wybranych olejach roślinnych

Figure 2. Average content of linoleic acid (LA) and  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) in selected vegetable oils

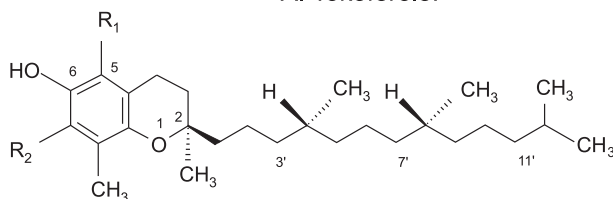
Niektóre NNKT z rodziny  $n-3$  są obecne w chloroplastach roślin liściastych. Ponieważ zwierzęta hodowlane, w tym drób, były dawniej wypasane na wolności, pochodząca od nich żywność zawierała duże ilości kwasów  $n-3$ . Zmiany w sposobie hodowli polegające na w prowadzeniu tzw. pasz treściwych (z dużą ilością nasion kuku-

rydzy) oraz znaczna eliminacja świeżych roślin zielonych spowodowały zauważalny spadek udziału kwasów z rodziny *n*-3 przy jednoczesnym wzroście udziału kwasów *n*-6. Dość duże ilości kwasów *n*-3 o długich łańcuchach węglowych są nadal stwierdzane w maśle krowim. Zawartość podstawowych NNKT w wybranych olejach roślinnych według danych liczbowych Callawaya [20] jest przedstawiona na Rysunku 2.

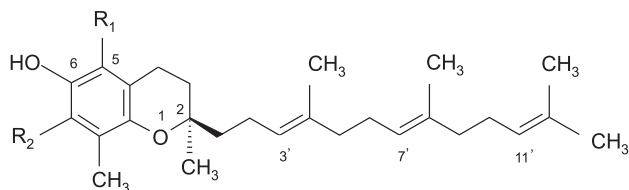
## 2. WITAMINA E

To oczywiste, że w olejach występują antyoksydanty o charakterze hydrofobowym (lipofilowym). Poza nielicznymi wyjątkami są nimi związki fenolowe. Najważniejszą grupę stanowią tokole, znane pod ogólną nazwą witaminy E. W temperaturze pokojowej są to oleiste, żółto zabarwione ciecze, trudno rozpuszczalne w wodzie, a dobrze rozpuszczalne w tłuszczach oraz w wielu rozpuszczalnikach organicznych. Na witaminę E składają się cztery tokoferole oraz cztery analogiczne tokotrienole, których wzory strukturalne są przedstawione na Rysunku 3.

### A. Tokoferole:



### B. Tokotrienole:



tokoferol/ tokotrienol	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
α-	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
β-	CH <sub>3</sub>	H
γ-	H	CH <sub>3</sub>
δ-	H	H

Rysunek 3. Wzory strukturalne (A) tokoferoli i (B) tokotrienoli

Figure 3. Molecular structure of (A) tocopherols and (B) tocotrienols



Struktura obu grup związków jest zbliżona, gdyż cząsteczka każdego z nich składa się z chromanolowego pierścienia (głowy) i bocznego łańcucha (ogona) przyłączonego w pozycji C2. Omawiane grupy związków różnią się zasadniczo właśnie łańcuchami bocznymi. Tokoferole mają nasycony łańcuch fitylowy, natomiast tokotrienole łańcuch izoprenoidowy zawierający 3 wiązania podwójne. Obecność wiązań podwójnych powoduje, że łańcuch izoprenowy jest silnie wygięty. Z obydwu grup związków można wyodrębnić związki różniące się liczbą i położeniem grup metylowych, co zostało zaznaczone przez nadanie ich nazwom greckich prefiksów ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ ).

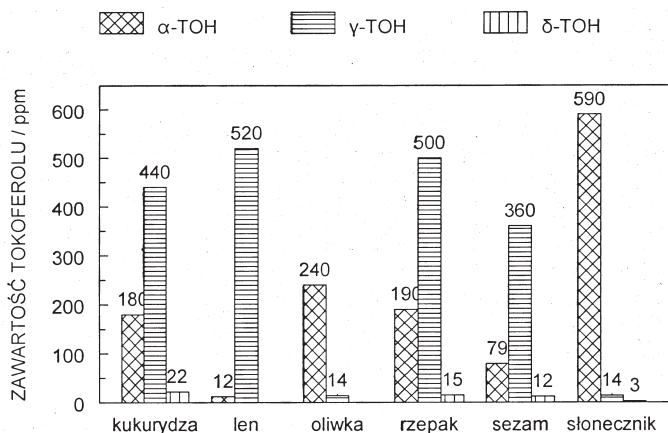
Jedną z form tokoferoli,  $\alpha$ -tokoferol, występuje w przyrodzie najczęściej i wykazuje największą aktywność biologiczną. Może on tworzyć osiem stereoizomerów, co wynika z istnienia trzech centrów chiralności w cząsteczce: jednego w pierścieniu chromanolowym (C2) i dwu w łańcuchu fitylowym (C4' i C8'). Jak wynika z literatury [21], izomery te różnią się w istotny sposób aktywnością biologiczną, przy czym największą aktywność wykazuje *RRR*- $\alpha$ -tokoferol. Wzory strukturalne stereoizomerów można znaleźć w cytowanym poprzednio artykule.

Działanie antyoksydacyjne tokoferoli i tokotrienoli opiera się na reakcji utlenienia grupy hydroksylowej, co prowadzi do powstania rodnika tokoferyloksylowego,  $TO^{\bullet}$ . Tokoferole wykazują różną aktywność biologiczną, związaną z liczbą grup metylowych w pierścieniu chromanolowym. Największą aktywność przejawia  $\alpha$ -tokoferol (z trzema grupami  $-CH_3$ ), a najniższą  $\delta$ -tokoferol (z jedną grupą metylową) [22]. Jest to zgodne z uszeregowaniem potencjałów utlenienia (jako anodowych potencjałów półfali) tokoferoli w lodowatym kwasie octowym [23]. W literaturze podnoszona jest również możliwość biologicznej aktywności tokoferoli, która nie jest związana z ich właściwościami antyoksydacyjnymi, np. w charakterze „regulatora genów” na poziomie mRNA [24].

Zawartość tokoferoli w tkankach człowieka jest uwarunkowana zarówno przez dostarczanie ich w pokarmie, jak również przez szybkość eliminacji w wyniku przekształcania w inne związki (metabolizacji) [25].  $\alpha$ -Tokoferol jest metabolizowany do 2,5,7,8-tetrametylo-2-( $\beta$ -karboksyetylo)-6-karboksychromanu,  $\alpha$ -CEHC, a pozostałe tokoferole ulegają przemianom do analogicznych związków  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -CEHC. Pomiaru kinetyczne z wykorzystaniem substancji deuterowanych wykazały, że szybkość powstawania metabolitu  $\gamma$ -CEHC jest trzykrotnie większa niż  $\alpha$ -CEHC [26].

W olejach jadalnych tokoferole pełnią rolę ochronną w stosunku do nienasyconych kwasów tłuszczowych usuwając wolne rodniki, które się tworzą podczas starzenia się tłuszczów [27]. Niektóre oleje roślinne są ubogim źródłem tokoferoli. Nie dziwi prawie całkowity brak tokoferoli w oleju kokosowym, który zawiera tylko znikome ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych [28]. Interesujący jest fakt, że w większości olejów występują wyłącznie  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferole. Stosunkowo niewielkie ilości  $\beta$ -tokoferolu można znaleźć jedynie w oleju sojowym (15 ppm) i kukurydzianym (50 ppm).  $\gamma$ -Tokoferol stanowi główną formę witaminy E w wielu olejach roślinnych, np. w oleju kukurydzianym. Dużą zawartość  $\delta$ -tokoferolu wykazuje olej

sojowy (266 ppm) oraz palmowy (70 ppm), podczas gdy inne oleje zawierają stosunkowo niewielkie ilości tej formy. Na Rysunku 4 pokazana jest zawartość  $\alpha$ -,  $\gamma$  i  $\delta$ -tokoferolu w wybranych, bardziej rozpowszechnionych olejach roślinnych (według danych liczbowych z artykułu Schwartz i in. [29]).



Rysunek 4. Zawartość tokoferoli w wybranych olejach jadalnych

Figure 4. Content of tocopherols in selected edible oils

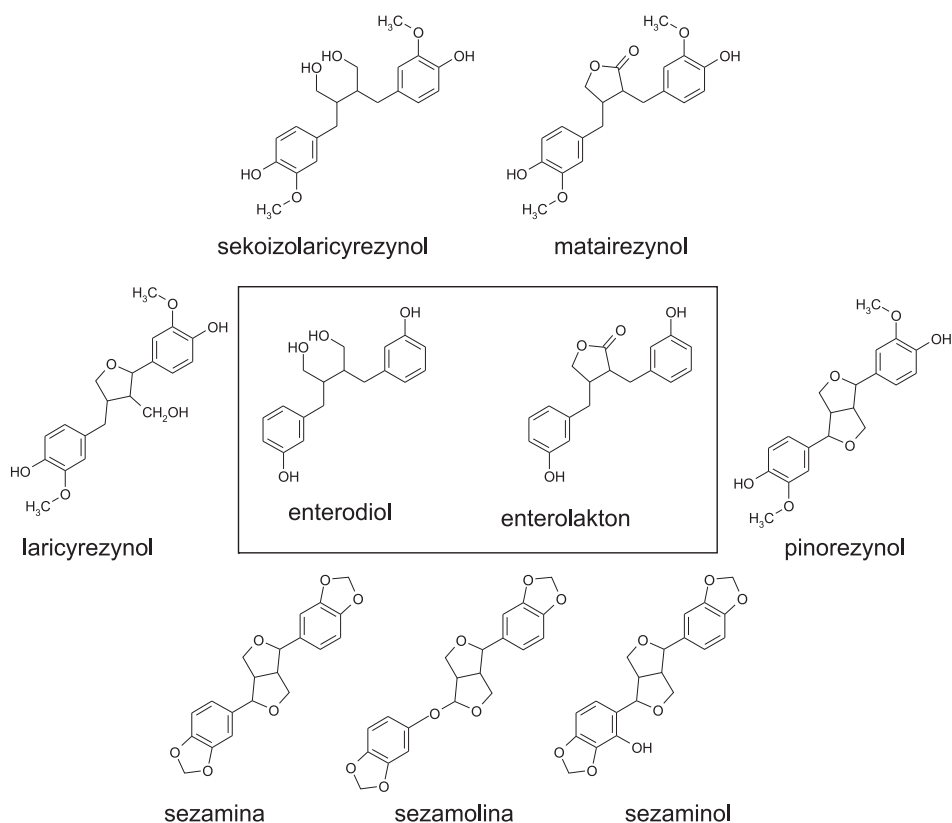
W pospolitych olejach jadalnych mogą również występować estry  $\alpha$ -tokoferolu w postaci racemicznej, przeważnie octan, rzadziej bursztynian lub nikotynian. Są one wprowadzane przez producentów jako suplement diety. W ostatnich latach zaczyna zyskiwać na znaczeniu kolejny ester  $\alpha$ -tokoferolu – fosforan, który wykazuje silne właściwości antyoksydacyjne [30], a który jest rozpuszczalny również w wodzie i występuje w tkankach ssaków jako produkt naturalny [31].

Dalsze szczegółowe wiadomości na temat biosyntezy oraz fizjologicznej roli składników witaminy E można znaleźć w kilku opracowaniach monograficznych [22, 32–35]. Interesujące dane na temat umiejscowienia i funkcji tokoferoli w membranach biologicznych przynosi artykuł Wanga i Quinna [36]. Zagadnieniom aktywności fizjologicznej tokotrienoli jest poświęcony artykuł przeglądowy autorstwa Theriault i in. [37]. Cytowani autorzy stwierdzają na podstawie zebranej literatury, że tokotrienole wykazują znacznie większą aktywność od tokoferoli i mogą odgrywać istotną rolę w zapobieganiu chorobom sercowo-naczyniowym oraz nowotworowym.

### 3. LIGNANY

Nasiona roślin oleistych i oleje roślinne są również bogatym źródłem substancji aktywnych biochemicznie, zwanych lignanami. Należą one, obok izoflawonów i kumestanów, do grupy związków zwanych fitoestrogenami [38–40]. Są to związki

fenolowe, strukturalnie i funkcjonalnie porównywalne z 17- $\beta$ -estradiolem, moduluje działanie układu hormonalnego ssaków i z tego powodu są często nazywane hormonami roślinnymi. Omawiana grupa związków obejmuje naturalne produkty dimeryczne pochodzące z kombinacji dwóch grup fenylopropanoidowych C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> przy atomach węgla w pozycji  $\beta$  i  $\beta'$  [41] (Rys. 5). Pierścienie aromatyczne cząsteczek wszystkich lignanów roślinnych zawierają grupy hydroksylowe oraz dodatkowo metoksyłowe lub metylenodioksyłowe [42]. Występują one w postaci wolnej lub znacznie częściej jako glukozydy [43]. Są prekursorami lignanów ssaków, czyli enterolignanów: enterodiolu (ED) i enterolaktonu (EL) [40, 44]. W odróżnieniu od lignanów roślinnych enterolignany mają tylko dwie grupy fenolowe w pozycji *meta* każdego pierścienia aromatycznego [45] (Rys. 5).



Rysunek 5. Wzory strukturalne wybranych lignanów roślinnych i enterolignanów  
Figure 5. Molecular structures of selected plant lignans and enterolignans

Tworzą się one przez usunięcie dwóch grup metylowych i dwóch hydroksylowych z ich roślinnych prekursorów, a proces ten zachodzi w okrężnicy pod wpływem flory bakteryjnej [46]. Wśród znanych lignanów roślinnych i ich glukozydów tylko

niektóre są prekursorami enterolignanów, np. matairezynol (MAT), sekoizolaricyrezynol (SEC), pinorezynol (PIN), laricyrezynol (LAR), syringarezynol (SYR), mediorezynol (MED) i 7'-hydroksymatairezynol (HMR) oraz sezamina [47, 48]. Podawanie antybiotyków prawie całkowicie hamuje tworzenie enterolaktonu i enterodiolu z ich roślinnych prekursorów. W świecie roślin lignany stanowią moduł konstrukcyjny do tworzenia ligniny w ścianach komórkowych oraz pełnią funkcje obronne przed chorobami wywołanymi atakiem owadów, grzybów i innych mikroorganizmów [41, 48]. Dostarczone z pokarmem pochodzenia roślinnego wspomagają prawidłowe funkcjonowanie organizmów ssaków i chronią je przed wieloma chorobami. Terapeutyczne zastosowanie lignanów sięga czasów starożytnych, kiedy to wyciągi z roślin zawierające lignany stosowano w medycynie ludowej przy ukąszeniach przez jadowite węże oraz jako środki przeczyszczające, odrobaczające, moczopędne, przeciwgorączkowe i przeciwbólowe [42]. Znacznie rzadsze występowanie chorób cywilizacyjnych (np. nowotworów i chorób układu krążenia) w krajach, gdzie podstawą diety jest pokarm pochodzenia roślinnego bogaty w lignany, wyraźnie wskazuje na ich właściwości prozdrowotne [40].

Lignany działają antyoksydacyjnie oraz regulacyjnie na układ hormonalny i enzymatyczny człowieka [49, 50]. Zdolności antyoksydacyjne większości lignanów wynikają z obecności grup hydroksylowych w ich strukturze. Glukozydy lignanów wykazują słabsze działanie antyoksydacyjne niż ich postaci aglikonowe, co wynika z zastąpienia atomu wodoru w grupie fenolowej przez glukozę [51]. Z drugiej strony glukozydy są rozpuszczalne w wodzie i stopniowo hydrolizują pod wpływem  $\beta$ -glukozydazy do odpowiednich aglikonów, a w takiej postaci są transportowane przez krew do struktur komórkowych, gdzie silnie hamują proces peroksydacji lipidów. Hydrofilowe glukozydy są zatem prekursorami lignanów rozpuszczalnych w tłuszczach. Właściwości antyoksydacyjne wykazują również aglikonowe postaci lignanów, które nie mają wolnych grup hydroksylowych, są natomiast prekursorami innych lignanów fenolowych. Przykładem może być sezamolina, która jest jedynie źródłem typowych antyoksydantów: sezamolu i sezaminolu, przy czym ten ostatni jest uznawany za jeden z najsilniejszych zmiataaczy wolnych rodników. Przeciwtleniające właściwości lignanów przejawiają się w organizmie człowieka również przez obniżanie stężenia triglicerydów oraz frakcji LDL cholesterolu, a zwiększanie zawartości frakcji HDL, zapobiegając w ten sposób chorobom serca i układu krążenia [52, 53]. Jako potencjalne inhibitory reaktywnych form tlenu, lignany przeciwdziałają nowotworom skóry, okrężnicy i płuc, jak również pewnym typom nowotworów hormonalnie zależnych: piersi u kobiet, prostaty u mężczyzn oraz tarczycy [54–56]. Działanie lignanów stwierdzono na etapie inicjacji, promocji jak i progresji nowotworów. Sezamina hamuje  $\Delta 5$ -desaturację kwasów tłuszczowych z rodziny *n*-6 przerywając proces tworzenia prostaglandyn sprzyjających stanom zapalnym [48]. Dotychczas nie stwierdzono toksycznego działania lignanów.

Najbogatszym źródłem lignanów są nasiona roślin oleistych, a szczególnie nasiona lnu. Niestety w nasionach lnu występują one w postaci hydrofilowych glukozydów, co sprawia, że olej lniany jest ich całkowicie pozbawiony [48, 57]. Drugie

miejsce pod względem zawartości lignanów zajmują nasiona sezamu. Hydrofobowe właściwości obecnych tam lignanów powodują, że olej sezamowy jest bardzo bogatym ich źródłem. Występuje tu sezamina (do  $9,5 \cdot 10^3$  ppm) i sezamolina (do  $4,7 \cdot 10^3$  ppm) [58], które są odpowiedzialne za niezwykle właściwości oleju sezamowego. Z powodu braku grup hydroksylowych (Rys. 5) substancje te nie wykazują właściwości przeciwutleniających. Podczas prażenia nasion sezamu oraz rafinacji oleju sezamolina ulega częściowemu przekształceniu do sezaminolu i sezamolu, stając się w ten sposób prekursorem tych antyoksydantów [59], które wpływają na oksydacyjną trwałość oleju sezamowego. Działają one bezpośrednio oraz przez synergistyczne oddziaływanie z tokoferolami. Duża zawartość antyoksydantów w oleju sezamowym sprawia, że nie jęlczeje on podczas przechowywania w temperaturze pokojowej i z tego powodu jest często stosowany do stabilizacji innych olejów roślinnych [60].

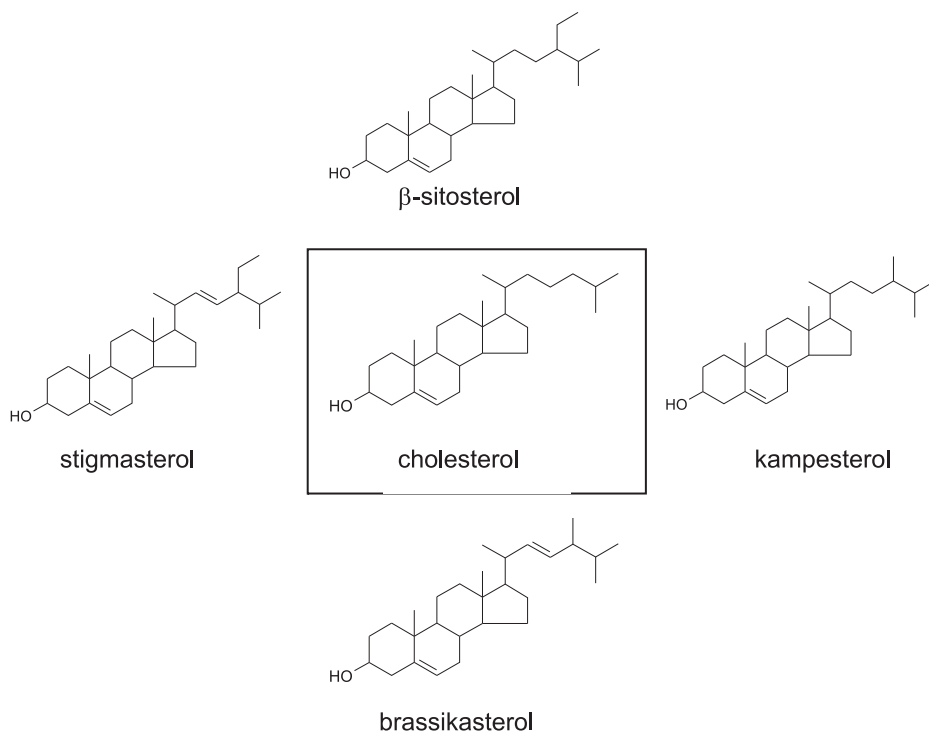
Znacznie mniej zasobnym źródłem lignanów jest oliwa z oliwek (*Olea europaea* L.), gdzie ich średnia zawartość wynosi ok. 40 ppm. Oliwa zawiera głównie pinorezynol, acetoksypinorezynol oraz niewielkie ilości hydroksypinorezynolu i larycyrezynolu [61–63]. Stężenie lignanów jest uzależnione od jakości oliwy, a najczęściej ich występuje w oliwie „dziewiczej” (do 100 ppm), tzn. pochodzącej z pierwszego tłoczenia i nierafinowanej. Gorsze jakościowo gatunki oliwy (rafinowana i otrzymana z wyłoków) zawierają znacznie mniej tych składników [54, 62]. Różnice te są wynikiem występowania lignanów głównie w postaci glukozydów, które są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Podczas procesu rafinacji zostają one w znacznej części usunięte z oliwy i przechodzą do fazy wodnej. Zarówno długo- i krótko- trwałe przechowywanie oliwy (bez dostępu światła), jak również gotowanie i smażenie tylko nieznacznie obniżają zawartość lignanów [61].

Inne znane oleje roślinne, jak słonecznikowy, sojowy, arachidowy, z nasion dyni czy ryżowy, nie zawierają lignanów lub zawierają w stężeniu śladowym, poniżej granicy oznaczalności stosowanych metod analitycznych.

#### 4. FITOSTEROLE

Oleje roślinne jako ważny element żywności funkcjonalnej są również bogatym źródłem steroli roślinnych, zwanych fitosterolami [29, 64, 65]. Są to substancje syntezowane wyłącznie przez rośliny i wchodzi w skład ich błon komórkowych. Pod względem chemicznym należą do II-rzędowych alkoholi alicyklicznych z grupy steroidów. Zawierają 28 lub 29 atomów węgla w cząsteczce, a ich budowa jest oparta na układzie skondensowanych pierścieni cyklopentanoperhydrofenantrenu [66, 67] (Rys. 6). We wszystkich sterolach występuje grupa hydroksylowa w pozycji C3 (konfiguracja  $\beta$ ), grupy metylowe przy C10 i C13 oraz łańcuch boczny zawierający 9 lub 10 atomów węgla przy C17. Większość fitosteroli zawiera podwójne wiązanie między atomami węgla w pozycji C5 i C6 pierścienia sterolowego ( $\Delta^5$ -sterole), a u nielicznych występuje ono między atomami węgla w pozycji C7 i C8 ( $\Delta^7$ -stero-

le) oraz w alkilowym łańcuchu bocznym. W grupie określanej jako  $\Delta^{5,7}$ -sterole, istnieją dwa podwójne wiązania w wymienionych pozycjach pierścienia [68]. Ogólnie struktura fitosteroli jest zbliżona do cholesterolu (5-cholesten-3 $\beta$ -olu) – najbardziej znanego sterolu zwierzęcego, czyli zoosterolu. Fitosteroli różnią się od cholesterolu obecnością grupy metylowej lub etylowej w pozycji C24 alkilowego łańcucha bocznego oraz stopniem nasycenia tegoż łańcucha [66–68] (Rys. 6). Obok właściwych fitosteroli rośliny wytwarzają również ich nasycone pochodne, zwane stanolami. Ich zawartość w materiale roślinnym jest znacznie mniejsza niż postaci nienasyconych [65, 66, 69].

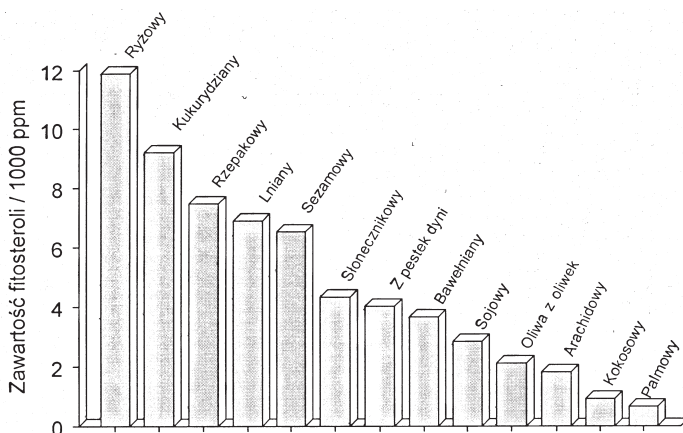


Rysunek 6. Struktury cząsteczkowe cholesterolu i fitosteroli najczęściej występujących w olejach roślinnych  
Figure 6. Molecular structures of cholesterol and phytosterols usually occurring in vegetable oils

Jako sterole traktuje się również estry steroli roślinnych, które mogą powstawać dzięki obecności grupy hydroksylowej w pozycji C3 pierścienia sterolowego. Znane są połączenia z kwasami tłuszczowymi (głównie z palmitynowym, stearynowym, oleinowym i linolowym), kwasami fenolowymi (np. hydroksycynamonowym) lub glukozą [67, 68, 70]. Również glukozydy steroli występują w postaci acylowych połączeń z kwasami tłuszczowymi, a w ich tworzeniu bierze udział grupa OH w pozycji 6' glukozy. Wolne formy fitosteroli oraz ich estry są nierozpuszczalne w wodzie, natomiast bardzo dobrze rozpuszczają się w tłuszczach i w rozpuszczal-

nikach niepolarnych. Dotychczas zidentyfikowano ponad 200 steroli roślinnych. Do najbardziej znanych należą  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, kampesterol i brassikasterol oraz nasycone pochodne, jak  $\Delta$ -sitostanol, stigmastanol, kampestanol.

Zainteresowanie fitosterolami jako składnikami funkcjonalnej żywności wynika z ich udokumentowanego wpływu na poziom stężenia cholesterolu we krwi. Mechanizm działania fitosteroli nie jest do końca poznany. Ich znaczna hydrofobowość prawdopodobnie sprawia, że hamują one wchłanianie cholesterolu, zarówno endogennego, jak i dostarczanego wraz z żywnością, zachodzące w jelicie cienkim [71, 72]. Najskuteczniej obniżają poziom cholesterolu nasycone analogi steroli roślinnych oraz ich estry [73]. Uważa się, że fitosterole wykazują również aktywność przeciwnowotworową, hamują rozwój raka okrężnicy, prostaty i piersi oraz zmniejszają ryzyko zachorowania na raka żołądka [74–76]. Właściwości te nie zostały jednak wystarczająco udokumentowane. Fitosterole działają również przeciwzapalnie, przeciwbakteryjnie, przeciwgrzybiczo oraz antyoksydacyjnie [77]. Dotychczas nie stwierdzono toksycznego działania nawet bardzo dużych dawek fitosteroli, natomiast toksyczne okazały się formy utlenione, tzw. oksyfitosterole [78]. Mogą one zaburzać funkcjonowanie błon biologicznych, hamować biosyntezę cholesterolu, działać kancerogennie, mutagennie oraz prooksydacyjnie przez generowanie wolnych rodników uruchamiających peroksydację lipidów.



Rysunek 7. Zawartość fitosteroli w wybranych olejach roślinnych  
Figure 7. Content of phytosterols in selected vegetable oils

Hydrofobowe właściwości fitosteroli sprawiają, że oleje roślinne są najbardziej skoncentrowanym ich źródłem wyprzedzając pod tym względem: ziarna zbóż, różne rodzaje orzechów, nasiona dyni, sezamu, słonecznika i roślin strączkowych. Największe ilości fitosteroli zawiera rzadko spotykany olej z zarodków pszenicy ( $4,2 \cdot 10^4$  ppm) [29]. Na Rysunku 7 przedstawiono przeciętną całkowitą zawartość fitosteroli w najczęściej spotykanych olejach roślinnych (na podstawie liczbowych danych



z literatury [79–82]). Najwięcej ich zawiera olej ryżowy wyprzedzając pod tym względem olej kukurydziany, natomiast oliwa z oliwek oraz olej arachidowy są stosunkowo ubogie w te składniki. Najmniej fitosteroli ma olej palmowy (< 660 ppm). W olejach roślinnych najczęściej występuje  $\beta$ -sitosterol oraz kampesterol przed stigmasterolem i  $\Delta^5$ -awenasterolem. Dużą zawartość tego ostatniego stwierdzono jedynie w oleju kokosowym i sezamowym. Wszystkie oleje roślinne zawierają ponadto pewne ilości cholesterolu, przy czym najmniej tej substancji znaleziono w oliwie z oliwek, oleju słonecznikowym i kokosowym (0–5 ppm), a najwięcej w oleju sezamowym i palmowym (50–60 ppm). Zawartość stanoli w olejach roślinnych jest znikomą małą w porównaniu z ich nienasyconymi analogami (poniżej 50 ppm) [65, 69]. Tak np. oliwa z oliwek zawiera średnio 6,5 ppm wolnego  $\beta$ -sitostanolu, a w oleju rzepakowym występuje kampestanol i  $\beta$ -sitostanol, każdy w ilościach poniżej 5 ppm.

Skład jakościowy oraz ilość poszczególnych fitosteroli są charakterystyczne dla każdego oleju roślinnego i tak np. głównymi sterolami w oliwie z oliwek są:  $\beta$ -sitosterol (77%),  $\Delta^5$ -awenasterol (około 5%) oraz kampesterol i stigmasterol [69].  $\beta$ -Sitosterol stanowi ponad 80% wszystkich steroli, kampesterol około 10%, a stigmasterol około 5%. Oleje roślinne zawierają również estryfikowane formy fitosteroli [64, 70]. Skład jakościowy fitosteroli oraz zawartość postaci wolnych i estryfikowanych charakteryzują zatem oleje roślinne tworząc tzw. profil fitosteroli. Profil ten może służyć do weryfikacji autentyczności olejów roślinnych, oceny ich jakości oraz wykrywania domieszek innych olejów [83]. Jest on bardziej wyrazisty niż profil lipidowy, określający skład kwasów tłuszczowych w oleju roślinnym [84].

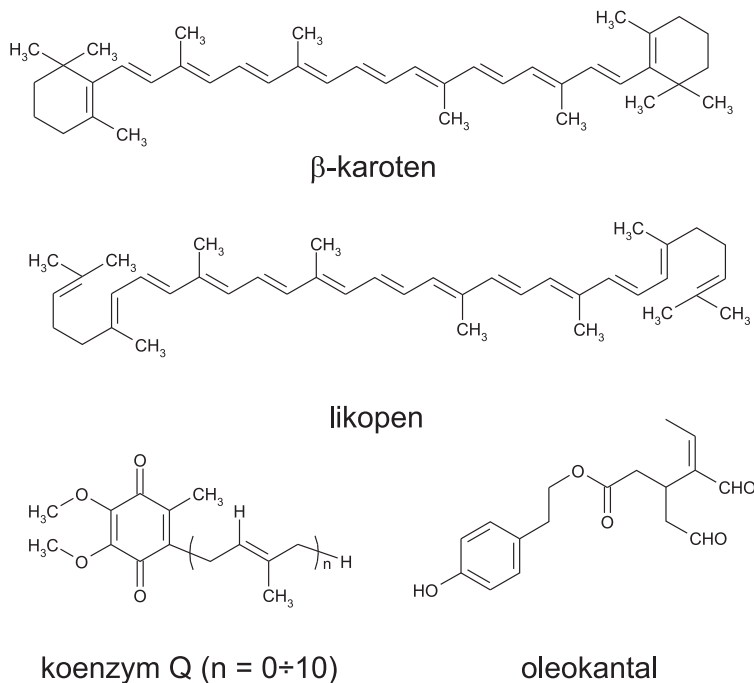
Fitosterole są substancjami stosunkowo trwałymi, ich zawartość nie zmienia się znacząco podczas długotrwałego przechowywania olejów. W tych warunkach pojawiają się jedynie niewielkie ilości produktów utleniania fitosteroli [68].

Dzienne spożycie fitosteroli wraz z pokarmem wynosi od ok. 150 do 400 mg i jest uzależnione od udziału żywności pochodzenia roślinnego w diecie [66, 68]. W literaturze [85] można znaleźć pogląd, że optymalna dawka dzienna fitosteroli wynosi 2 g i powoduje obniżenie poziomu cholesterolu we krwi o około 10%, podczas gdy większe ilości tych substancji wywierają już tylko nieznaczny wpływ.

## 5. INNE SUBSTANCJE BIOAKTYWNE

Poza omówionymi wcześniej substancjami oleje roślinne zawierają również inne cenne składniki bioaktywne, jak np. karotenoidy, chlorofil, koenzym  $Q_{10}$ , oleokantal, oleuropeinę i  $\gamma$ -oryzanol. Występują one w określonych rodzajach olejów roślinnych i często stanowią ich cechę charakterystyczną. Na Rysunku 8 przedstawiono struktury molekularne niektórych z tych substancji.





Rysunek 8. Wzory strukturalne substancji bioaktywnych rzadziej występujących w olejach roślinnych  
Figure 8. Molecular structures of some bioactive compounds rarely occurring in vegetable oils

Barwa olejów jadalnych jest związana z obecnością pigmentów roślinnych: karotenoidów i chlorofilu. Karotenoidy wykazują silne właściwości antyoksydacyjne [86] i są prekursorami witaminy A (retinolu), odpowiedzialnej za prawidłowe funkcjonowanie wzroku. Mają również udział w obniżaniu stężenia cholesterolu we krwi i wykazują właściwości przeciwnowotworowe. Najbardziej zasobnym naturalnym źródłem karotenoidów jest olej z owoców palmy czerwonej, *Elaeis guineensis* J., w którym ich zawartość waha się w granicach od 500 do 700 ppm [84, 85]. Olej ten zawiera głównie  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoten (które nadają mu charakterystyczną pomarańczowo-czerwoną barwę), a poza tym niewielkie ilości  $\gamma$ -karotenu, likopenu oraz ksantofili. Olej palmowy może uzupełniać niedobór witaminy A bardziej skutecznie niż marchew i pomidory. Znaczne ilości karotenoidów oraz witaminy E przy niewielkiej zawartości kwasów oleinowego i linolenowego czynią olej palmowy bardzo odpornym na utlenianie.

Oprócz karotenoidów olej palmowy zawiera również zielony barwnik – chlorofil, którego dobra rozpuszczalność w tłuszczach jest spowodowana obecnością łańcucha fitolowego w cząsteczce, dołączonego do jednego z pierścieni porfiryńowych. Zawartość chlorofilu w tym oleju (0,3–29 ppm) [83] jest znacznie mniejsza niż  $\beta$ -karotenu i stąd jego barwa jest maskowana przez karotenoidy.

Karotenoidy i chlorofil są również obecne w innych olejach roślinnych, jednak w znacznie mniejszych stężeniach niż w oleju palmowym. Stosunkowo najwięcej

tych substancji znajduje się w „dziewiczej” oliwie z oliwek [87], której nadają charakterystyczną żółto-zieloną barwę. Według autorów cytowanego artykułu zawartość  $\beta$ -karotenu wynosi 6,7 mg/l i jest znacznie większa niż w oleju słonecznikowym (2,9 mg/l), kukurydzianym (1,2 g/l), sojowym (0,28 mg/l) i arachidowym (0,13 mg/l).  $\alpha$ -Karoten można również znaleźć w oleju lnianym, jednak jego zawartość jest niewielka (1,4–1,6 ppm) [88], podobnie jak w pozostałych olejach roślinnych.

Oleje roślinne są również źródłem koenzymu  $Q_n$ . Jest to najbardziej rozpowszechniona pochodna benzochinonu o liczbie jednostek izoprenoidowych ( $n$ ) w granicach od 0 do 10 (Rys. 8). U ssaków, w tym również u człowieka, dominującym homologiem jest koenzym  $Q_{10}$ , zwany ubichinonem lub ubidekarenonem [89]. Pełni on wiele ważnych biologicznych funkcji w organizmie, a przede wszystkim uczestniczy w transporcie elektronów i protonów mitochondrialnym łańcuchu oddechowym, wytwarzającym energię. W procesie tym ubichinon ulega redukcji do ubichinolu ( $Q_{10}H_2$ ). Ta forma koenzymu  $Q_{10}$  wykazuje bezpośrednio właściwości antyoksydacyjne i wspomaga działanie  $\alpha$ -tokoferolu regenerując jego postać zredukowaną i chroniąc w ten sposób struktury lipidowe przed reaktywnymi formami tlenu [90, 91]. Organizm człowieka i innych ssaków syntezuje koenzym  $Q_{10}$ , lecz własna biosynteza ulega osłabieniu wraz wiekiem zaburzając gospodarkę energetyczną organizmu. Wówczas niezbędna staje się suplementacja tej substancji, pozwalająca utrzymać organizm w dobrej kondycji.

Niektóre nierafinowane oleje roślinne zawierają znaczne ilości koenzymu  $Q_{10}$  zarówno w formie zredukowanej (fenolowej), jak i utlenionej (chinonowej) [92, 93]. Największą zawartością formy zredukowanej,  $Q_{10}H_2$ , charakteryzuje się olej sojowy (189 mg/l) wyprzedzając pod tym względem olej kukurydziany (96 mg/l), arachidowy (62 mg/l), słonecznikowy (13 mg/l) i oliwę z oliwek (11 mg/l). Zawartość formy utlenionej jest największa w oliwie z oliwek (94 mg/l), a najmniejsza w oleju słonecznikowym (1,4 mg/l). Obecność koenzymu  $Q_{10}$  stwierdzono również w oleju z owoców palmy czerwonej.

Cennymi składnikami oliwy z oliwek są również polifenole, w tym głównie oleuropeina [94, 95], która jest estrem hydroksytyrozolu i kwasu eleonowego. Zarówno oleuropeina, jak i produkty jej hydrolizy: tyrozol (4-(2-hydroksytylo)fenol) i hydroksytyrozol (4-(2-hydroksytylo)-1,2-benzenodiol), które również występują w oliwie, wykazują silne działanie antyoksydacyjne, antybiotyczne i przeciwzapalne.

W „dziewiczej” oliwie z oliwek stwierdzono również obecność znacznej ilości interesującej substancji zwanej oleokantalem (ok. 500 ppm) [96]. Substancja ta, która nie występuje w innych olejach, ma w swej strukturze grupę ketonową, hydroksylową i dwie aldehydowe (Rys. 8). Wykazuje ona właściwości antyoksydacyjne oraz przeciwzapalne, podobne do ibuprofenu. Uważa się, że aktywność biologiczna oleokantalu jest w znacznej mierze odpowiedzialna za efekty zdrowotne diety śródziemnomorskiej i może wiązać się z obniżeniem ryzyka wystąpienia chorób serca

i niektórych nowotworów. Należy podkreślić, że substancje fenolowe znajdujące się w oliwie działają synergicznie i komplementarnie, z czego wynika duża skuteczność zdrowotna oliwy.

Charakterystycznym składnikiem oleju ryżowego, występującym w ilości 1–3%, jest  $\gamma$ -oryzanol. Początkowo sądzono, że jest to pojedyncza substancja, lecz okazało się, że pod tą nazwą kryje się co najmniej 10 związków, estrów kwasu ferulowego i fitosteroli [97]. Głównymi składnikami są ferulany cykloartenolu,  $\beta$ -sitosterolu, 24-metylenocykloartanolu i kampesterolu.  $\gamma$ -Oryzanol wykazuje szereg cennych właściwości biochemicznych, w tym dużą aktywność antyoksydacyjną, która jest wykorzystywana w przemyśle spożywczym (do stabilizacji żywności zawierającej tłuszcze) oraz w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym [98]. Stwierdzono również pozytywny wpływ  $\gamma$ -oryzanolu na obniżenie całkowitego stężenia cholesterolu we krwi, zwiększenie stężenia frakcji HDL oraz hamowanie agregacji płytek krwi [99, 100]. Rafinacja oleju ryżowego powoduje usunięcie około połowy  $\gamma$ -oryzanolu.

## UWAGI KOŃCOWE

Największą wartość zdrowotną mają oleje „dziewicze” (ang. *extra virgin oils*). Nazwie tej odpowiadają oleje pochodzące z pierwszego tłoczenia, prowadzonego „na zimno”, tj. w temperaturze nieprzekraczającej 50°C. Dzięki temu składniki zachowują naturalne struktury chemiczne i właściwości biologiczne. Z oleju takiego nie można usuwać żadnych składników (a więc nie wolno poddawać go rafinacji), jak również nie wolno wprowadzać żadnych obcych substancji. Na rynku krajowym są stosunkowo łatwo osiągalne oleje z pierwszego tłoczenia: arachidowy, kukurydziany, lniany, oliwa z oliwek, rzepakowy, sezamowy, słonecznikowy, sojowy oraz z pestek dyni.

Podczas wytwarzania olejów jadalnych metodami przemysłowymi może dochodzić do znacznych strat zawartości substancji bioaktywnych, zwłaszcza podczas łuszczenia, wstępnego ogrzewania, wytlaczania za pomocą pras ślimakowych oraz ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi (benzyną ekstrakcyjną, heksanem lub trichloroetanem). Dalsze straty następują podczas procesu rafinacji, który obejmuje odśluzowanie, odkwaszanie, dezodorację i wybielanie oleju.

Proces rafinacji olejów może być konieczny, gdy chodzi o usunięcie składników o nieprzyjemnym smaku i zapachu, a także substancji szkodliwych dla zdrowia. Z drugiej strony prowadzi on do znacznych strat zawartości antyoksydantów, w tym tokoferoli. Dotyczy to zwłaszcza  $\alpha$ -tokoferolu, który jest znacznie bardziej podatny na utlenienie niż pozostałe formy. Według Baltesa [101] straty tokoferoli wynoszą 25% podczas rafinowania oleju rzepakowego i sojowego, a oleju arachidowego i słonecznikowego – aż 35 do 40%. Usuwane są również inne wartościowe składniki, jak fosfolipidy, m.in. lecytyna.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.T. Spence, *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, S4.
- [2] F. Shahidi, *Trends Food Sci. Technol.*, 2009, **20**, 376.
- [3] L. Day, R.B. Seymour, K.F. Pitts, I. Konczak, L. Lundin, *Trends Food Sci. Technol.*, 2009, **20**, 388.
- [4] B. Drozdowski, [w:] Z.E. Sikorski (red.), *Chemia żywności*, t. 2, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne WNT, Warszawa 2009, ss. 150–151.
- [5] G. Bartosz, *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003.
- [6] *Przeciwutleniacze w żywności*, praca zbiorowa pod red. W. Gajka, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007, rozdz. 2.
- [7] A.E. Leonard, S.L. Pereira, H. Sprecher, Y.-S. Huang, *Prog. Lipid Res.*, 2004, **43**, 36.
- [8] M.T. Nakamura, H.P. Cho, J. Xu, Z. Tang, S.D. Clarke, *Lipids*, 2001, **36**, 961.
- [9] C.H.S. Ruxton, P.C. Calder, C.S. Reed, M.J.A. Simpson, *Nutr. Res. Rev.*, 2005, **18**, 113.
- [10] J.T. Brenna, N. Salem Jr., A.J. Sinclair, S.C. Cunnane, *PLEFA*, 2009, **80**, 85.
- [11] L. Lauritzen, H.S. Hansen, M.H. Jørgensen, K.F. Michaelsen, *Prog. Lipid Res.*, 2001, **40**, 1.
- [12] C. Boudrault, R.P. Bazinet, D.W.L. Ma, *J. Nutr. Biochem.*, 2009, **20**, 1.
- [13] U.N. Das, *PLEFA*, 2008, **78**, 11.
- [14] S.C. Cunnane, M. Plourde, F. Pifferi, M. Bégin, C. Féart, P. Barberger-Gateau, *Prog. Lipid Res.*, 2009, **48**, 239.
- [15] R. De Caterina, G. Basta, *Eur. Heart J. Supplements*, 2001, **3**, D42.
- [16] G. Schmitz, J. Ecker, *Prog. Lipid Res.*, 2008, **47**, 147.
- [17] P.C. Calder, *Lipids*, 2001, **36**, 1007.
- [18] G. Barceló-Coblijn, E.J. Murphy, *Prog. Lipid Res.*, 2009, **48**, 355.
- [19] W.-S. Choo, J. Birch, J.-P. Dufour, *J. Food Comp. Anal.*, 2007, **20**, 202.
- [20] J.C. Callway, *Euphytica*, 2004, **140**, 65.
- [21] R. Brigelius-Flohé, M.G. Traber, *FASEB J.*, 1999, **13**, 1145.
- [22] C. Schneider, *Mol. Nutr. Food Res.*, 2005, **49**, 7.
- [23] S. Michałkiewicz, M. Tutaj, M. Kaczor, J. Małyszko, *Electroanalysis*, 2002, **14**, 297.
- [24] R. Brigelius-Flohé, *Free Radic. Biol. Med.*, 2009, **46**, 543.
- [25] J.H. Wu, K.D. Kroft, *Mol. Aspects Med.*, 2007, **28**, 437.
- [26] S.W. Leonard, E. Paterson, J.K. Atkinson, R. Ramakrishnan, C.E. Cross, M.G. Traber, *Free Radic. Biol. Med.*, 2005, **38**, 857.
- [27] G. Blekas, M. Tsimidou, D. Boskou, *Food Chem.*, 1995, **52**, 289.
- [28] A.M. Marina, Y.B. Che Man, I. Amin, *Trends Food Sci. Technol.*, 2009, **20**, 481.
- [29] H. Schwartz, V. Ollilainen, V. Piironen, A.-M. Lampi, *J. Food Comp. Anal.*, 2008, **21**, 152.
- [30] B.M. Rezk, G.R.M.M. Haenen, W.J.F. van der Vijgh, A. Bast, *Biochim. Biophys. Acta*, 2004, **1683**, 16.
- [31] R. Gianello, R. Libinaki, A. Azzi, P.D. Gavin, Y. Negis, J.-M. Zingg, P. Holt, H.-H. Keah, A. Grifey, A. Smallridge, S.M. West, E. Ogru, *Free Radic. Biol. Med.*, 2005, **39**, 970.
- [32] P.M. Bramley, I. Elmadfa, A. Katafios, J.F. Kelly, Y. Manios, H.E. Roxborough, W. Schuch, P.J.A. Sheehy, K.-H. Wagner, *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 913.
- [33] R. Brigelius-Flohé, *Nutr. Res. Rev.*, 2006, **19**, 174.
- [34] J.-M. Zingg, *Mol. Aspects Med*, 2007, **28**, 400.
- [35] R. Szymańska, B. Nowicka, J. Kruk, *Kosmos*, 2009, **58**, 199.
- [36] X. Wang, P.J. Quinn, *Prog. Lipid Res.*, 1999, **38**, 309.
- [37] A. Theriault, J.-T. Chao, Q. Wang, A. Gapor, K. Adeli, *Clin. Biochem.*, 1999, **32**, 309.
- [38] W. Mazur, H. Adlercreutz, *Pure Appl. Chem.*, 1998, **70**, 1759.

- [39] J. Liggins, R. Grimwood, S.A. Bingham, *Anal. Biochem.*, 2000, **287**, 102.
- [40] L.-Q. Wang, *J. Chromatogr. B*, 2002, **777**, 289.
- [41] B. Raffaelli, A. Hoikkala, E. Leppala, K. Wahala, *J. Chromatogr. B*, 2002, **777**, 29.
- [42] K.-H. Lee, Z. Xiao, *Phytochem. Rev.*, 2003, **2**, 341.
- [43] N.M. Saarinen, A. Smeds, S.I. Makela, J. Ammala, K. Hakala, J.-M. Pihlava, E.-L. Ryhanen, R.Sjoholm, R. Santti, *J. Chromatogr. B*, 2002, **777**, 311.
- [44] A.I. Smeds, P.C. Eklund, R.E. Sjöholm, S.M. Willfor, S. Nisnibe, T. Deyama, B.R. Holmbom, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 1337.
- [45] L.P. Meagher, G.R. Beecher, *J. Food Comp. Anal.*, 2000, **13**, 935.
- [46] W. Mazur, T. Fotsis, K. Wahala, S. Ojala, A. Salakka, *Anal. Biochem.*, 1996, **233**, 169.
- [47] S. Heinonen, T. Nurmi, K. Liukkonen, K. Poutanen, S. Nishibe, H. Adlercreutz, *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 3178.
- [48] J.L. Penalvo, S.-M. Heinonen, A.-M. Aura, H. Adlercreutz, *J. Nutr.*, 2005, **135**, 1056.
- [49] N.D. Westcott, A. Muir, *Phytochem. Rev.*, 2003, **2**, 401.
- [50] H. Adlercreutz, W. Mazur, *Ann. Med.*, 1997, **29**, 95.
- [51] Ch. Hu, Y.V. Yuan, D.D. Kitts, *Food Chem. Toxicol.*, 2007, **45**, 2219.
- [52] J.L. Penalvo, A. Hopia, H. Adlercreutz, *Eur. J. Nutr.*, 2006, **45**, 439.
- [53] N.P. Visavadiya, A.V.R.L. Narasimhacharya, *Food Chem. Toxicol.*, 2008, **46**, 1889.
- [54] R.W. Owen, A. Giacosa, W.E. Hull, R. Haubner, B. Spiegelhalder, H. Bartsch, *Eur. J. Cancer*, 2000, **36**, 1235.
- [55] Y. Mousavi, H. Adlercreutz, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1992, **41**, 615.
- [56] P.M. Kris-Etherton, K.D. Hecker, A. Bonanome, S.M. Coval, A.E. Binkoski, K.F. Hilpert, A.E. Griel, T.D. Etherton, *Am. J. Med.*, 2002, **113**, 71S.
- [57] A.A. Moazzami, A. Kamal-Eldin, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2006, **83**, 719.
- [58] S. Hamalatha, Ghafoorunissa, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2004, **81**, 467.
- [59] A. Kamal-Eldin, L.A. Appelqvist, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, **71**, 149.
- [60] N.V. Yanishlieva, E.M. Marinova, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2001, **103**, 752.
- [61] K. Papadopoulos, T. Triantis, E. Yannakopoulou, A. Nikokavoura, D. Dimotikali, *Anal. Chim. Acta*, 2003, **494**, 41.
- [62] A. Garcia, M. Brenes, P. Garcia, C. Romero, A. Garrido, *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216**, 520.
- [63] I.E.J. Milder, I.C.W. Arts, B. Pute, D.P. Venema, P.C.H. Hollman, *Brit. J. Nutr.*, 2005, **93**, 393.
- [64] K.M. Philips, D.M. Ruggio, J.I. Toivo, M.A. Swank, A.H. Simpkins, *J. Food Comp. Anal.*, 2002, **15**, 123.
- [65] J. Toivo, K. Philips, A.-M. Lamo, V. Piironen, *J. Food Comp. Anal.*, 2001, **14**, 631.
- [66] M.J. Lagarda, G. Garcia-Llatas, R. Farre, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006, **41**, 1486.
- [67] R.A. Moreau, B.D. Whitaker, K.B. Hicks, *Prog. Lipid Res.*, 2002, **41**, 457.
- [68] V. Piironen, D.G. Lindsay, T.A. Miettinen, J. Toivo, A.-M. Lampi, *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 939.
- [69] S.S. Cumha, J.O. Fernandes, M.B.P.P. Oliveira, *J. Chromatogr. A*, 2006, **1128**, 220.
- [70] S.L. Abidi, *J. Chromatogr. A*, 2001, **935**, 173.
- [71] A. de Jong, J. Plat, R.P. Mensink, *J. Nutr. Biochem.*, 2003, **14**, 362.
- [72] J. Przysławski, M. Stelmach, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **42**, 1.
- [73] M. Stuchlik, S. Zak, *Biomed. Papers*, 2002, **146**, 3.
- [74] W.H. Ling, P.J.H. Jones, *Life Sci.*, 1995, **57**, 195.
- [75] C. Mettlin, *Eur. J. Cancer*, 1997, **33**, 340.
- [76] A. Pórolniczak, B. Rubiś, M. Rybczyńska, *Współcz. Onkologia*, 2008, **12**, 447.
- [77] R. Szymańska, J. Kruk, *Kosmos*, 2007, **56**, 107.
- [78] E. Ryan, J. Chopra, F. McCarthy, A.R. Maguire, N.M. O'Brien, *Brit. J. Nutr.*, 2005, **94**, 443.

- [79] V. Piironen, J. Toivo, A.-M. Lampi, J. Food Com. Anal., 2000, **13**, 619.
- [80] M. Murkovic, V. Piironen, A.M. Lampi, T. Kraushofer, G. Sontag, Food Chem., 2004, **84**, 359.
- [81] Y.M. Choo, M.H. Ng, A.N. Ma, Ch.H. Chuah, M.A. Hashim, Lipids, 2005, **40**, 429.
- [82] R. Sambanthamurthi, K. Sundram, Y.-A. Tan, Prog. Lipid Res., 2000, **39**, 507.
- [83] R. Aparicio, R. Aparicio-Ruiz, J. Chromatogr. A, 2000, **881**, 93.
- [84] M. Lechner, B. Reiter, E. Lorbeer, J. Chromatogr. A, 1999, **857**, 231.
- [85] Y.J. Hyun, O.Y. Kim, J.B. Kang, J.H. Lee, Y. Jang, L. Liponkoski, P. Salo, Nutr. Res., 2005, **25**, 743.
- [86] L. Cabrini, V. Barzanti, M. Ciopllone, D. Iorentini, G. Grossi, B. Tolomelli, L. Zambonin, L. Landi, J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 6026.
- [87] F. Visioli, A. Poli, C. Galli, Med. Res. Rev., 2001, **22**, 65.
- [88] A. Perscha, A. Siger, K. Lorenc-Kukuła, J. Biernat, M. Nogala-Kalućka, J. Szopa, Bromat. Chem. Toksykol., 2008, **61**, 286.
- [89] H. Rauchova, M. Vokurkova, Chem. Listy, 2009, **103**, 32.
- [90] G. Dalner, P.J. Sindelar, Free Radic. Biol. Med., 2000, **29**, 285.
- [91] H. Shi, N. Noguchi, E. Niki, Free Radic. Biol. Med., 1999, **27**, 334.
- [92] L. Cabrini, V. Barzanti, M. Cipollone, D. Fiorentini, G. Grossi, B. Tolomelli, L. Zambonin, L. Landi, J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 6026.
- [93] R. Rodriguez-Acuna, E. Brenne, F. Lacoste, J. Agric. Food Chem., 2008, **56**, 6241.
- [94] C. Soler-Rivas, J.C. Espin, H.J. Wichers, J. Sci. Food Agric., 2000, **80**, 1013.
- [95] E. Tripoli, M. Giammanco, G. Tabacchi, D. Di Majo, S. Giammanco, M. La Guardia, Nutr. Res. Rev., 2005, **18**, 98.
- [96] S. Cicerale, X.A. Conlan, N.W. Barnett, A.J. Sinclair, R.S.J. Keast, J. Agric. Food Chem., 2009, **57**, 1326.
- [97] Z. Xu, J.S. Godber, J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 2724.
- [98] C. Juliano, M. Cossu, M.C. Alamanni, L. Piu, Int. J. Pharm., 2005, **299**, 146.
- [99] M.F. Andreasen, A.-K. Landbo, L.P. Christensen, A. Hansen, A.S. Meyer, J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 4090.
- [100] T.A. Wilson, R.J. Nicolosi, B. Woolfrey, D. Kritchevsky, J. Nutr. Biochem., 2007, **18**, 105.
- [101] W. Baltes, *Lebensmittelchemie*, Springer, Berlin 1995, ss. 280-284.

Praca wpłynęła do Redakcji 25 marca 2010



**MOŻLIWOŚCI ZAGOSPODAROWANIA  
ODPADÓW CHLOROORGANICZNYCH**  
POSSIBILITIES OF CHLOROORGANIC WASTES  
UTILIZATION

**Jerzy Myszkowski, Eugeniusz Milchert,  
Waldemar Paździach, Marcin Bartkowiak,  
Robert Pelech\***

*Instytut Technologii Chemicznej Organicznej,  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin  
\*e-mail: Robert.Pelech@ps.pl*

---

Abstract

Wstęp

1. Izomeryzacja
  2. Amonoliza
  3. Wodoroodchlorowanie
  4. Chloroliza
  5. Wyodrębnianie związków chloroorganicznych ze ścieków
  6. Integracja produkcji tlenu propylenu z elektrolizą solanki
- Piśmiennictwo cytowane
- 
-



**Prof. dr hab. inż. Jerzy Myszowski** w roku 1957 ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Szczecińskiej. Jest profesorem zwyczajnym w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Specjalność – technologia podstawowych syntez organicznych.

**Prof. dr hab. inż. Eugeniusz Milchert** w roku 1969 ukończył Wydział Chemiczny Politechniki Szczecińskiej. Pracuje w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Jest prodziekanem ds. nauki Wydziału Technologii i Inżynierii Chemicznej. Specjalność – technologia podstawowej syntezy chemicznej.

**Dr inż. Waldemar Paździach** w roku 1977 ukończył studia na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Szczecińskiej. Jest adiunktem w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Specjalność – technologia podstawowej syntezy organicznej.

**Dr inż. Marcin Bartkowiak** w roku 1999 ukończył studia na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Szczecińskiej. Jest adiunktem w Zakładzie Technologii Chemicznej Organicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Specjalność – technologia podstawowej syntezy chemicznej.

**Dr inż. Robert Pelech** w roku 1999 ukończył studia na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Szczecińskiej. Jest adiunktem i kierownikiem Laboratorium Utylizacji Odpadów Przemysłu Organicznego w Zakładzie Technologii Chemicznej Organicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Specjalność – technologia podstawowej syntezy chemicznej.

**ABSTRACT**

Possible ways of utilization of waste chloroorganic compounds have been presented. The methods like isomerization, hydrodechlorination, ammonolysis and chlorolysis have been described. Practical application of these methods allows the management of chloroorganic wastes coming from waste water and waste streams formed e.g. in the production of vinyl chloride by dichloroethane method [2] and in the production of propylene oxide by chlorohydrin method [1]. Four valuable methods of chlorocompounds utilization have been discussed. The first one is isomerization of 1,1,2-trichloroethane [3, 4] to 1,1,1-trichloroethane as the valuable product with a less toxicity than the substrate. The second method is ammonolysis of waste 1,2-dichloropropane and 1,2,3-trichloropropane. Third described method is hydrodechlorination [5, 6] of chloroorganic compounds, especially used for reduction of chlorophenols, vinyl chloride and 1,2-dichloroethane. The last discussed method is the chlorolysis [1, 7]. This method can be used for utilization of all types of waste chloroorganics. Separation of waste chloroorganic compounds by adsorption methods [8–11] has also been described in the article.

Keywords: ammonolysis, isomerization, chlorolysis, hydrodechlorination, waste water

Słowa kluczowe: amonoliza, izomeryzacja, chloroliza, odchlorowodorowanie, ścieki

---

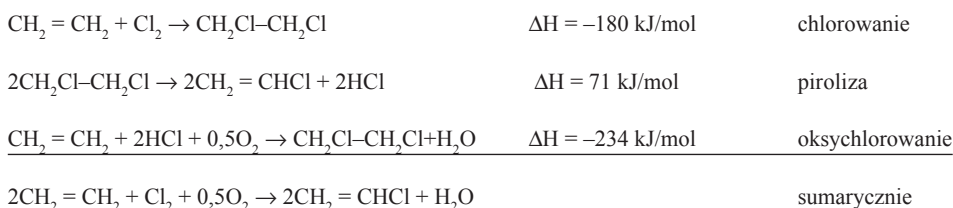
---

## WSTĘP

W wytwórniach chlorku winylu metodą dichloroetanową oraz tlenku propylenu metodą chlorohydrynową powstaje szereg strumieni odpadowych zawierających związki chloroorganiczne [1]. Są to najczęściej przedgony i niedogony destylacyjne. Znaczne ilości związków chloroorganicznych są również emitowane przez te zakłady wraz ze ściekami.

Związki te najczęściej są spalane lub gdy znajdują się w ściekach, destrukcyjnie utleniane. Obecnie najwięcej prac jest związanych z metodami ich mineralizacji lub częściowej mineralizacji ugrupowania halogenowego [2, 3]. W procesach częściowej mineralizacji dąży się do odzepienia atomu chlorowca i zastąpieniu go grupą hydroksylową. Przemiana ta znacznie obniża toksyczność i zwiększa podatność na biodegradację powstałej molekuly. Procesy te często w celu intensyfikacji są dodatkowo wspierane ultradźwiękami, mikrofalami lub ultrafioletem [4, 5]. W wyniku takiego postępowania bezpowrotnie tracone są cenne surowce. Spalanie związków chloroorganicznych może ponadto prowadzić do emisji niebezpiecznych dioksyn. W poniższym artykule przedstawiono propozycje metod wyodrębnienia i zagospodarowania użytecznych związków chloroorganicznych ze ścieków i strumieni odpadowych, powstających podczas produkcji chlorku winylu metodą dichloroetanową i tlenku propylenu metodą chlorohydrynową.

Większość produkowanego obecnie chlorku winylu otrzymuje się w procesie ze zbilansowaniem chloru. Proces polega na chlorowaniu etylenu do 1,2-dichloroetanu (DCE), pirolizie DCE do chlorku winylu i chlorowodoru, oksychlorowaniu etylenu przy użyciu chlorowodoru z pirolizy i spalania odpadowych chloropochodnych. Można to zapisać reakcjami:

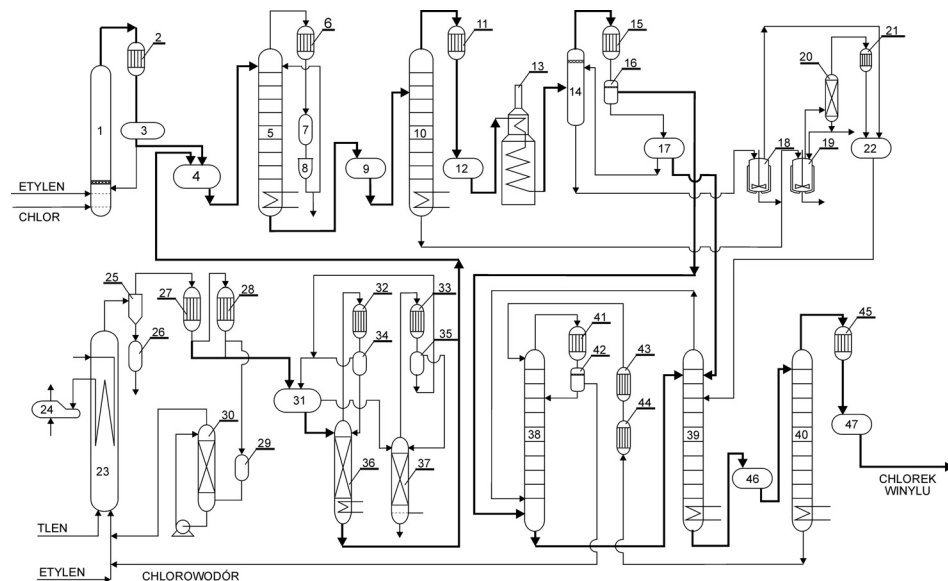


Najnowsze instalacje technologiczne chlorku winylu, o zdolności produkcyjnej 200 000–400 000 Mg/rok, pracują według metody ze zbilansowaniem chloru, często w powiązaniu z instalacją chlorolizy nieużytecznych odpadów chloroorganicznych i instalacją spalania. W instalacji takiej można wyróżnić następujące węzły produkcyjne:

- chlorowanie etylenu w fazie ciekłej,
- oksychlorowanie etylenu i oczyszczanie warstwy wodnej z oksychlorowania,
- destylacja 1,2-dichloroetanu z chlorowania i oksychlorowania,
- piroliza 1,2-dichloroetanu i rozfrakcjonowanie produktów po pirolizie,

- chloroliza odpadowych chloropochodnych,
- spalanie nieużytecznych odpadów i odzysk chlorowodoru.

Uproszczony schemat technologiczny produkcji chlorku winylu metodą dichloroetanową przedstawiono na Rysunku 1 [6].



Rysunek 1. Uproszczony schemat technologiczny produkcji chlorku winylu metodą dichloroetanową:

1 – reaktor chlorowania; 2, 6, 11, 15, 21, 27, 28, 32, 33, 41, 43, 44, 45 – chłodnice; 3 – zbiornik; 4, 9 – zbiornik przejściowy; 5 – kolumna destylacyjna „frakcji lekkiej”; 7 – osuszka z chlorkiem wapnia; 8 – filtr; 10 – kolumna destylacyjna 1,2-dichloroetanu; 12 – zbiornik 1,2-dichloroetanu; 13 – piec do pirolizy; 14 – kolumna szybkiego schładzania; 16, 29, 42 – separator fazy gazowej i cieplej; 17 – zbiornik przejściowy 1,2-dichloroetanu; 18, 19 – kotły destylacyjne „frakcji ciężkiej”; 20 – kolumna destylacyjna 1,1,2-trichloroetanu; 22 – zbiornik technicznego 1,2-dichloroetanu; 23 – reaktor oksychlorowania; 24 – wytwornica pary; 25 – cyklon; 26 – zbiornik pyłów; 30 – absorber chlorowodoru; 31 – zbiornik produktów oksychlorowania; 34, 35 – rozdzielacz faz ciekłych; 36 – kolumna destylacji azeotropowej; 37 – kolumna odpędowa; 38 – absorber lekkich produktów pirolizy; 39 – kolumna desorpcyjna chlorowodoru; 40 – kolumna destylacyjna chlorku winylu; 46 – zbiornik przejściowy chlorku winylu; 47 – zbiornik chlorku winylu

Figure 1. Simplified technological scheme of vinyl chloride production by the dichloroethane method:

1 – chlorination reactor; 2, 6, 11, 15, 21, 27, 28, 32, 33, 41, 43, 44, 45 – condensers; 3 – tank; 4, 9 – transit tank; 5 – „light fraction” distillation column; 7 – desiccant (CaCl<sub>2</sub>); 8 – filter; 10 – 1,2-dichloroethane distillation column; 12 – 1,2-dichloroethane tank; 13 – pyrolysis furnace; 14 – fast cooling column; 16, 29, 42 – gas/liquid phase separator; 17 – 1,2-dichloroethane transit tank; 18, 19 – “heavy fraction” stills; 20 – 1,1,2-trichloroethane distillation column; 22 – tank of technically pure 1,2-dichloroethane; 23 – oxychlorination reactor; 24 – steam generator; 25 – cyclon; 26 – dust tank; 30 – hydrogen chloride absorber; 31 – oxychlorination products tank; 34, 35 – liquid phase separator; 36 – azeotropic distillation column; 37 – stripper; 38 – light products of pyrolysis; 39 – hydrogen chloride desorption column; 40 – vinyl chloride distillation column; 46 – vinyl chloride transit tank; 47 – vinyl chloride tank

Chloroorganiczne produkty uboczne powstają we wszystkich węzłach kompleksu produkcyjnego chlorku winylu: na etapie chlorowania etylenu w fazie ciekłej, oksychlorowania oraz pirolizy. Ich ilość jest różna w zależności od parametrów pracy instalacji, stopnia czystości surowców, rozwiązań aparaturowych. Niemniej jednak największa ilość produktów ubocznych o zróżnicowanym składzie powstaje w procesie oksychlorowania, gdzie w skład mieszaniny wchodzi – chlorki winylidenu, etylu, metylu, metylenu, 1,1-dichloroetan, *cis*-, *trans*-1,2-dichloroetyleny, 1,1,2-trichloroetan, chloroform, czterochlorek węgla, chloral. Produkty uboczne w mniejszych ilościach tworzą się podczas pirolizy 1,2-dichloroetanu – są to głównie: chlorek metylu, chloroform, czterochlorek węgla, 1,1-dichloroetan, chlorek winylidenu, 1,1,1-trichloroetan, chloropren, acetylen, winyloacetylen, etylen, butadien. Jeśli nie prowadzi się uwodornienia strumienia, część najlotniejszych zanieczyszczeń (acetylen, etylen) przechodzi z chlorowodorem do oksychlorowania. Do handlowego chlorku winylu przedostają się również: acetylen, butadien, chlorek metylu i inne, powodując obniżenie jego jakości.

Na instalacji powstają dwa główne odpadowe strumienie ciekłych chloropochodnych:

- destylat z kotła 19, otrzymany po destylacji tak zwanej „frakcji lekkiej” i „ciężkiej” – wyodrębnione podczas oczyszczania 1,2-dichloroetanu;
- pozostałości z kolumny szybkiego schładzania 14 (po pirolizie) i destylat z kolumny odpędowej 37, otrzymany po destylacji z parą wodną, głównie warstwy wodnej z oksychlorowania.

Skład tych strumieni przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Skład głównych strumieni odpadów powstających w instalacji chlorku winylu, wartości w %wag

Table 1. Composition of main waste streams generated in vinyl chloride installation (wt%)

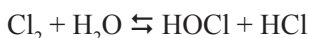
Odpad destylat z kotła 19	Odpad niedogon z kotła 19	Odpad destylat z kolumny 37
1,1,2-trichloroetan 35,5	1,1,2-trichloroetan 36,5	chloroform 71,0
1,2-dichloroetan 30,5	1,1,2,2-tetrahaloroetan 14,1	1,2-dichloroetan 26,5
1,1,2,2-tetrahaloroetan 11,2	perchloroetylen 11,0	<i>cis</i> -1,2-dichloroetylen 0,5
1,1,1,2-tetrahaloroetan 6,7	pentachloroetan 10,8	CCl <sub>4</sub> 0,5
perchloroetylen 10,5	1,2-dichloroetan 6,5	1,1-dichloroetan 0,5
pentachloroetan 4,1	1,1,1,2-tetrahaloroetan 5,3	chlorek winylu 0,5
trójchloroetylen 1,2	polimery i smoły 15,8	chlorek winylidenu 0,5

W kompleksie chlorku winylu powstają również ścieki na jednostkach: chlorowania etylenu w fazie ciekłej, oksychlorowania, pirolizy 1,2-dichloroetanu. Najczęściej łączy się je ze ściekami z instalacji chlorolizy, spalania i polimeryzacji chlorku

winyłu. Sumaryczna ilość ścieków kompleksu nie powinna przekraczać 0,4 m<sup>3</sup>/Mg chlorku winylu. Surowy ściek zawiera chlorowane węglowodory na poziomie 4–10 kg/Mg.

Tlenek propylenu należy do półproduktów wytwarzanych w skali wielkoprzemysłowej. Główne kierunki jego zastosowań obejmują produkcje: polieterów, poliesterów do wytwarzania poliuretanów. Ponadto stosuje się go do wytwarzania glikolu propylenowego, dipropylenowego, niejonowych środków powierzchniowo czynnych, kauczuków polioksypropylenowych, alkoholu allilowego, węglanu propylu, izopropanoloamin.

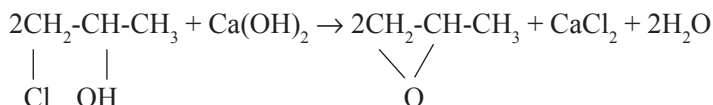
Klasyczna metoda produkcji tlenku propylenu [1] polega na chlorohydroksylowaniu propylenu kwasem chlorowym (I), HClO. Wytwarza się go podczas rozpuszczania chloru w wodzie:



i natychmiast używa do chlorohydroksylowania:



W drugim etapie prowadzi się odchlorowodorowanie wodnego roztworu chlorohydryny mlekiem wapiennym:



Na 1 Mg tlenku propylenu w procesie powstaje około 2,1 Mg chlorku wapnia, 127 kg 1,2-dichloropropanu, 29 kg eteru bis(1-chloro-2-propylenowego), 59 kg glikolu propylenowego. Z tych ilości ze ściekiem traci się: 13 kg 1,2-dichloropropanu, 9 kg eteru bis(1-chloro-2-propylenowego), 8 kg glikolu propylenowego. Ogólna masa ścieku wynosi 40–50 Mg/Mg tlenku propylenu. Ponadto z bilansowego punktu widzenia, w ścieku występują nieistotne ilości innych związków takich jak: aldehyd 1-chloropropionowy, chloroaceton, 1,3-dichloropropan, 1,2,3-trichloropropan. Związki organiczne pozostające w ścieku po strippingu parą wodną rozkłada się w oczyszczalniach biologicznych. Ze względu na koszty korzystne jest maksymalne obniżenie stężenia tych związków. W klasycznych wytwórniach pozostaje jednak problem wysokiego stężenia CaCl<sub>2</sub> w ścieku. Ściek ten ostatecznie trafia do zbiorników wodnych, powodując ich zasolenie.

Skład odpadu jest następujący:

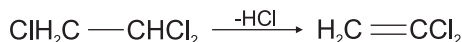
- 1,2-dichloropropan – 80% wag.,
- eter bis(1-chloro-2-propylenowy) – 14% wag.,
- chlorohydryna propylenowa – 3,5% wag.,

- inne pochodne organiczne (aldehyd 1-chloropropionowy, chloroaceton, 1,3-dichloropropan, 1,2,3-trichloropropan) – 2,5% wag.

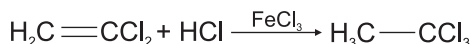
Poniżej przedstawiono możliwości wyodrębniania, przetwarzania i wykorzystania odpadowych związków chloroorganicznych.

## 1. IZOMERYZACJA

Izomeryzacja jest to reakcja lub łańcuch reakcji polegających na przekształceniu cząsteczki izomeru do innej postaci izomerycznej. W wyniku izomeryzacji można przekształcić cząsteczkę, tak aby z postaci nieużytkowej uzyskać nowy pożądany produkt. Ze względu na identyczny skład jakościowy substratu i produktu zastosowanie izomeryzacji do transformacji nie powoduje z teoretycznego punktu widzenia powstawania produktów ubocznych. Izomeryzacja pozwala również zmienić właściwości toksyczne związku chemicznego. Tego typu przemianę wykorzystać można w otrzymywaniu 1,1,1-trichloroetanu (111TCE) z 1,1,2-trichloroetanu (112TCE). 111TCE jest szeroko stosowanym rozpuszczalnikiem chloroorganicznym głównie ze względu na jego stosunkowo niską toksyczność. Izomeryzację 112TCE prowadzi się dwuetapowo [7, 8]. W pierwszym etapie w roztworze alkaliów prowadzi się częściowe odchlorowodorowanie 112TCE do 1,1-dichloroetyleny (VDC) zgodnie z reakcją:

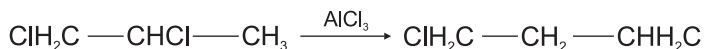


Optymalne warunki prowadzenia tej reakcji uzyskuje się prowadząc proces w 10% wag. roztworze NaOH w temperaturze 70–80°C, przy zastosowaniu stosunku molowego 112TCE : NaOH równego 1,05 : 1,1. Uzyskany VDC odpędza się ze środowiska reakcji i kieruje do drugiego etapu, gdzie następuje przyłączenie chlorowodoru z uzyskaniem 111TCE zgodnie z reakcją:



Proces prowadzi się katalitycznie z użyciem chlorku żelaza(III) jako katalizatora homogenicznego rozpuszczonego w produktach reakcji. Optymalna temperatura procesu wynosi 20–25°C, stężenie  $\text{FeCl}_3$  0,3% wag.

Podobnie można przekształcić odpadowy 1,2-dichloropropan (12DCP) uzyskując 1,3-dichloropropan (13DCP). 13DCP w dalszej kolejności może stanowić cenny surowiec do otrzymywania 1,3-diaminopropanu lub 1,3-dihydroksypropanu. W tym przypadku izomeryzację można przeprowadzić jednoetapowo. Reakcja izomeryzacji jest katalizowana chlorkiem glinu, zgodnie z równaniem:

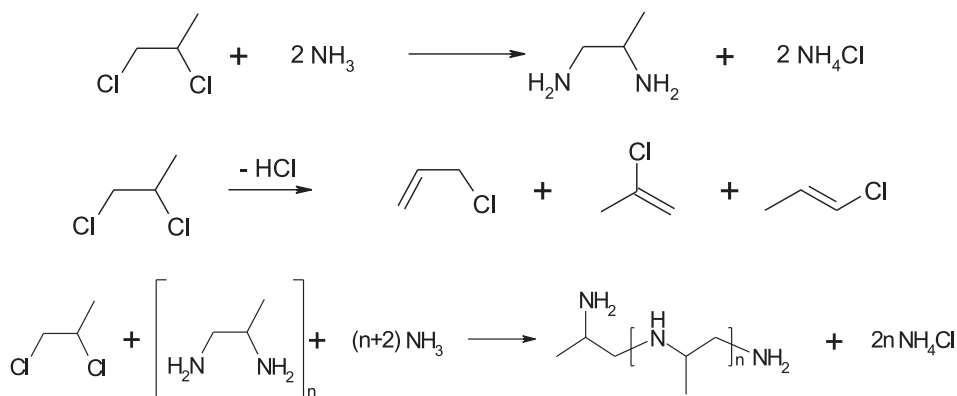


## 2. AMONOLIZA

Jedną z podstawowych przemysłowych metod otrzymywania amin obok redukcji związków nitrowych, jest amonoliza. Wykorzystuje się ją również do utylizacji odpadów powstałych z produkcji przemysłowych. W ten sposób uzyskuje się szereg półproduktów, stosowanych w syntezach organicznych lub produkuje związki finalne.

Amonolizę można stosować m.in. do utylizacji odpadowego 1,2-dichloropropanu i 1,2,3-trichloropropanu, wytworzonych w procesie otrzymywania epichlorohydryny glicerynowej. Można ją również zastosować do utylizacji odpadowych poliamidów, a także chlorowinyloarsyn (gaz bojowy Luizyt). Amonolizę wykorzystuje się również do rozkładu czynnika FS, preparatu zadymiającego stosowanego przez wojsko. Inne zastosowania to amonoliza odpadów z przetwórstwa poli(tereftalanu etylenu) i odpadów poużytkowych PET.

Szczególnie interesujący z punktu widzenia zastosowań otrzymywanych półproduktów jest proces amonolizy odpadowego 1,2-dichloropropanu. Można prowadzić go za pomocą wodnych roztworów amoniaku, chociaż jako czynnik amonolizujący można również stosować ciekły amoniak. Proces przebiega wg następujących reakcji:

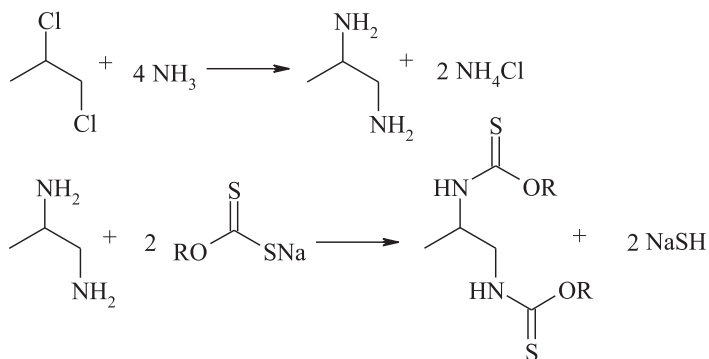


Reakcji głównej towarzyszy odchlorowodorowanie 1,2-dichloropropanu do 3-, 2- i 1-chloropropenu.

W procesie amonolizy 1,2-dichloropropanu zachodzi również uboczna reakcja alkilowania, w której powstający 1,2-diaminopropan konkuruje z amoniakiem, w reakcji z 1,2-dichloropropanem. Reakcji tej sprzyja wyższa zasadowość 1,2-diaminopropanu w porównaniu z amoniakiem. W rezultacie powstają polipropylenoaminy – przede wszystkim dipropylenotriaminy i tripropylenotetraaminy. W zależności od parametrów procesu można uzyskać wyższą selektywność przemiany w kierunku 1,2-diaminopropanu lub polipropylenoamin, jak również ograniczyć wydajność ubocznych chloropropenów. Zarówno 1,2-diaminopropan, jak i polipropylenoaminy są cennymi surowcami w syntezie wielu produktów użytkowych. Pro-



dukty te, to przede wszystkim środki uszlachetniające i pomocnicze stosowane w wielu gałęziach współczesnego przemysłu, m.in. w przemyśle petrochemicznym, włókienniczym, tworzyw sztucznych, związków powierzchniowo czynnych. Na przykład 1,2-diaminopropan można w kolejnych przemianach przetworzyć do tionouretanu co przedstawiają poniższe równania:



### 3. WODOROODCHLOROWANIE

Katalityczne procesy redukcji wodorem są obecnie obiecującymi alternatywnymi bezdestrukcyjnymi metodami unieszkodliwiania związków chloroorganicznych w warunkach przemysłowych. Katalityczne procesy redukcji wodorem są łatwe w prowadzeniu, bezpieczne, wydajne oraz umożliwiają odzyskanie surowców [9].

Wodoroodchlorowanie związków halogenoorganicznych może być ogólnie przedstawione poniższym równaniem:

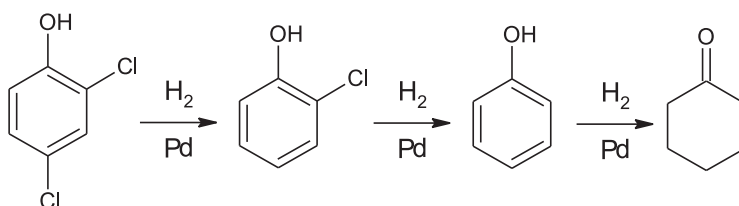


Łatwość zerwania wiązania C–X zależy od typu związanego halogenu, obecności pozostałych grup funkcyjnych, zastosowanego katalizatora oraz warunków prowadzenia reakcji. Halogenki alkilowe ulegają trudniej reakcji wodoroodchlorowania niż halogenki benzytowe, aryłowe lub winylowe. Reaktywność halogenków zmniejsza się w następującym kierunku: R–I > R–Br > R–Cl >> R–F. Ten kierunek jest równoznaczny z wielkością energii dysocjacji wiązania węgiel–halogen.

Katalityczna wodoroliza jest często inhibitowana przez wydzielający się wodorohalogen. W przypadku związków chloroorganicznych jest to chlorowódor. W związku z tym proces wodorolizy często jest prowadzony w obecności zasady. Zadaniem zasady jest neutralizacja kwasu i utrzymanie metalicznego katalizatora w stanie zredukowanym. Najczęściej jako zasady są używane wodorotlenki sodu, potasu, wapnia i baru, również używa się octanu sodu, amin, wodorotlenku amonu. Cała VIII grupa metali szlachetnych jest znana z ich własności katalitycznych w reakcjach redukcji i rozrywania wiązania C–Cl. Pallad jest uważany za najlepszy katalizator do selek-

tywnej wymiany atomu chloru na wodór. Wynika to nie tylko z jego możliwości promowania reakcji selektywnego wodoroodchlorowania ale również najmniejszej czułości na zatrucie jonami halogenkowymi. Źródłem wodoru może być wodór molekularny lub każdy inny donator wodoru taki jak sole np. mrówczany, podfosforyny (fosforany(I)). Ostatecznie własności katalizatora mogą być szeroko zmieniane przez donorowanie innych metali lub promotorów oraz dobór lub obróbkę nośnika [10].

Procesy wodoroodchlorowania można prowadzić w fazie gazowej jak i również wodnej w przypadku redukcji związków chloroorganicznych w ściekach. Procesy w fazie gazowej stosuje się głównie do redukcji lekkich chlorowanych węglowodorów alifatycznych (1,2-dichloroetan, chlorek winylu). Procesy w fazie wodnej służą najczęściej do przekształcania chlorofenoli. Głównym produktem końcowym tego procesu jest znacznie mniej toksyczny fenol, który można poddać głębszej redukcji do jeszcze mniej toksycznego cykloheksanonu, zgodnie z poniższymi reakcjami:

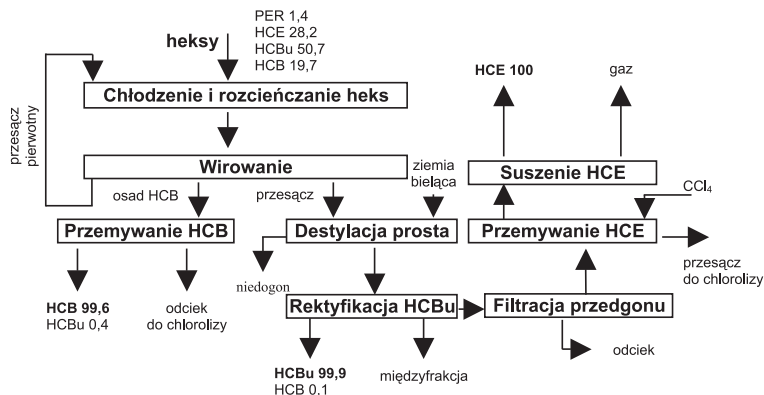


#### 4. CHLOROLIZA

Praktycznie wszystkie odpady chloroorganiczne można poddać chlorolizie w wyniku czego otrzymuje się tetrachlorometan i perchloroetylen (PER) [1]. Ponieważ zapotrzebowanie na tetrachlorometan wyraźnie spadło, ze względu na zaprzestanie produkcji freonów 11, 12 i 13, wobec tego proces prowadzi się w kierunku perchloretylenu. W czasie chlorolizy odpadów chloropochodnych powstają odpady wtórne tak zwane „hexy”:

- heksachlorobenzen (HCB),
- heksachlorobutadien ((HCBu),
- heksachloroetan (HCE).

HCB może być wykorzystany do produkcji pentachlorofenolu i pentachlorofenolanu sodu. HCBu można przetwarzać do HCE, bezwodnika dichloromaleinowego lub stosować jako rozpuszczalnik. Zagospodarowanie HCE polega na jego przetworzeniu do freonu 113 lub bezpośrednim stosowaniu jako antypirenu, plastyfikatora lub składnika preparatów grzybo- i owadobójczych [11]. Schemat wyodrębniania HCB, HCBu i HCE z mieszaniny „hex” przedstawiono na Rysunku 2.



Rysunek 2. Schemat wyodrębniania heksachloroetanu, heksachlorobenzenu i heksachlorobutadienu z mieszaniny „heks” (wartości liczbowe przedstawiają stężenia procentowe wyrażone w %wag.)

Figure 2. Scheme of separation of hexachloroethane, hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene from “hex” mixture (numbers are in wt. %)

## 5. WYODRĘBNIANIE ZWIĄZKÓW CHLOROORGANICZNYCH ZE ŚCIEKÓW

Podczas produkcji chlorku winylu powstaje strumień wysoce uciążliwego dla środowiska ścieku wodnego [1]. Zawiera on chloropochodne na poziomie 4–5 kg/Mg ścieku. Zastosowanie dwustopniowego etapu oczyszczania umożliwia ich całkowite usunięcie. W pierwszym etapie metodą strippingu parą wodną usuwa się chloropochodne do poziomu 5–10 g/Mg. Po zastosowaniu stałego złoża adsorpcyjnego w postaci węgla aktywnego, redukuje się ich stężenie poniżej 1 mg/Mg [12–15]. Bezdestrukcyjny charakter tych operacji jednostkowych umożliwia odzyskanie a następnie zagospodarowanie chloropochodnych w ilości ok. 900 Mg/rok. Metodę można zastosować również do bardzo uciążliwych dla środowiska ścieków z produkcji tlenku propylenu. Dzięki zastosowaniu zintegrowanego systemu oczyszczania w układzie strippingu parą wodną a następnie adsorpcji na węglu aktywnym można odzyskać około 1920 Mg/rok użytecznych chloropochodnych ze ścieku z instalacji epichlorohydryny oraz około 820 Mg/rok z instalacji tlenku propylenu. Związki te można następnie poddać obróbce jedną z metod przedstawionych wyżej. Schemat instalacji odzysku chloropochodnych w zintegrowanym systemie stripping parą wodną–adsorpcja–desorpcja parą wodną przedstawiono na Rysunku 3.



W pierwszym etapie roztwór solanki ze zmydlania (odchlorowodorowania ługiem sodowym) wymaga zateżenia i przygotowania. Przygotowanie polega na usunięciu związków wapnia, siarczanów, podchlorynów, związków organicznych. Obok zateżenia polegającego na odparowywaniu dodaje się uzupełniające ilości soli kamiennej. Wynika to z wyprowadzania z układu części chloru w postaci chloropochodnych organicznych jak: 1,2-dichloropropan, eter bis(1-chloro-2-propylowy) oraz niewielkich ilości chloroacetonu, aldehydu 1-chloropropionowego, 1,3-dichloropropanu, 1,2,3-trichloropropanu. Związki te można spalić i zawrócić zawarty w nich chlor w postaci roztworu NaCl. 1,2-Dichloropropan znajduje jednak kilka racjonalniejszych zastosowań. W zintegrowanych procesach chlorohydrynowych, wprowadzonych przez firmę Dow (np. w Stade w RFN, instalacja 250 tys. Mg/rok) odchlorowodorowanie prowadzi się 10% roztworem wodorotlenku sodowego. Stosuje się przy tym roztwór z przestrzeni katodowej (katolit) elektrolizera przeponowego. Zawiera on ponadto 10–14% wag. NaCl. Pozwala to zaoszczędzić energię związaną z zateżaniem i oczyszczeniem ługu sodowego. Część katolitu można oczywiście wykorzystać do produkcji wodorotlenku sodowego. Podobnie można z układu wyprowadzać chlor.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Milchert E., *Technologie produkcji chloropochodnych organicznych, utylizacja odpadów*, WUPS, ZAPOL, Szczecin, 1997.
- [2] G. Yuan, M. Keane, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2007, **46**, 705.
- [3] T. Tsai, K. Okawa, Y. Nakano, W. Nishijima, M. Okada, *Chemosphere*, 2004, **57**, 1151.
- [4] K. Mackenzie, H. Frenzel, F. Kopinke, *Appl. Catal. A-Gen.*, 2006, **63**, 161.
- [5] Y. Yasman, V. Bulatov, I. Rabin, M. Binetti, I. Schechter, *Ultrason. Sonochem.*, 2006, **13**, 271.
- [6] E. Milchert, M. Bartkowiak, R. Pelech, *Postęp w wybranych technologiach przemysłu chemicznego*, WUPS, Szczecin, 2008.
- [7] E. Milchert, W. Paździoch, J. Myszkowski, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 1995, **34**, 2138.
- [8] E. Milchert, B. Osiewicz, J. Myszkowski, *Przem. Chem.*, 1992, **71**, 376.
- [9] N. Lingaiah, M. Uddin, A. Muto, T. Imai, Y. Sakata, *Fuel*, 2001, **80**, 1901.
- [10] F. Kopinke, K. Mackenzie, R. Koehler, A. Georgi, *Appl. Catal. A General*, 2004, **271**, 119.
- [11] B. Osiewicz, E. Milchert, J. Myszkowski, *Przem. Chem.*, 1993, **10**, 406.
- [12] R. Pelech, A. Bembnowska, E. Milchert, *Adsorpt. Sci. Technol.*, 2003, **21**, 707.
- [13] R. Pelech, E. Milchert, A. Wróblewska, *J. Colloid Interf. Sci.*, 2005, **285**, 518.
- [14] R. Pelech, G. Lewandowski, E. Milchert, *Przem. Chem.*, 2006, **85** (8-9) 641.
- [15] J. Myszkowski, R. Pelech, A. Wróblewska, E. Milchert, *Przem. Chem.*, 2006, **85**, 638.
- [16] E. Milchert, J. Myszkowski, E. Meissner, *Przem. Chem.*, 1994, **73**, 168.
- [17] K.H. Simmrock, *Chem. Ind. Tech.*, 1976, **12**, 1085.
- [18] K.H. Simmrock, *Hydrocarb. Process.*, 1978, **57**, 105.
- [19] S. Tanielian, *Khim. Ind.*, 1985, **57**, 1962.

# KOSMETYCZNE ZASTOSOWANIA SERWATKI

## COSMETIC APPLICATIONS OF WHEY

**K. Śliwa, E. Sikora\*, J. Ogonowski**

*Institut Chemii i Technologii Organicznej,  
Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska  
ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków  
\*email: esikora@pk.edu.pl*

---

Abstract

Wstęp

1. Skład mleka
  2. Serwatka, produkt uboczny w przemyśle mleczarskim
    - 2.1. Skład serwatki
  3. Zastosowanie serwatki
    - 3.1. Przemysł farmaceutyczny
    - 3.2. Zastosowanie w biotechnologii
  4. Zastosowanie w produktach kosmetycznych
    - 4.1. Białka
    - 4.2. Kwas mlekowy
  5. Produkty kosmetyczne zawierające serwatkę
- Piśmiennictwo cytowane
- 
-

**mgr inż. Karolina Śliwa** – absolwentka Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej. Jest asystentem w Instytucie Chemii i Technologii Organicznej. Prowadzi zajęcia laboratoryjne z Technologii Kosmetyków oraz Fizykochemii Form Kosmetycznych.

**dr inż. Elżbieta Sikora** – ukończyła studia i doktoryzowała się na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej. Jest adiunktem w Katedrze Technologii Organicznej i Procesów Rafineryjnych. Zainteresowania naukowe dr inż. E. Sikory dotyczą technologii organicznej małowadłowej, obejmują zagadnienia związane z pozyskiwaniem, badaniem wadłowości oraz zastosowaniem surowców pochodzenia naturalnego w produktach kosmetycznych i produktach chemii gospodarczej.

**prof. dr hab. inż. Jan Ogonowski** – jest kierownikiem specjalności Chemia i Technologia Kosmetyków oraz kierownikiem Katedry Technologii Organicznej i Procesów Rafineryjnych na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej. Zainteresowania naukowe profesora dotyczą katalizy, technologii chemicznej oraz technologii produktów małowadłowych.

---

**ABSTRACT**

Milk, as colloidal mixture of proteins, lipids and vitamins is applied by known cosmetic producers. In cosmetics, milk occurs as moistening and biologically active agent (i.e. the source of vitamins and proteins), which is able to rebuilt structural proteins of skin. Moreover, milk products, such as lactose, casein or whey are potential cosmetic raw materials.

Whey, which is a waste from dairy industry is a valuable raw material for further processing. Chemically, whey contains lactose, proteins, fats, lactic acid, group B vitamins and minerals, so it can be a natural source of valuable cosmetic components. Apart from biological activity, also other functional properties of whey proteins like binding of water, foams stabilizing and emulsifying properties are worth attention.

The application of whey as the cosmetic raw material from one side affords another way of whey utilization and on the other side it allows to obtain natural cosmetic products.

Keywords: whey, cosmetics

Słowa kluczowe: serwatka, kosmetyki

---

---



## WSTĘP

Mleko, jako kompleks proteinowo-lipidowo-witaminowy jest stosowane przez znane firmy kosmetyczne. W Polsce należą do nich, m.in.: Florina czy Ziaja. W preparatach kosmetycznych stanowi składnik o działaniu nawilżającym oraz biologicznie aktywnym (źródło witamin i protein), odbudowujący białka strukturalne skóry właściwej. Również produkty mleczne, laktoza, kazeina czy powstająca przy produkcji serów serwatka, stanowią potencjalne surowce kosmetyczne.

W ostatnich latach serwatka coraz częściej jest traktowana jako wartościowy surowiec do dalszego przerobu. Poza zastosowaniami żywieniowymi (środek spożywczy i suplement diety), serwatka może znaleźć zastosowanie w preparatach przeznaczonych do pielęgnacji skóry oraz włosów. Ze względu na skład chemiczny może stanowić naturalne źródło cennych składników kosmetycznych (laktozy, białek, lipidów, kwasu mlekowego, witamin z grupy B, minerałów). Dodatkowo oprócz działania biologicznego również funkcjonalne właściwości białek serwatkowych, takie jak wiązanie wody, tworzenie trwałej piany oraz właściwości emulgujące zasługują na uwagę.

Zastosowanie serwatki jako surowca kosmetycznego z jednej strony pozwoliłoby znaleźć jeszcze jedno źródło zagospodarowania serwatki (odpadu przemysłu mleczarskiego), z drugiej zaś uzyskać produkty kosmetyczne zawierające surowce naturalne.

## 1. SKŁAD MLEKA

Mleko jest substancją złożoną, zawierającą około 250 składników [1]. Poszczególne rodzaje mleka różnią się składem (Tab. 1). Mleko owcze w porównaniu z mlekiem krowim zawiera znacznie więcej tłuszczu, białka ogólnego i kazeiny (a więc suchej masy). Pomiędzy poszczególnymi rodzajami mleka występują także nieznaczne różnice w zawartości wapnia [2].

Produkty otrzymywane z mleka to: mleko spożywcze, masło, sery, twarogi, śmietana, napoje mleczne, koncentraty, lody i serwatka [1]. Badania nad otrzymywaniem nowych produktów z mleka oraz odpowiednim zagospodarowaniem produktów ubocznych przemysłu mleczarskiego doprowadziły do opracowania nowych zastosowań. Należą do nich produkty wysokobiałkowe (koncentraty) oraz produkty kosmetyczne. W kosmetyce znajdują zastosowanie głównie białka, ich hydrolizaty i koncentraty. Wchodzą one w skład takich produktów kosmetycznych jak: żele do mycia, szampony, kremy pielęgnacyjne, preparaty do utrwalania fryzur oraz preparaty oczyszczające i myjące [3–5].

Tabela 1. Skład chemiczny mleka krowiego, owczego, koziego [g/100g] [2]  
 Table 1. Chemical composition of the cow's, sheep's and goat's milk [g/100g] [2]

Składniki	Zawartość [% mas]		
	Mleko krowie	Mleko owcze	Mleko kozie
Woda	87,3	80,6	86,6
Sucha masa	12,7	19,4	13,4
Białka:	3,2	5,6	3,9
kazeina	2,5	4,2	2,7
białka serwatkowe	0,6	1,1	0,6
Tłuszcze:	3,8	7,7	4,2
triacylglicerole	3,5	7,4	4,0
fosfolipidy	0,02	0,07	0,04
cholesterol	0,02	0,03	0,03
Laktoza	4,8	3,7	4,08
Sole mineralne	0,7	0,9	0,8
Wapń	0,1–0,13	0,16–0,18	0,1–0,14

## 2. SERWATKA, PRODUKT UBOCZNY W PRZEMYSŁE MLECZARSKIM

Przemysłowa produkcja napojów fermentowanych, masła, serów, twarogów oraz serków homogenizowanych opiera się na stosowaniu czystych kultur bakterii, których zaletą jest utrwalanie biologiczne produktu oraz nadanie mu odpowiednich cech organoleptycznych. Jest to związane z powstawaniem kwasu mlekowego, substancji zapachowych, rozkładem białek i tłuszczu mleka oraz hamowaniem rozwoju niepożądanych drobnoustrojów, co jest warunkiem trwałości i walorów zdrowotnych gotowego produktu. Zakwaszanie polega na dodaniu do mleka spasteryzowanego lub śmietanki czystej kultury bakteryjnej i namnożenia jej w odpowiednich warunkach środowiskowych. W wyniku fermentacji mlekowej powstaje kwas mlekowy obniżający pH mleka co powoduje ścięcie kazeiny i powstanie skrzepu. Mleko tradycyjnie poddaje się skrzepnięciu również za pomocą enzymu podpuszczki. Następnie skrzep kroi się, miesza i odprowadza z niego serwatkę [1, 2]. Podczas produkcji 1 kg sera powstaje około 9 kg serwatki. Ocenia się, że rocznie w Polsce objętość powstającej serwatki wynosi blisko 2 mld dm<sup>3</sup>, z czego 65% stanowi serwatka podpuszczkowa, a 35% kwasowa [6]. Znane są również metody frakcjonowania poszczególnych białek serwatki na drodze filtracji membranowej (diafiltracja, mikrofiltracja, ultrafiltracja, nanofiltracja, odwrócona osmoza) [7–17].

W zależności od metody wytrącania białek z mleka oraz technologii produkcji wytwarzane są trzy typy serwatki [18]:

- serwatka podpuszczkowa (słodka), powstająca w wyniku produkcji serów twardych, półtwardych, miękkich,
- serwatka kwasowa, będąca produktem odpadowym wytwarzanym podczas produkcji twarogów i kazeiny,
- serwatka kwasowo-podpuszczkowa, powstająca przy produkcji serków homogenizowanych.

## 2.1. SKŁAD SERWATKI

Powstająca jako odpad serwatka jest źródłem wielu wysokiej jakości czynnych biologicznie białek, węglowodanów oraz minerałów [19].

Serwatka zawiera ogółem około 6% suchej substancji w tym 0,9% białek, które stanowią około 20% ogólnej ilości peptydów mleka i są mieszaniną trzech składników występujących w większych ilościach, kilku mniejszych frakcji oraz bardzo dużej liczby enzymów [20].

Wybrane białka serwatkowe mleka przedstawia Tabela 2. Około 75% całości białek serwatkowych stanowią albuminy:  $\beta$ -laktoglobulina,  $\alpha$ -laktoalbumina oraz albumina serum krwi. W serwatce jest również wiele białek występujących w małych stężeniach, spełniających różne funkcje biologiczne, przede wszystkim enzymatyczne. Enzymy mleka, których zidentyfikowano kilkadziesiąt, występują zarówno w serwatce jak i we frakcji białek otoczki kuleczek tłuszczowych. Są wśród nich glikoproteiny i lipoproteiny. Duże znaczenie technologiczne mają znajdujące się w serwatce enzymy: alkaliczna fosfataza, peroksydaza (stanowiąca 0,5–1% białek serwatki i działająca przeciwbakteryjnie), lipazy powodujące gorzknienie mleka, proteinaza rozkładająca kazeinę oraz oksydaza tiolowa katalizująca powstawanie wiązań disulfidowych, które mają znaczenie w tworzeniu struktury trzeciorzędowej w białkach [20].

Tabela 2. Białka serwatkowe mleka [20]

Table 2. Whey proteins [20]

Rodzaj białka	Zawartość w serwatce [%]	Udział w całości białek mleka [%]
Albuminy		
Laktoglobulina- $\beta$	0,30	7,0–12,0
Laktoalbumina- $\alpha$	0,11	2,0–5,0
Albumina serum krwi	0,04	0,7–1,3
Globulina		
Immunoglobulina	0,06	1,3–2,7
Proteazy i peptony oraz inne białka mleka	0,10	2,0–6,0

Ważną grupę białek serwatkowych stanowią metaloproteiny (laktoferyny i lakto-transferyny) wykazujące, dzięki zdolności wiązania żelaza, właściwości bakterio-statyczne. Laktotransferyna jest podobna do transferyny krwi. W serwatce mleka wykryto również białko osocza krwi – ceruloplazminę wiążącą miedź. W bardzo małych ilościach występują także kwaśne glikoproteiny zawierające 28–39% sacharydów [19].

Od lat serwatka uznawana jest za źródło wysokiej jakości białek, o rozmaitych właściwościach odżywczych i funkcjach, które powinny być rozważane przez firmy tworzące nowe produkty. Białka serwatki są łatwo przyswajalne przez człowieka, wykazują wpływ na układ odpornościowy organizmu. Zwierzęta poddane diecie zawierającej serwatkę, jako źródło protein były bardziej odporne na raka, wywołanego chemicznie, niż zwierzęta karmione kazeiną lub soją. Odżywcza i funkcjonalna charakterystyka białek serwatki zależy od struktury i biologicznych funkcji tych białek [2]. W Tabeli 3 przedstawiono skład aminokwasowy białek serwatkowych.

Tabela 3. Zawartość aminokwasów w białkach serwatki [g/100g białka][22]  
Table 3. Content of amino acids in whey proteins [g/100g of protein][22]

Aminokwasy	$\alpha$ -Laktoalbumina	$\beta$ -Laktoglobulina	Albumina serum	Immunoglobuliny
Glicyna	3,2	1,4	1,8	5,2
Alanina	2,1	7,0	6,3	4,8
Walina	4,7	6,1	5,9	9,6
Leucyna	11,5	15,5	12,3	9,6
Izoleucyna	6,8	6,9	2,6	3,0
Prolina	1,5	5,1	4,8	10,0
Fenylalanina	4,5	3,5	6,6	3,9
Tyrozyna	5,4	3,7	5,1	6,7
Tryptofan	5,3	2,7	0,58	2,7
Seryna	4,8	4,0	4,2	11,5
Treonina	5,8	5,0	5,8	10,5
Cystyna + cysteina	6,4	3,4	6,5	3,2
Metionina	0,95	3,2	0,81	0,9
Arginina	1,2	2,8	5,9	4,1
Histydyna	2,9	1,6	4,0	2,1
Lizyna	11,5	11,8	12,8	6,8
Kwas asparaginowy	18,7	11,4	10,9	9,4
Kwas glutaminowy	12,9	19,3	16,5	12,3

Białko serwatki mleka krowiego zawiera w przybliżeniu 50%  $\beta$ -laktoglobulin. Wiąże ono wapń i cynk oraz jest częścią sekwencji białek wiążących retinol. W swojej strukturze  $\beta$ -laktoglobulina ma wiele miejsc wiążących minerały, rozpuszczalne w tłuszczach witaminy oraz lipidy. Białko to może tworzyć mikrokapsułki wiążące lipofilowe cząsteczki takie jak witamina E oraz witamina A w produktach niskotłuszczowych [19, 21]. W odróżnieniu od kazeiny nie zawiera fosforu, natomiast zawiera dużo cystyny, cysteiny i lizyny [1, 22]. W wyniku denaturacji cieplnej  $\beta$ -laktoglobuliny, przy silnym ogrzewaniu mleka (np. podczas pasteryzacji), odsłonięte zostają grupy  $-SH$  cysteiny, które obniżają potencjał oksydacyjno-redukcyjny oraz mają zdolność wiązania metali ciężkich [2].

Wśród białek serwatki mleka krowiego  $\alpha$ -laktoalbuminy stanowią ok. 25%. W porównaniu z  $\beta$ -laktoglobuliną,  $\alpha$ -laktoalbuminy są bardziej odporne na denaturację termiczną [19, 22].

Kolejną grupę stanowią immunoglobuliny. Są one złożoną mieszaniną protein o właściwościach zwiększających odporność organizmów. Biorąc pod uwagę masę cząsteczkową i strukturę chemiczną, wyróżnia się trzy grupy [22]:

- immunoglobuliny G (IgG<sub>1</sub> oraz IgG<sub>2</sub>) o masie cząsteczkowej 150–170 tys.
- immunoglobuliny M (IgM) o masie cząsteczkowej 900–1 000 tys.
- immunoglobuliny A (Iga) o masie cząsteczkowej 300–500 tys.

Immunoglobuliny występują w postaci monomerów złożonych z dwóch lek- kich i dwóch ciężkich łańcuchów polipeptydowych połączonych mostkami disulfidowymi, a także w postaci oligomerów. Obok reszt aminokwasowych immunoglobuliny zawierają również 2–12% sacharydów. Największe stężenie immunoglobulin zostało stwierdzone w serwatce pochodzącej z *colostrum*, wytwarzanego w gruczołach sutkowych matek, w ciągu kilku dni od porodu [19, 20, 22].

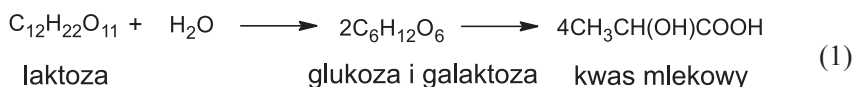
Albumina surowicy krwi wiąże kwasy tłuszczowe oraz inne małe cząsteczki. Zawiera jedną grupę tiolową i osiemnaście mostków disulfidowych. Cząsteczki albuminy asocjują w kwaśnym środowisku [19, 20].

Kolejnymi białkami serwatki są laktoferyna, laktotransferyna oraz laktoperoksydaza. Laktoferyna jest białkiem wiążącym (wiąże 2 mole żelaza na 1 mol białka), zaś laktotransferyna białkiem transportującym żelazo. Polepszają one przyswajanie żelaza, wykazują właściwości antyutleniające, polepszają odporność i mają działanie przeciw nowotworowe. Laktoferyna może być także immunomodulatorem i jest ona głównym niespecyficznym czynnikiem odpornościowym w chorobach gruczołów piersiowych. Istotnym zjawiskiem jest to, że laktoferyna porzucając swoje żelazo, może związać wolne żelazo z przewodu pokarmowego. Zdolność ta zmniejsza niepożądaną mikroflorę promując naturalne bakterie. Laktoferyna, podstawowe białko pochodzące z laktoferyny chroni przed patogenami przewodu pokarmowego. Laktoperoksydaza jest enzymem, który rozkłada nadtlenek wodoru, wykazuje właściwości antyutleniające i antybakteryjne. W połączeniu z innymi substancjami o działaniu ochronnym, białko to może znaleźć zastosowanie jako przeciwybytkowy składnik past do zębów [19, 20].

W słodkiej serwatce obecne są glikoproteiny, m.in. glikomakropeptydy (GMP). Powstają one w wyniku rozpadu  $\kappa$ -kazeiny oraz w wyniku wytrącenia kazeiny przez podpuszczkę. Białka te nie występuje w serwatce kwasowej. Glikoproteiny zawierają od 28–39% sacharydów. Glikomakropeptydy mogą tłumić apetyt poprzez stymulowanie uwalniania hormonu cholecystokininy (CCK). GMP są także immunomodulatorem, ponieważ promują wzrost i różnicowanie limfocytów T [19, 20].

Grupę proteoz i peptonów stanowią białka, które nie ulegają strąceniu przy pH 4,6 i ogrzaniu do temperatury 95–100°C w czasie 30 min. Strącają się z mleka w obecności 12% kwasu trichlorooctowego. Białka te są mieszaniną fosfoglikoprotein o masie cząsteczkowej 4–40 kDa oraz produktów enzymatycznej degradacji białek mleka [19, 20].

Laktoza jest najważniejszym węglowodanem mleka. Wpływa na jego wartość kaloryczną i słodkawy smak. Jej przyswajalność wynosi 98% i jest ona źródłem energii dla pracy serca, wątroby i nerek. Jeden gram laktozy dostarcza organizmowi 16 kJ energii. W jelitach rozkłada się do kwasu mlekowego (Równanie 1) wpływając dodatkowo na skład mikroflory i przeciwdziałając procesom gnilnym [1, 22].

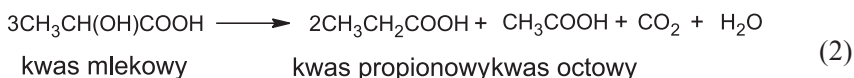


Fermentacja mlekowa ma podstawowe znaczenie w przetwórstwie mleka [1].

Kwas L(+)-mlekowy oraz mleczany są od lat stosowane w szerokiej gamie produktów, między innymi jako naturalne konserwanty, dzięki ich potwierdzonemu działaniu bakteriostatycznemu oraz grzybobójczemu [23].

Mleko pozostawione do naturalnego ukwaszenia w przeciągu 48 godzin osiąga pH 4,5 co warunkuje jego ścinanie się. Kwasowość tak zsiadłego produktu wynosi zwykle 35–45°S.H. (Stożek Soxhleta-Henkla), co odpowiada zawartości kwasu L(+)-mlekowego w zakresie od 0,8–0,9% [1].

Wprowadzenie bakterii propionowych wywołuje beztlenowe rozszczepienie kwasu mlekowego na kwas propionowy, kwas octowy, ditlenek węgla i wodę. Przebieg fermentacji propionowej przedstawia Równanie 2.



Proces ten odgrywa ważną rolę w produkcji twardej serów podpuszczkowych, powodując powstawanie oczek pod wpływem wydzielającego się  $\text{CO}_2$  [1].

Głównymi składnikami mineralnymi w produktach mlecznych są sole: wapnia, fosforu, magnezu, potasu i sodu. Składniki mineralne stanowią materiał budulcowy kości, zębów, skóry i włosów. Odgrywają także podstawową rolę w gospodarce wodno-elektrolitowej i utrzymaniu równowagi kwasowo-zasadowej, wykazując działanie regulujące w organizmie. Oddziałują na zdolność żelowania, rozpuszczalność, denaturację i agregację białek, aktywność enzymów oraz reakcje utleniania i redukcji [2].

Zawartość wapnia w mleku ma istotne znaczenie z ogólnego żywieniowego punktu widzenia, ponieważ jego duża ilość w produktach mlecznych pokrywa z nadwyżką dzienne zapotrzebowanie człowieka na ten pierwiastek. Wapń w mleku charakteryzuje się dużą przyswajalnością oraz wysoką aktywnością fizjologiczną. Pierwiastek ten tworzy różne związki. W około 75% związany jest z kazeiną w postaci di- i triwapniowego fosforanu kazeiny, występuje również jako nie zjonizowane cytryniany, wodorofosforany tj.  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{CaHPO}_4$ , czy wodorowęglany ( $\text{CaHCO}_3$ ). Wapń w formie jonowej zobojętnia wolne grupy karboksylowe białek. Przy obniżeniu pH zwiększa się ilość rozpuszczalnego wapnia i przy  $\text{pH} = 5,2$  występuje on w całości w postaci rozpuszczonej. Dlatego w serwatce kwasowej znajduje się największa ilość wapnia. Dostateczna ilość wapnia w mleku jest ponadto warunkiem tworzenia zwartego skrzepu pod wpływem podpuszczki [1, 22].

Około 30% fosforu występuje w związkach organicznych a 70% w mineralnych. Wszystkie te związki tworzą stan równowagi dynamicznej warunkującej m.in. stabilność białek. Fosfor jest cenny dla organizmu ludzkiego zwłaszcza, gdy występuje w obecności wapnia. Do soli mineralnych stanowiących 40% ogólnej ilości fosforu należą głównie wodorofosforany. Pozostałe 60% fosforu występuje w formie związków mineralnych oraz organicznych nierozpuszczalnych w wodzie. Związki fosforu rozpuszczalne w kwasie trichlorooctowym obejmują głównie związki tego pierwiastka w postaci koloidalnej, rozpuszczalnej oraz w formie estrów. Związki w rozproszeniu koloidalnym to głównie  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , pozostałe występują przeważnie w kompleksowych połączeniach kazeiny. W niewielkich ilościach fosfor występuje w postaci związanej z lipidami [22].

Magnez jest obecny w formie związków rozpuszczalnych jak i w postaci koloidalnej (fosforany, cytryniany). Wzrost zawartości magnezu jonowego przyczynia się do destabilizacji i agregacji miceli kazeinowych podczas ogrzewania mleka. Magnez uczestniczy w transporcie fosforanów i jest aktywatorem niektórych enzymów. Bierze udział w cyklu Krebsa [19, 22].

Potas występuje w formie jonów  $\text{K}^+$ . Dominuje wśród składników mineralnych. Wraz z wapniem i sodem przyczynia się do alkalicznego charakteru popiołu. Kationy potasu odgrywają zasadniczą rolę w regulacji ciśnienia osmotycznego komórek a także aktywacji enzymów uczestniczących w glikolizie i w łańcuchu oddechowym [2, 20].

Sód i chlor występują w mleku jako wolne jony lecz w ścisłym powiązaniu z innymi jonami. Rola chlorku sodowego polega na utrzymywaniu ciśnienia osmotycznego mleka wraz z laktozą na stałym poziomie. Ponadto sód aktywuje niektóre enzymy, np. amylazę [20, 22]. Zawartość witamin w serwatce przedstawia Tabela 4.

Tabela 4. Zawartość witamin w serwatce [mg /100g suchej masy] [24]  
 Table 4. Content of vitamins in whey [mg/100g of a dry substance] [24]

Witaminy	Zawartość [mg/100g]
Retinol	100
Tiamina	4–6
Pirydoksyna	6–10
Ryboflawina	7–30
Pantotnian wapnia	30–70
Biotyna	0,2–0,3
Kobalamina	0,01–0,05
Kwas askorbowy	30–50

Lipidy mleka stanowią mieszaninę estrów glicerolu i kwasów tłuszczowych, fosfolipidów, cerebrozydów, steroli, skwalenów, wolnych kwasów tłuszczowych, karotenoidów i witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E, K). W tłuszczu mlekowym jest ponad 400 kwasów tłuszczowych, z czego w większych ilościach występują kwasy [1, 20, 22]:

- krótkołańcuchowe, lotne z parą wodną: masłowy, kapronowy, kaprylowy, kaprynowy;
- wyższe nasycone: laurynowy, mirystynowy, palmitynowy, stearynowy;
- nienasycone o jednym lub więcej wiązaniach podwójnych: palmitoleinowy, oleinowy, linolowy, linolenowy, arachidonowy.

### 3. ZASTOSOWANIE SERWATKI.

Obecne sposoby zagospodarowania serwatki kwasowej obejmują trzy kierunki:

- w postaci nieprzetworzonej serwatka stosowana jest jako pasze dla zwierząt – 87,5%,
- przetwórstwo serwatki obejmuje od 1 do 3%,
- poprzez ścieki i rozdeszczowanie utylizuje się około 10–12%.

Zagospodarowanie serwatki podpuszczkowej obejmuje:

- przetwórstwo, głównie na proszek serwatkowy, laktozę, koncentraty białkowe (55–66%),
- jako pasze dla zwierząt wykorzystywana jest od 30 do 40%,
- do ścieków i rozdeszczowania trafia 3–6%.

Przy aktualnych tendencjach wzrostu produkcji przetworów mlecznych oraz biorąc pod uwagę ważny problem ochrony środowiska celowe stają się wszelkie



badania na temat możliwości zagospodarowania serwatki jako produktu odpadowego przy produkcji serów [6, 25].

Serwatka i jej składniki są stosowane w wielu gałęziach przemysłu spożywczego nie tylko ze względu na wysoką wartość odżywczą, lecz również doskonałe właściwości funkcjonalne białek serwatkowych. Serwatka ma zastosowanie w przemyśle [26]:

- mleczarskim – zwiększając zawartość suchej masy w jogurtach, nadając efekt spienienia w produktach takich jak lody, desery mleczne, musy,
- mięsnym – w celu poprawy smaku, tekstury, stabilności emulsji, wiązania wody, żelowania,
- cukierniczym, przekąsek – w celu poprawy smaku, barwy, tekstury,
- piekarniczym – do poprawy trwałości pieczywa, ciast oraz poprawy ich tekstury,

oraz przy produkcji:

- koncentratów spożywczych,
- napojów,
- powłok jadalnych – warstwa białek serwatkowych tworzy przezroczyste, elastyczne filmy.

Na koncentraty białek serwatkowych oparte są bazy większości odżywek i preparatów mleko zastępczych dla niemowląt. Skład tych białek jest najbardziej zbliżony do składu białek mleka matki. Stanowią one również doskonały suplement białkowy, z najwyższym efektem anabolicznym, dla sportowców [26, 27].

Jako suplement diety serwatka stanowi źródło wielu aktywnych farmakologicznie substancji, które mogą zapewniać bierną ochronę przeciw infekcjom, stymulować procesy trawienia oraz metabolizmu jak również spełniać rolę czynników wzrostowych dla wielu typów komórek, tkanek i organów. Serwatka dzięki obecności wapnia może być stosowana w takich dolegliwościach jak nadciśnienie, rzucawka, napięcie przedmiesiączkowe. Dzięki obecności białka laktoferyny, wykazującego zdolność wiązania metali może również być stosowana jako antyoksydant, zwłaszcza w obecności innych witamin, będących przeciwutleniaczami. Witamina D oraz wapń przyczyniają się do zmniejszenia ryzyka zachorowania na raka jelit [19].

Wiele zastosowań odnalazły także bakterie kwasu mlekowego występujące w serwatce. Te pro biotyczne bakterie są przedmiotem badań ostatnich lat i stanowią nadzieję nie tylko w powiązaniu z przemysłem mleczarskim ale także z produkcją roślinną, gdzie w pełni realny jest wzrost wartości dietetycznej wielu produktów. Rozpoczęto również prace nad genetycznymi modyfikacjami bakterii w wyniku czego otrzymano, tzw. startery, które mogą trawić cholesterol z mleka w procesie fermentacji. Mogą również wydzielać specyficzne aminokwasy z białek, umożliwiając ich zastosowanie w produktach spożywczych przeznaczonych dla osób z defektami metabolicznymi, np. fenyloketonurią. Rozważa się również możliwość przedłużania trwałości produktów mlecznych poprzez syntezę kwasu benzoowego z kwasu hipurowego w obecności bakterii mlekowych [23].

### 3.1. PRZEMYSŁ FARMACEUTYCZNY

Serwatka poza wartością odżywczą posiada również wiele właściwości funkcjonalnych. Powstają coraz nowsze propozycje jej zastosowań, także poza żywieniowe, w przemyśle farmaceutycznym, papierniczym, w biotechnologii oraz przemyśle kosmetycznym [26, 28].

Oczyszczone preparaty białek serwatkowych laktoferyny, laktoperoksydazy czy immunoglobuliny są stosowane przy produkcji leków a także w diagnostyce i analityce medycznej. Laktoza dzięki słodocy i właściwościom krystalizacji znalazła zastosowanie w farmacji jako wypełniacz tabletek i leków granulowanych [26].

Prowadzone są badania, które mają na celu wprowadzenie do bakterii mlekowych genów bakteriocyn, posiadających funkcje antyrakowe i antypatogenne (żywe szczepionki). Białka serwatkowe wykazują aktywność anty nowotworową w stosunku do kilkunastu rodzajów raka, a ich zwiększone spożycie podczas choroby zapobiega utracie masy ciała [29]. Podczas badań, w których prowadzono fermentację izolowanych białek mleka,  $\alpha$ -laktoalbuminy inhibowały dzielenie się komórek rakowych w kulturze, podczas gdy peptydy z fermentacji kazein nie wykazywały takiej aktywności [23]. Bioaktywne peptydy powstające podczas fermentacji białek serwatkowych posiadają również właściwości terapeutyczne [30]. Białko serwatkowe  $\alpha$ -laktoalbumina, będąca źródłem tryptofanu okazuje się być bezpiecznym i efektywnym suplementem w walce z depresją i stresem. Dzieje się tak dzięki zdolności tego białka do podnoszenia poziomu serotoniny w mózgu. Odkryto również, że spożywanie białek serwatkowych bogatych w cysteinę, zwiększa poziom glutationu u pacjentów z wirusem HIV, co zmniejsza aktywność wirusa. Innym bioaktywnym składnikiem serwatki jest neurotrofina, czyli czynnik wzrostu nerwów [19, 26].

Hydrolizaty białek serwatkowych z mleka koziego są źródłem ACEI (inhibitory konwertazy angiotensyny), czyli grupy leków stosowanych w terapii nadciśnienia tętniczego i niewydolności serca. Badania wykazały aktywność inhibitującą uzyskanych hydrolizatów na poziomie 31–56%. Najwyższą aktywność wykazuje peptyd o sekwencji Trp–Leu–Ala–His–Lys ( $\alpha$ -la f(104–108)) [31].

Ciekawym zastosowaniem białek serwatkowych jest mikrokapsułkowanie bioaktywnych składników co umożliwia ich kontrolowane uwalnianie [32–34].

### 3.2. ZASTOSOWANIE W BIOTECHNOLOGII

Najczęstsze biotechnologiczne zastosowania serwatki to:

- namnażanie biomasy drożdży piekarskich oraz drożdży do produkcji preparatów paszowych [29, 35],
- otrzymywanie kwasów: octowego, mlekowego, glukonowego, propionowego, cytrynowego [24, 36–40],
- produkcja glicerolu [39],

- otrzymywanie witamin z grupy B [24, 41],
- produkcja alkoholu etylowego [18, 38, 42, 43],
- otrzymywanie butanolu oraz mikrobiologicznych polisacharydów (gumy ksantanowej) [41],
- produkcja biogazu [18, 34, 41],
- produkcja SCP (ang. *Single Cell Protein*) [38, 41].

#### 4. ZASTOSOWANIE W PRODUKTACH KOSMETYCZNYCH

Nie tylko ze względu na doskonały skład chemiczny, ale również funkcjonalne właściwości białek serwatkowych, takie jak: wiązanie wody, tworzenie trwałych pian, właściwości emulgujące; serwatka może wchodzić w skład kremów, balsamów, szamponów do włosów, płynów do kąpieli, odżywek do paznokci czy detergentów [25, 26, 28, 30, 44].

##### 4.1. BIAŁKA

Występujące wśród białek serwatkowych  $\alpha$ -laktoalbumina i  $\beta$ -laktoglobulina, immunoglobuliny, proteozy, peptony oraz metaloproteiny znalazły zastosowanie głównie w kremach, jako czynnik nawilżający i przeciwzmarszczkowy [28].

Laktoferyna, metaloproteina, może działać jako antyoksydant, zapobiegając powstawaniu wolnych rodników, zwłaszcza w obecności witamin będących przeciwutleniaczami. Ponadto potwierdzono jej działanie antibakteryjne, nawilżające i odkażające. Jest więc stosowana do produkcji kremów, balsamów, płynów do mycia twarzy oraz produktów do higieny jamy ustnej, tj. płynów do płukania ust, past do zębów, gum do żucia [22, 25, 26, 28–30, 44–47]. Lepsze właściwości antibakteryjne niż laktoferyny posiadają produkty ich enzymatycznej hydrolizy zwane laktoferycynami. W porównaniu z serwatką mleka krowiego większe stężenie czynników antibakteryjnych, tj. lizozymu, immunoglobulin, laktoferyny, występuje w serwatce mleka wielbłądziego [48].

Badania wykazały, że koncentrat białek złożony z  $\alpha$ -laktoalbuminy, albuminy serum krwi i laktoferyny, ma znaczący wpływ na właściwości antyutleniające. Białka te przyczyniają się do produkcji glutationu, który uczestniczy w wiązaniu reaktywnych form tlenu [49]. Koncentrat białek złożony z immunoglobuliny i albuminy serum krwi wykazuje lepsze właściwości antyutleniające w porównaniu z koncentratem zawierającym  $\alpha$ -laktoalbuminy i  $\beta$ -laktoglobuliny. Ponadto silne właściwości przeciwutleniające wykazują proteazy w obecności koncentratu  $\alpha$ -laktoalbuminy i  $\beta$ -laktoglobuliny [50].

Białka ze względu na ich amfifilowy charakter wykazują właściwości powierzchniowo-czynne. Białka serwatki stabilizują emulsje o/w [51, 52]. Na granicy faz woda–powietrze lub woda–olej ulegają rozfałdowaniu (denaturacji), tracą swoją strukturę

trójwymiarową i stabilizują pianę lub emulsję. Zasadnicza różnica między białkami i tradycyjnymi emulgatorami dotyczy rozmiarów cząsteczek, dlatego w przypadku białek osiągnięcie stanu równowagi na granicy faz może trwać znacznie dłużej [53, 54].

Przykładem emulsji stabilizowanej białkiem serwatkowym ( $\beta$ -laktoglobulina) jest emulsja *n*-heksadekanu w wodzie. Chanasattru i in. ocenili wpływ glicerolu i sorbitolu (rozpuszczalników polioliowych) na stabilność emulsji [55]. Przy pH 7  $\beta$ -laktoglobulina tworzy otoczkę wokół kropli oleju zapobiegając flokulacji i bardzo dobrze stabilizuje emulsję. Z badań wynika, że sorbitol podwyższa temperaturę denaturacji białka (o około 10°C) i jego dodatek przed podgrzaniem emulsji zwiększa jej stabilność termiczną. Dodatek glicerolu nieznacznie wpływa na stabilność termiczną emulsji z  $\beta$ -laktoglobulina [55].

Paraskevopoulou i in. w swojej pracy otrzymywali emulsję złożoną z etanolu, oleju słonecznikowego lub tłuszczu mlecznego oraz olejku z żywicy mastyks (z drzewa *Pistacia lentiscus*) stabilizowaną izolatem białek serwatki (ang. *Whey Protein Isolate*, WPI) przy pH w granicach 6–7. W badaniach oceniono wpływ typu emulgatora, temperatury, rodzaju tłuszczu i średniego rozmiaru kropli fazy olejowej na stałą podziału gaz–ciecz olejków eterycznych w emulsji. Zastosowano trzy rodzaje emulgatorów: kazeinian sodu, izolat białek serwatkowych i Tween 40. Najwyższe stężenie aromatów nad emulsją zaobserwowano w przypadku zastosowania kazeinianu sodu, zaś najniższe dla WPI [56]. Obecność białek serwatkowych w kompozycji kosmetyku może wpływać na dłuższe utrzymywanie się jego zapachu.

Białka serwatki stabilizują również podwójne emulsje. Lutz i in. [57] otrzymali emulsję złożoną z: limonenu, PGPR (polirycynolanu poliglicerolu), Palsgaardu 4110, WPI, modyfikowanych pektyn oraz wody. Tego typu emulsja była stabilna przy pH = 6 oraz stosunku WPI do pektyn 4 : 0,5 [57].

Aider, Halleaux i Melnikowa [58] prowadzili badania nad wpływem metody otrzymywania koncentratu białek serwatkowych na ich właściwości. Koncentrat otrzymywano w procesie kriozatężania. Wykazano, że wraz z wydłużaniem procesu kriozatężania następuje modyfikacja właściwości koncentratu serwatki poprzez zmianę stężeń poszczególnych składników (białek, laktozy, substancji mineralnych). Badano właściwości emulgujące kriozatężanej serwatki (stabilność emulsji i zdolność emulgowania) dla emulsji o pH 4,35 co odpowiada punktowi izoelektrycznemu najważniejszej frakcji białek w serwatce ( $\beta$ -laktoglobuliny). Z badań wynika, że wraz ze zwiększaniem ilości cykli zamrażania wzrasta stabilność emulsji (współczynnik stabilności emulsji (ang. *Emulsion Separation Index*, ESI) a maleje zdolność emulgowania (współczynnik zdolności emulgowania – EAI – ang. *Emulsion Activity Index*). Fachin i Giotto w roku 2005 [52] oraz Pearce i Kinsella w roku 1978 [59] opisują, że EAI jest związany ze zdolnością białek do adsorpcji na powierzchni kuleczek tłuszczu oraz ich zdolności do układania się wzdłuż powierzchni międzyfazowej co stabilizuje utworzoną emulsję [52, 58, 59]. EAI zależy również od konformacji białek, która wpływa na hydrofobowość powierzchni, elastyczność bia-

łek, rozpuszczalność, liczbę wiązań disulfidowych, liczbę wiązań wodorowych i innych sił stabilizujących (siły Van der Waalsa). Tosi, Canna i Lucero (2007) wykazali, że w celu określenia zmian w konformacji białek można monitorować stopień denaturacji białka [60]. Voutsinas i in. (1893) udowodnili, że białka globularne o niskim stopniu denaturacji mają lepsze właściwości emulgujące, dzięki odsłonięciu grup hydrofobowych [61].

Białka serwatkowe w postaci miceli znalazły zastosowanie w przemyśle kosmetycznym jako środek peelingujący w kremach, preparatach oczyszczających do twarzy, mydłach, żelach, szamponach, odżywkach do włosów i pastach do zębów. Micele białek serwatkowych złuszczały martwy naskórek nie podrażniając skóry. Są dodatkowo dobrymi stabilizatorami emulsji i pian [62].

Aider, Halleaux, Melnikowa podają, że zdolność tworzenia i stabilizowania piany przez słodką serwatkę wynika ze stosunku form monomerycznych do polimerycznych białka. Monomery mają wpływ na zdolność pienienia, polimery na stabilność piany. Forma polimerowa tworzy elastyczny, międzyfazowy film zwiększający właściwości lepko-sprężyste cieczy, stabilizując pianę. Autorzy zaobserwowali, że wraz ze zwiększaniem liczby cykli zamrażania maleje zdolność pienienia oraz wzrasta stabilność piany. Związane jest to ze wzrostem zawartości minerałów (popiołu) oraz laktozy. Głównie jednak zależy od pH, które w badaniach miało wartość bliską punktowi izoelektrycznemu białek [58].

Zhu, Damodaran (1994), Swaisgood (1986) podają, że w zakresie pH 3,5–5,2  $\beta$ -laktoglobulina istnieje praktycznie w całości w formie oktamerów, przy pH w przedziale 5,2–7 w postaci dimerów a powyżej pH 7 dimery dysocjują do monomerów. Stabilność piany emulsji z WPI jest optymalna dla dwóch wartości pH 4,5–5 (blisko punktu izoelektrycznego białek) i pH 8,5. Z badań przeprowadzonych przez Zhu, Damodaran (1994) na białkach globularnych wynika, że stabilność piany jest zazwyczaj maksymalna w punkcie lub blisko punktu izoelektrycznego [63]. Wyjaśniają to zjawisko Yu, Damodaran (1991). Autorzy podają, że w punkcie izoelektrycznym brak odpychania elektrostatycznego pomiędzy zaadsorbowanymi cząstkami białka promuje siły kohezji (formowanie licznych warstw), co w rezultacie prowadzi do polepszenia lepkościowo-sprężystych i mechanicznych właściwości białkowego filmu [64]. Mita i in. (1998) podają, że wysoka lepkość filmu białkowego zapobiega odparowaniu wody z cienkich warstw emulsji [65].

Z badań Aider, Halleaux, Melnikowa wynika, że nagły spadek stabilności piany po trzecim krioatężaniu można tłumaczyć przede wszystkim zwiększeniem siły jonowej w zatężonym roztworze [58]. Zhu, Damodaran (1994) udowodnili że obecność soli ma znaczący wpływ na właściwości pianotwórcze białek serwatki. Stabilność piany WPI maleje wraz ze wzrostem stężenia chlorku sodu do wartości 0,1 mol/dm<sup>3</sup>. Ze względu na wzrastającą rozpuszczalność białek serwatki w roztworach chlorku sodu, nie mogą one być łatwo adsorbowane na granicy faz woda–powietrze podczas tworzenia piany. W wyniku tego tworzą się duże pęcherze piany, z mniejszą powierzchnią międzyfazową przypadającą na jednostkę objętości piany.

Białka serwatki na powierzchni międzyfazowej mogą ulegać wysalaniu co w rezultacie destabilizuje film i piana szybko opada [63]. Z badań Aider, Halleaux, Melnikowa wynika, że na stabilność piany ma też wpływ obecność laktozy. Najmniejszą stabilność piany uzyskano dla serwatki po trzecim kriozażowaniu. Na tym etapie poziom stężenia laktozy był najwyższy. Potwierdzone jest to badaniami Zhu, Damodaran (1994) [58, 63].

Ze względu na obecność wielu grup funkcyjnych hydrolizaty protein charakteryzuje silne powinowactwo do keratyny włosów. Białka serwatkowe wykazują działanie kondycjonujące na włosy. Nawilżają, zapobiegają nadmiernej utracie wody jak i wygładzają powierzchnię włosa. W efekcie włosy są elastyczne, łatwiej się rozczesują, mają lepszy wygląd. Uzyskany efekt kondycjonujący zależy od masy cząsteczkowej protein. Hydrolizaty protein o większej masie cząsteczkowej, tworzą na powierzchni włosa hydrofilowy film chroniący przed czynnikami zewnętrznymi. Hydrolizaty o mniejszej masie cząsteczkowej penetrują uszkodzoną kutikulę działając odżywczo, regenerująco na włosy. Podobne działania do protein wykazują hydrolizaty polisacharydów [66].

Zastosowane w szamponach do mycia włosów białka łagodzą działanie anionowych detergentów. Z badań Giroux, Britten wynika, że anionowe surfaktanty, takie jak SDS (dodecylosiarczan sodu), SSL (2-stearylomleczan sodu) i DATEM (monodiacetylowinian gliceryny) wiążą się z białkami serwatki, tworząc kompleksy o niższym pH i zwiększonej odporności na działanie wysokiej temperatury (75°C – temperatura denaturacji). Dodatkowo w środowisku kwasowym kompleksy te mają właściwości żelujące. Ich rozpuszczalność zależy od pH oraz od stosunku surfaktant : białko (S/B). Przy pH = 4,8 rozpuszczalność osiąga maksimum dla wartości tego stosunku 80 μmol/g. Zaobserwowano spadek rozpuszczalności przy zmianie pH od 4,8 do 5,4 [67, 68].

Udowodniono, że właściwości żelujące białek zależą od pH, obecności soli, stężenia i rodzaju białek, czasu ogrzewania oraz temperatury [69–71]. Białka serwatkowe mają zdolność tworzenia stabilnych żeli. Mleko badań zdolności żelujące sproszkowanej serwatki oraz koncentratów białek serwatkowych. Najlepiej żelującym preparatem był roztwór koncentratu białek serwatkowych (ang. *Whey Protein Concentrate*, WPC) o stężeniu białek 65,3% oraz zawartości soli mineralnych 5,9% [72]. Żele otrzymywane przy pH w granicach 4–5, charakteryzują się niekorzystną teksturą, są gąbczaste i skłonne do synerazy. Otrzymywane przy pH 7 są gumowate i zwarte [73].

Tekstura żeli białek serwatkowych może być modyfikowana przez dodatek do nich polisacharydów takich jak karagen, guma ksantanowa, pektyna itd. Gustaw, Nastaj badali wpływ stężenia karagenu i rodzaju zastosowanego WPC na właściwości reologiczne żeli białkowo-polisacharydowych. Karagen przyspiesza żelowanie białek serwatkowych. Najtwardsze żele otrzymano dla roztworów WPC 35% oraz 65% (zawartość białka) przy stężeniu 0,1% polisacharydu oraz dla roztworu WPC 80% przy stężeniu karagenu 0,3%. Temperatura żelowania białek serwat-



kowych obniżała się wraz ze wzrostem zawartości białka oraz karagenu w badanych roztworach [73]. Glibowski, Bochyńska przebadali wpływ inuliny na właściwości reologiczne roztworów białek serwatkowych. Autorzy stwierdzili, że składnikami odpowiedzialnymi za wzrost lepkości roztworów inulinowo-serwatkowych są głównie białka serwatkowe. Inulina przy wyższych stężeniach (15%) poprawia właściwości reologiczne, co prawdopodobnie wynika z jej interakcji z białkami serwatkowymi [74]. Mleko podaje, że dodatek gumy ksantanowej i arabskiej do izolatu białek serwatkowych, powoduje zmniejszenie naprężenia żeli. Jest to związane z rozdziałem faz i zwiększoną agregacją białek [75].

Białka serwatki wpływają również na aktywność fibroblastów, które jako komórki tkanki łącznej odpowiadają między innymi za produkcję kolagenu i proteoglikanów [76].

Inne badania dowodzą, że serwatka mleka fermentowanego przez bakterie *Lactobacillus helveticus* wpływa na zwiększenie produkcji filagryny, która ma podstawowe znaczenie dla tworzenia się warstwy rogowej naskórka. Filagryna jest wbudowywana w tzw. otoczkę zrogowaciałą komórek (*cornified cell envelope*) w wyniku aktywności enzymu transglutaminazy. Metabolizm filagryny prowadzi do powstania, tzw. naturalnego czynnika nawilżającego skóry (ang. *Natural Moisturizing Factor*, NMF) [76].

Białka serwatki wykazują właściwości ściągające, które nie zależą od rodzaju białek ale znacząco zmieniają się w zależności od pH [77].

Badania wykazały, że hydrolizaty protein serwatki są hipoalergiczne i dobrze tolerowane nawet przez dzieci posiadające skazę białkową [78, 79], dlatego mogą być bezpiecznie stosowane w kosmetykach.

#### 4.2. KWAS MLEKOWY

Spośród składników serwatki również kwas mlekowy może stanowić potencjalny surowiec kosmetyczny o działaniu konserwującym. Większość kwasów organicznych działa bakteriobójczo na zasadzie obniżania pH. Również kwas L(+)-mlekowy budzi coraz większe zainteresowanie jako składnik produktów higienicznych opartych na środkach powierzchniowo czynnych. Jego mniejsza toksyczność oraz znikoma szkodliwość dla środowiska wodnego przemawia na jego korzyść w porównaniu z tradycyjnymi biocydami. Silne działanie bakteriostatyczne wykazuje roztwór kwasu L(+)-mlekowego o stężeniu minimum 2,5%. Kwas L(+)-mlekowy zakłóca metabolizm mikroorganizmów (bakterii i grzybów). Badania wykazały, że zahamowanie wzrostu czy spowodowanie śmierci bakterii zależy od stopnia zdysocjowania kwasu. Spowodowane jest to faktem, że forma niezdisocjowana charakteryzuje się wyższą lipofilowością, przez co szybciej penetruje przez błonę komórkową do cytoplazmy. Mechanizm działania kwasu L(+)-mlekowego polega również na zakłócaniu procesów produkcji energii w komórce mikroorganizmów. Wytworzenie wokół komórki bakterii środowiska o wysokim stężeniu mleczanu blokuje

ścieżkę uwalniania mleczanu wytworzonego w procesie glikolizy. Takie zakłócenie procesu dostarczania energii prowadzi do śmierci mikroorganizmu. Kwas L(+)-mlekowy wykazuje również działanie synergiczne z takimi substancjami jak etanol, natlenek wodoru oraz środki powierzchniowo czynne [80, 81].

Poza działaniem konserwującym kwas mlekowy obecny w serwatce wykazuje działanie nawilżające i keratolityczne [82].

## 5. PRODUKTY KOSMETYCZNE ZAWIERAJĄCE SERWATKĘ

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania mlekiem przez producentów kosmetyków. Na rynku pojawiają się nowe kosmetyki, w składzie których znajduje się serwatka lub produkty jej przetworzenia. Substancje te najczęściej wchodzi w skład płynów do kąpieli, żeli, mydeł, produktów do pielęgnacji włosów, do pielęgnacji i oczyszczania skóry, kosmetyków do makijażu oraz preparatów do paznokci. Kosmetyki do pielęgnacji włosów z serwatką to głównie: szampony, produkty ułatwiające rozczesywanie i układanie włosów, odżywki, maski, produkty do prostowania i kręcenia włosów, farby trwałe i półtrwałe, produkty do rozjaśniania włosów. Ponadto koncentrat białek serwatkowych stosowany w postaci suplementu diety wyraźnie wpływa na zdrowy wygląd oraz wzrost włosów. Wśród kosmetyków do pielęgnacji skóry znaleźć można balsamy do ciała, *cold*-kremy, mlecza i toniki do oczyszczania skóry, bezwodne preparaty do mycia rąk, dermokosmetyki (preparaty hormonalne, produkty do skóry atopowej, produkty głęboko nawilżające). Serwatka znajduje się również w innych kosmetykach takich jak podkłady pod *make-up*, róże, szminki, cienie do powiek, produkty do golenia i depilacji, preparaty do opalania oraz odżywki do paznokci. Ponieważ serwatka jest produktem naturalnym nie ma obawy przed zastosowaniem jej jako składnika kosmetyków przeznaczonych dla dzieci [3–5, 25, 26, 28, 82–88].

Z badań wynika, że najbardziej optymalnym stężeniem serwatki w produktach kosmetycznych jest jej zawartość od 0,75–3% całkowitej masy kosmetyku. Technologię produkcji kosmetyków na bazie serwatki limituje temperatura denaturacji białek serwatkowych (powyżej 50°C), dlatego większość receptur zaleca dodawanie tego surowca, razem z substancjami zapachowymi, jako ostatni etap formułacji. Serwatka łatwo miesza się z innymi składnikami kosmetyku i może być wprowadzana w postaci proszku lub roztworu. Rozpuszczona wstępnie serwatka pozwala na zastosowanie wyższej temperatury w procesie formułacji [82].

Istnieje kilka opatentowanych receptur, w których składzie znajduje się serwatka oraz białka serwatki [5, 62, 82, 83, 85–87].

Z zastosowania serwatki jako surowca kosmetycznego wynikają następujące korzyści: wygładzenie skóry, zwiększenie stabilności emulsji, stabilności piany, wzrost lepkości, zmniejszenie uczucia tłustej skóry, łagodzenie podrażnionej skóry, poprawa pigmentacji skóry, zwiększenie adhezji do skóry filtrów przeciwsłonecz-



nych oraz pudrów, absorbcja wody i oleju, przyłączanie naturalnych białek do skóry, działanie oczyszczające [62, 82].

Dodatek serwatki w recepturze szamponu do włosów zwiększa efekt sperlania, gęstość szamponu, ułatwia rozczesywanie włosów, polepsza objętość i połysk włosa po umyciu (Tab. 5). Dodatek serwatki w recepturze maski do włosów i odżywki do włosów (Tab. 6–7) wpływa na poprawę właściwości użytkowych produktu (lepkości i efektu sperlania), ponadto zwiększa właściwości kondycjonujące kosmetyków. W recepturze balsamu do ciała (Tabela 8) serwatka, m.in. zmniejsza uczucie tłustości skóry po naniesieniu kosmetyku. Obecność miceli białek serwatki w recepturach lotionu i żelu pod prysznic (Tab. 9–11) powoduje nadanie produktom łagodnych właściwości złuszcających zrogowaciały naskórek [62, 82].

Tabela 5. Receptura szamponu do włosów [82]  
Table 5. Formulation of a hair shampoo [82]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Koncentrat białek serwatki	–	Whey product	2,0
Woda destylowana	–	Distilled Water	48,5
Siarczan laurylosodowy	Texapon-Z	Sodium lauryl sulphate	22,5
Siarczan lauryloamoniowy	ALS, LSA	Amonium lauryl sulphate	22,5
Monostearynian glikolu etylenowego	SLE 2146	Ethylene glycol monostearate	2,0
Monoetanolamidy kwasu mirystynowego	Loramine MY 228	Myristyl monoethanolamide	0,5
Benzoesan sodu, Kwas sorbinowy	Purox S, Kwas sorbowy	Sodium benzoate, Sorbic Acid	0,1
Chlorek sodu	Sodium chloride	Sodium chloride	0,5
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	0,5

Tabela 6. Receptura maski do włosów [82]  
Table 6. Formulation of a hair mask [82]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Koncentrat białek serwatki	–	Whey product	2,0
Woda destylowana	–	Distilled Water	52,2
Olej mineralny	Ondina	Mineral Oil	35
Mikrokrystaliczny wosk	MicroCrystalline Wax	Microcrystalline Wax	5,0
Monostearynian sorbitanu	ARLACEL 60	Sorbitan- Monostearate	2,0
Polioksyetylenomonostearynian sorbitanu	TWEEN 60	Polyoxyethylene 20 Sorbitan Monostearate	3,0
Ester metylowy kwasu <i>p</i> -hydroksybenzoesowego	Methylparaben	Methylparaben	0,1
Chlorek sodu	Sodium chloride	Sodium chloride	0,5
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	0,2

Tabela 7. Receptura odżywki do włosów [82]  
Table 7. Formulation of a hair conditioner [82]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Koncentrat białek serwatki	–	Whey product	2,0
Woda destylowana	–	Distilled Water	89
Chlorek stearyloamoniowy	–	Stearyl Ammonium Chloride	7,5
Alkohol cetylowy	Cetyl Alcohol	Cetyl Alcohol	0,3
Chlorek sodu	Sodium chloride	Sodium chloride	0,8
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	0,3

Tabela 8. Receptura balsamu [82]  
Table 8. Formulation of a lotion [82]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Koncentrat białek serwatki	–	Whey product	2,0
Woda destylowana	–	Distilled Water	66,2
Krzemian glinowo-magnezowy	VEEGUM	Magnesium Aluminum Silicate	2,0
Gliceryna	Glicerol	Glycerin	4,0
Olej mineralny	Ondina	Mineral Oil	8,0
Lanolina	LANTR0L3	Lanolin	7,5
Mirystynian izopropylu	Mirystynian izopropylu	Isopropyl Myristate	2,0
Monostearynian glicerolu	Glycerol Monostearate	Glycerol Monostearate	2,0
Alkohol cetylowy	Cetyl Alcohol	Cetyl Alcohol	0,5
Monostearynian sorbitanu	ARLACEL 60	Sorbitan- Monostearate 1,4	2,0
Polioksyetylenomonostearynian sorbitanu	TWEEN 60	Polyoxyethylene 20 Sorbitan Monostearate	3,0
Ester metylowy kwasu p-hydroksybenzoesowego	Methylparaben	Methylparaben	0,1
Chlorek sodu	Sodium chloride	Sodium chloride	0,5
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	0,2

Tabela 9. Receptura peelingującego żelu pod prysznic [62]  
Table 9. Formulation of a shower gel with scrub [62]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Micelle białek serwatki	–	Whey protein micelles (WPM 20% concentrated)	15–25
Różana woda destylowana	–	Rose Distilled Water	35–40
Sulfobursztynian	SULFOBURSZTYNIAN N-5	Sulfosuccinate	10–20
Alkilosulfonian	AVITONE®A	Alkylsulfonate	10–15
Gliceryna	Glicerol	Glycerin	5–10
Amidopropylbetaina kwasów tłuszczowych oleju kokosowego	Coco-Betaine	Cocamidopropyl Betaine	1–10
Guma ksantanowa	Xanthan gum	Xanthan Gum	0,1–2
Kwas etylenodiaminotetraoctowy	EDTA	Tetrasodium EDTA	0,1–1
Sorbiniian potasu	Potassium sorbate	Potassium sorbate	0,1–1
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	0,5

Tabela 10. Receptura oczyszczającego lotionu [62]

Table 10. Formulation of a cleaning lotion [62]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Micelle białek serwatki	–	Whey protein micelles (WPM 20% concentrated)	55–65
Olejek migdałowy	–	Almond Oil	15–20
Gliceryna	Glicerol	Glycerin	5–10
Alkohol cetylowy	–	Cetyl Alcohol	1–5
Kwas stearynowy		Stearic Acid	1–5
Polioksyetylenomonostearynian sorbitanu	TWEEN 60	Polyoxyethylene 20 Sorbitan Monostearate	1–5
Chlorek hydroksytrimetyloamoniopropylowy	COSMETIC DP2	Hydroxypropyltrimonium chloride	1–5
Mieszanka estrów kwasu <i>p</i> -hydroksybenzoesowego, diazolidynylomocznika, glikolu propylenowego	Paraben-DU	Propylparaben, methylparaben, diazolidinyl urea, propylene glycol	0,1–5
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	1–10

Tabela 11. Receptura oczyszczającego lotionu [62]

Table 11. Formulation of a cleaning lotion [62]

Nazwa polska	Nazwa handlowa	Nazwa INCI	Zawartość [%]
Micelle białek serwatki	–	Whey protein micelles (WPM 20% concentrated)	60–80
Gliceryna	Glicerol	Glycerin	5–10
Olej sojowy	Glycine Soya Oil	Soybean Oil	5–10
Amidopropylbetaina kwasów tłuszczowych oleju kokosowego	Coco-Betaine	Cocamidopropyl Betaine	1–5
Wosk biały	Wosk biały	Cera Alba	1–5
Chlorek hydroksytrimetyloamoniopropylowy	COSMETIC DP2	Hydroxypropyltrimonium chloride	2–8
Alkohol cetarylowy	Cetareth-20	Cetareth-20	1–5
Alkohol cetylowy	–	Cetyl Alcohol	1–5
Mieszanka estrów kwasu <i>p</i> -hydroksybenzoesowego, diazolidynylomocznika, glikolu propylenowego	Paraben-DU	Propylparaben, methylparaben, diazolidinyl urea, propylene glycol	0,1–2
Kompozycja zapachowa	–	Fragrance	0,1–1

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M.E. Jurczak, *Mleko – produkcja, badanie, przerób*, Wyd. SGGW, Warszawa, 1996.
- [2] W. Kędzior, *Owce produkty spożywcze*, PWE, Warszawa, 2005.
- [3] C.A. Pinterski, G. Riccardi, Playtex Products Inc., *US6780825 B2*, 2004.
- [4] C. Dupuis, C. Dubief, L'Oreal, *US5679329*, 1997.
- [5] C. Giddey, G. Bunter, D. Tzanos, Rhone-Electra S.A., *US5053219*, 1991.
- [6] A. Pluta, A. Kratochwil, E. Domańska, *Przeł. Mlecz.*, 2002, **10**, 448.
- [7] A.L. Zydney, *Int. Dairy Journal*, 1998, **8**, 243.
- [8] B. Cancino et al., *Desalination*, 2006, **200**, 557.
- [9] M.A. de la Fuente et al., *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 361.
- [10] A. Rektor, G. Vatai, *Desalination* 2004, **162**, 279.
- [11] M.C. Almécija et al., *Desalination* 2009, **245**, 737.
- [12] B.N. Castro, P.E. Gerla, *J. Food Eng.*, 2005, **69**, 495.
- [13] P. Morin et al., *J. Food Eng.*, 2006, **77**, 521.
- [14] A. Roman et al., *Desalination* 2009, **241**, 288.
- [15] M.C. Almécija et al., *J. Membrane Sci.* 2007, **288**, 28.
- [16] K. Christensen et al., *Desalination* 2006, **200**, 523.
- [17] A. Akbache et al., *J. Membr. Sci.*, 2009, **326**, 435.
- [18] M. Jędrzejowska-Cicińska, K. Kozak, *Przeł. Mlecz.*, 2007, **1**, 16.
- [19] R.D. Rosemary, L. Walzem, *Health enhancing properties of whey proteins and whey fractions*, Applications monograph, nutritional and beverage, USDEC, 1999.
- [20] Z. Sikorski, *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*, WNT, Warszawa, 1996.
- [21] P. Hoser, *Fizjologia organizmów z elementami anatomii człowieka*, WSiP, 1996.
- [22] E. Pijanowski, *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*, T. 1, PWRiL, Warszawa, 1984.
- [23] Z. Libudzisz, P. Walczak, J. Bardowski, *Bakterie fermentacji mlekowej*, Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź, 2004.
- [24] T. Sienkiewicz, C.L. Riedel, *Whey and whey utilization*, Velag Th. Mann, Gelsenkirchen–Buer, Germany, 1990.
- [25] T. Grega, G. Bonczar, J. Domagała, D. Najgebauer, *Medycyna Wet.*, 2004, **60**, 766.
- [26] II Ogólnopolska konferencja doktorantów, Materiały konferencyjne, Kraków 15 marca 2008, 34.
- [27] E. Ha, M.B. Zemel, *J. Nutr. Biochem.*, 2003, **14**, 251.
- [28] J.L. Audic, B. Chaufer, G. Daufin, *Lait*, 2003, **83**, 417.
- [29] W. Bednarski, M. Adamczak, *Przeł. Mlecz.*, 2003, **7**, 265.
- [30] H. Wakabayashi, K. Yamauchi, M. Takase, *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1241.
- [31] S. Didelot et al, *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 976.
- [32] S.J. Lee, M. Rosenberg, *Lebens.-Wiss und Technol.*, 2000, **33**, 80.
- [33] S. Gunasekaran, S. Ko, L. Xiao, *J. Food Eng.*, 2007, **83**, 31.
- [34] J. Gelegenis et al., *Renew. Energ.*, 2007, **32**, 2147.
- [35] A.A. Koutinas et al., *Bioresource Techno.*, 2009, **100**, 3734.
- [36] R. Mukhopadhyay, S. Chatterjee, B. Chatterjee, P. Banerjee, A. Guha, *Int. Dairy J.*, 2004, **15**, 299.
- [37] P.S. Panesar, J.F. Kennedy, D.N. Gandhi, K. Bunko, *Food Chem.*, 2007, **105**, 1.
- [38] A.A. Koutinas et al., *Enzyme Mikrob. Tech.*, 2007, **41**, 576.
- [39] N.A. Mostafa, *Energ. Convers. Manage.*, 2001, **42**, 1133.
- [40] M.R. Kosseva et al., *Int. J. Biol. Macromol.*, 2009, **45**, 437.
- [41] M.I. Gonzalez Siso, *Bioresource Techno.*, 1996, **57**, 1.
- [42] S. Zafar, M. Owais, *Bioch. Eng. J.*, 2005, **27**, 295.
- [43] M.R. Kosseva et al., *Int. J. Biol. Macromol.*, 2009, **45**, 437.

- [44] E. Sikora, D. Kalicka, J. Ogonowski, T. Grega, *Pol. J. Commodity Sci.*, 2007, **3**, 54.
- [45] G. Herbert, *CA 2101622*, 1995.
- [46] A. Madureira et al., *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 1197.
- [47] M.C. Almécija et al., *Desalination* 2006, **200**, 475.
- [48] H. El-Hatmi et al., *Small Ruminant Res.*, 2007, **70**, 267.
- [49] Yang-Ming Tseng et al., *Food Chem. Toxicol.*, 2006, **44**, 574.
- [50] T. Bayram et al., *Talanta*, 2008, **75**, 705.
- [51] M. Cortes-Munoz et al., *Food Hydrocolloid.*, 2009, **23**, 640.
- [52] L. Fachin, W.H. Viotto, *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 325.
- [53] C.E. Stauffer, *Emulgatory*, WNT, Warszawa, 2001.
- [54] I. Sodini et al., *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1464.
- [55] W. Chanasattru et al., *Food Hydrocolloid.*, 2009, **23**, 253.
- [56] A. Paraskevopoulou et al., *Food Hydrocolloid.*, 2009, **23**, 1139.
- [57] R. Lutz et al., *Collod. Surfach. B.*, 2009, **72**, 121.
- [58] M. Aider, D. Halleaux, I. Melnikowa, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, **10**, 334.
- [59] K.N Pearce, J.E. Kinselle, *J. Agric. Food Chem.*, 1978, **26**, 716.
- [60] E. Tosi, L. Canna, H. Lucero, *Food Chem.*, 2007, **100**, 794.
- [61] Voutsinas L., Cheung E., Nakai S., *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 26.
- [62] C.Schmitt, L. Bovetto, *EP1844758A1*, 2007.
- [63] H. Zhu, S. Damodaran, *J. Food Sci.*, 1994, **59**, 554.
- [64] M.A. Yu, S. Damodaran, *J. Agric. Food Chem.*, 1991, **39**, 1555.
- [65] Mita et al., *J. Collodi. Interface Sci.*, 1978, **64**, 143.
- [66] J. Arct, *Wiad. PTK*, 2000, **3**, 10.
- [67] H.J. Giroux, M. Britten, *Food Hydrocolloid.*, 2004, **18**, 685.
- [68] N. Neiryneck, P. Van der Meer, S.B. Gorbe, S. Dierckx, K. Dewettinks, *Food Hydrocolloid.*, 2004, **18**, 949.
- [69] P. Glibowski, *Int. Dairy J.*, 2009, **19**, 443.
- [70] M. Iordache, P. Jelen, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2003, **4**, 367.
- [71] A.J. Vasbinder, C.G. de Kruijff, *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 669.
- [72] S. Mleko, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1**, 25.
- [73] W. Gustaw, M. Nastaj, *Acta Agrophysica*, 2009, **13**, 651.
- [74] P. Glibowski, R. Bochyńska, *Acta Agrophysica*, 2006, **8**, 337.
- [75] S. Mleko, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1**, 34.
- [76] G.W. Smithers, *International Dairy Journal*, 2008, **18**, 695.
- [77] C.A. Lee, Z.M. Vickers, *Int. Dairy J.* 2008, **18**, 1153.
- [78] P.G. Giampietro et al., *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2001, **12**, 83.
- [79] D. Głąbska, D. Guzek, *Przegl. Mlecz.* 2007, **8**, 4.
- [80] R. Nolles, *Wiadomości PTK*, 2006, **9**, 43.
- [81] W. Malinka, *Zarys chemii kosmetycznej*, Wyd. Volumed, Wrocław, 1999.
- [82] L.C. Staples, *EP19810200918*, 1982.
- [83] K. Kitamura et al., *US5306444*, 1994.
- [84] S.R. Pinnel, *US7160560B*, 2007.
- [85] D.F. Collins, T. Mammone, K.D. Marenus, Color Access Inc., *US6203805B1*, 2001.
- [86] L.G. Phillips, S.E. Hawks, Cornell Research Foundation Inc, *US5580491*, 1996.
- [87] L.G. Phillips, S.E. Hawks, Cornell Research Foundation Inc, *US5681505*, 1997.
- [88] L. Shapiro, The effects of whey protein concentrate vs. whey protein isolate on hair [online], [dostęp: 2010-05-31]. Dostępny w Internecie: [http://www.drshapiroshairinstitute.com/clinical-study/shapiro\\_study\\_final\\_2010.pdf](http://www.drshapiroshairinstitute.com/clinical-study/shapiro_study_final_2010.pdf)



**JUBILEUSZE – SYLWETKI UCZONYCH**

**IGNACY ŁUKASIEWICZ  
– GALICYJSKI FARMACEUTA –  
TWÓRCA PRZEMYSŁU NAFTOWEGO  
W 150-CIO LECIE PIERWSZEJ POLSKIEJ KOPALNI  
ROPY NAFTOWEJ W BÓBRCE**

**IGNACY ŁUKASIEWICZ – GALICIAN PHARMACIST –  
THE FOUNDER OF OIL INDUSTRY  
IN 150TH ANNIVERSARY  
OF THE FIRST POLISH OIL WELL AT BÓBRKA**

**Zbigniew Sztuba**

*Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,  
Katedra Chemii Analitycznej  
ul. Szewska 38 50-138 Wrocław  
sztuba@cheman.am.wroc.pl*

---

---







Ignacy Łukasiewicz (1822–1882).  
Źródło: Galeria Wikipedia Commons

Ignacy Łukasiewicz urodził się 8 marca 1822 roku w Zadusznikach w powiecie mieleckim jako najmłodsze z siedmiorga dzieci powstańca kościuszkowskiego Józefa zubożalego szlachcica herbu Łada i jego żony Apolonii ze Świetlików. Już po ukończeniu pięciu klas gimnazjum, jako czternastoletni chłopiec podjął pracę w aptece w Łańcucie. Na wybór zawodu wpłynął zapewne sądowy opiekun (ojciec Ignacego zmarł, gdy miał on 8 lat) aptekarz Edward Hübl z Rzeszowa. W 1840 r. po 4 latach praktyki zdał egzamin tyrocynałny i awansował na pomocnika aptekarskiego.

W czasie pobytu w Łańcucie Łukasiewicz związał się z Konfederacją Powszechną Narodu Polskiego nawołującą do reform demokratycznych i szybkiego powstania przeciw zaborce (kierownikiem łąncuckiej komórki tej organizacji był chemik Aleksander Tarłowski), a – po jej likwidacji – wstąpił do Sprzysiężenia Demokratów Polskich. Policja zarejestrowała go jako „osobę politycznie podejrzaną”. Prawdopodobnie dlatego w 1841 roku przeniósł się do Rzeszowa, gdzie podjął pracę w aptece swojego byłego opiekuna Edwarda Hübla. Była to duża apteka, tzw. „obwodowa”. Nie wiadomo, czy Hübl wiedział o politycznej działalności swego współpracownika, Łukasiewicz kontynuował jednak tę działalność również w Rzeszowie w Centralizacji Towarzystwa Demokratycznego Polskiego za co został aresztowany w 1846 r. Zwolniono go po dwudziestu dwóch miesiącach pobytu w więzieniach (w Rzeszowie, a później we Lwowie) po długim i zagmatwanym śledztwie bez wyroku skazującego. Ostateczną decyzję w jego sprawie podjął Sąd Najwyższy w Wiedniu. Otrzymał nakaz zamieszkania we Lwowie u swojego brata Franciszka (prawnika). W wydarzeniach Wiosny Ludów, które wybuchły w 1848 r. Łukasiewicz nie brał już jednak czynnego udziału. W tym samym roku podjął pracę w aptece Piotra Mikolascha jako pomocnik apteczny.

Dalszy awans zawodowy wymagał ukończenia dwuletniego przyuniwersyteckiego studium farmaceutycznego – najbliższe znajdowało się w Krakowie. Po dwóch latach starań u władz Łukasiewicz otrzymał zgodę na wyjazd do Krakowa. W czasie pobytu w Krakowie powstał jedyny zachowany rękopis jego pracy pt. *Manuscript*. Na dwustu czterdziestu siedmiu stronach spisał w nim alfabetycznie po łacinie lub po niemiecku różne receptury, metody analityczne, przepisy preparatyki farmaceutycznej – stosując nowoczesne i jednolite jednostki wagowe – co nie było wówczas powszechne. W Krakowie zaliczył Łukasiewicz w ciągu roku wszystkie wymagane ćwiczenia, kolokwia i egzaminy w Uniwersytecie za wyjątkiem farmakognozji. Wystąpił z prośbą do ministra oświaty, by zezwolono mu zostać magistrem farmacji

bez zaliczenia tego przedmiotu (miał to zrobić później pod okiem kierownika apteki – Mikolascha). To się nie udało i musiał studiować w Krakowie jeszcze rok. Zaliczył wymagany kurs z farmakognozji studiując dodatkowo chemię nieorganiczną u profesora Emiliana Czyrniańskiego. Uczęszczał też na wykłady geologii profesora Ludwika Zeisznera. Dorabiał w tym czasie analizami wody pitnej, co naraziło go na śledztwo, że chce wytruć Niemców. Odnotowana została cięta odpowiedź Łukasiewicza udzielona śledczemu: „Nie znam takiej trucizny, która by tylko Niemcom szkodziła”.

Z Uniwersytetem Jagiellońskim pożegnał się w 1852 r. i zapisał jeszcze na letni semestr studium farmaceutycznego w Uniwersytecie Wiedeńskim, gdzie skupił się na chemii analitycznej u profesora Radtenbachera. Po przedłożeniu nigdy nie opublikowanej pracy pt. *Barita et Anilinum* i po zdaniu rygorozum farmaceutycznego w wieku 30 lat (30 lipca 1852 roku), uzyskał dyplom magistra farmacji.

Po magisterium wrócił do Lwowa do apteki Mikolascha na stanowisko prowi-zora farmacji. Potem pracował w aptekach w Gorlicach, Jaśle i w Brzostku. W Brzostku była to wreszcie jego własna – powiatowa apteka. Pozwolenie na jej otwarcie otrzymał po wygraniu otwartego konkursu. Wcześniej władze nie zgadzały się – ze względu na polityczną przeszłość – nie tylko na posiadanie przez niego apteki, ale nawet na objęcie posady kasjera miejskiego w Gorlicach. Oprócz pracy w aptekach prowadził w tym czasie ożywioną działalność jako analityk i toksykolog przy badaniu zwłok ludzkich, jako zoolog i botanik lasów gorlickich włączył się aktywnie w zwalczanie epidemii cholery w 1855 r.

Do historii przeszedł jednak Łukasiewicz jako „odkrywca” nafty, twórca lampy naftowej i budowniczy pierwszej na świecie kopalni ropy naftowej w Bóbrce.

Przełom w życiu Łukasiewicza nastąpił jesienią 1852 r. Do apteki Mikolascha zgłosili się dwaj żydzi z Drohobycza: Abraham Schreiner i Lejba Stierm z destylatem ropy naftowej własnej produkcji z prośbą określenia jego gospodarczej przydatności. Schreiner był szynkarzem i miał nadzieję na opracowanie taniego sposobu przemiany destylatu na alkohol. Mikolascha destylat zainteresował jednak tylko w aspekcie farmaceutycznym i dał go do zbadania swoim magistróm: Ignacemu Łukasiewiczowi i Janowi Zehowi, a oni stwierdzili, że mają do czynienia ze sprawdzanym z Włoch specyfikiem *Oleum Petrae Rectificatum* stosowanym do leczenia reumatyzmu i szeregu innych chorób, a także w celach kosmetycznych.

Ropa naftowa znana była oczywiście od tysięcy lat, w Polsce nazywano ją olejem skalnym (Stanisław Staszic w swoim dziele pt. *O ziemiorodztwie gór dawnej Sarmacji* nazywał ją „skałolejem”). Próbowano z niej uzyskiwać oleje do celów oświetleniowych, oraz rozmaite smarowidła do pojazdów kołowych itp. Pierwszej naukowo opisanej w *Journal de Pharmacie* z 1840 r. frakcjonowanej destylacji ropy dokonali w paryskiej Ecole Centrale des Arst et Manufactures Polak Filip Walter i Francuz Josef Pelletier. Ale to osiągnięcie nie przyniosło żadnych wymiernych ekonomicznie korzyści. W latach 50. XIX stulecia niemiecki chemik Liebig – po przeprowadzeniu ekspertyz – zdyskwalifikował ropę naftową jako bezwartościową.

A w 1876 roku Mendelejew pisał ze Stanów Zjednoczonych: „Byłem niezmiernie zdziwiony, gdy się dowiedziałem, że Amerykanie nie rozwiązali jeszcze najprostszycch zagadnień naukowych dotyczących ropy naftowej – ani chemicznych, ani geologicznych”.

Tymczasem w 1852 r. farmaceuci ze Lwowa postanawiają komercyjnie wyko-rzystać produkowany destylat. Zawiażują spółkę Mikolasch-Łukasiewicz-Zeh, która skupuje ropę u okolicznych chłopów (ropa pojawiała się samoczynnie na ich polach i była bardzo tania) i próbują sprzedawać destylat jako tańszy od importowa-nego specyfiku leczniczego. Nie było jednak wielu chętnych na jego kupno i spółka się rozpadła.

Mikolasch się wycofał, ale Łukasiewicz i Zeh zajęli się dalszymi badaniami nad ropą naftową. Na przełomie 1852/53 r. otrzymali metodą frakcjonowanej desty-lacji preparat pozbawiony lekkich frakcji, który po oddzieleniu cięższych frakcji oraz oczyszczeniu stężonym kwasem siarkowym i roztworem sody dał im ciekłą frakcję ropy naftowej (naftę) zwaną pierwotnie „nową kamfina”. O ich wspólnym odkryciu świadczą zgodne późniejsze wypowiedzi – w tym jedyny wywiad udzie-lony przez Łukasiewicza.

Samo odkrycie nafty pozostałoby naukową ciekawostką, gdyby nie Łukasie-wicz. Już bez współpracy z Zehem konstruuje razem z lwowskim blacharzem Ada-mem Bratkowskim w 1853 r. lampę naftową, która znajduje użytkowe zastosowa-nie. Znow pojawia się spółka Mikolasch-Łukasiewicz-Zeh; podpisuje ona umowę na oświetlenie szpitala lwowskiego lampami naftowymi. W tym szpitalu, 31 lipca 1853 r. przeprowadzono po raz pierwszy na świecie w nocy przy świetle lamp nafto-wych skomplikowaną operację chirurgiczną. Łukasiewicz i Zeh uzyskują w urzędzie patentowym w Wiedniu wspólny patent na „oczyszczoną ropę naftową” oraz wyrób świec parafinowych. Wkrótce potem spółka się rozpada. Mikolasch wraca do zawodu farmaceuty, Zeh z pominięciem Łukasiewicza uzyskuje dalsze patenty na wykorzystanie destylatów z ropy: otwiera we Lwowie własny sklep z produktami ropopochodnymi. Po pożarze sklepu, w którym giną jego żona i siostra, nietrafio-nych inwestycjach finansowych zrywa z ropą ostatecznie i też powraca do pierwot-nego zawodu (dorobił się jeszcze w Borysławiu własnej apteki).

Łukasiewicz sam dalej zajmuje się naftą: rozsyła jej próbki po Europie. W Wied-niu narasta ogromne zainteresowanie naftą, profesor Radtenbacher proponuje Łuka-siewiczowi asystenturę – nowym rodzajem oświetlenia zainteresowała się austriacka Kolej Północna. Z Paryża natomiast nie ma żadnej reakcji. Tymczasem Łukasie-wicz doskonali budowę i rozszerza asortyment lamp naftowych – w Gorlicach za jego przyczyną zapłonęła na początku 1854 roku pierwsza na świecie uliczna lampa naftowa.

W tym samym roku zgłasza się do Łukasiewicza ziemianin Tytus Trzciański, który proponuje mu współpracę w wydobyciu i przerobie ropy naftowej. Zawiażuje się spółka naftowa Łukasiewicz-Trzciański, która w lesie bóbrskim rozpoczęła kopa-nie studni naftowych. Kopalnia nazwana zostaje „Wojciech”, a wydobywanie odbywa

się ręcznie. Jest to pierwsza na świecie kopalnia ropy i – prawdopodobnie – pierwsza naftowa spółka świata. Amerykanie za początek swojego przemysłu wydobywczego przyjmują dzień 27 sierpnia 1859 roku, w którym dokonano dwudziestu dwu metrowego odwiertu pod Titusville w Pensylwanii. W 1856 r. spółka buduje pierwszą przemysłową destylarnię w Ulaszowicach. I znów: pierwsza destylarnia ropy w USA powstała w 1861 r. – również w Pensylwanii.

W 1857 r. – po szesnastu miesiącach starań u władz państwowych i kościelnych – Łukasiewicz żeni się ze swoją (o 15 lat młodszą) siostrzenicą.

W 1858 r. na wystawie rolno-przemysłowej w Jaśle wystawił Łukasiewicz: czystą ropę naftową, naftę w dwóch odmianach, olej do maszyn, maź do smarowania, asfalt, gudrynę do wyrobu świec. W 1859 r. Łukasiewicz sprzedaje aptekę w Brzostku i całkowicie poświęca się ropie naftowej. Zawiera nową spółkę z braćmi Apolinarym i Edwardem Zielińskimi. Bracia są wpływowi i majątni, Łukasiewicz zna się na nafcie jak nikt. Powstaje nowa kopalnia ropy wraz z wyposażoną w cztery kotły destylatornią w Kłęczanach.

Ale, gdy okazuje się, że na ropie naftowej można zarobić duże pieniądze i dodatkowo brakuje uregulowań prawnych; zaczynają się konflikty Łukasiewicza ze współnikami i okolicznym chłopstwem. Zdarzają się liczne awarie, a nawet pożary instalacji. Umiera mu jedyne dziecko. Łukasiewicz wraca na krótko do pracy w aptecę, potem chce w ogóle wyjechać z Galicji. Ale znów zjawia się u Łukasiewicza Trzcziński z innym ziemianinem Klobasą. Powstaje (1860) kolejna spółka: Łukasiewicz-Trzcziński-Klobassa, do której Łukasiewicz wnosi doświadczenie i aparaturę ocalałą z pożaru w Ulaszowicach: ziemianie – tereny roponośne i kapitał. Spółka zaczyna wydobyć i przerabiać ropę na wielkoprzemysłową (jak na owe czasy) skalę. W Bóbrce tworzy Łukasiewicz najlepiej zorganizowaną kopalnię ropy w Galicji i szkołę kadr górnictwa naftowego. Zatrudnia teraz fachowców z Niemiec i Siedmiogrodu. Na początku studnie kopano ręcznie, ale gdy natrafiono na twarde podłoże, zastosowano (1862) tzw. „wolno spadający świder” żelazny, następnie ręczne wiercenie udarowe, a w 1868 r. do produkcji wdrożona zostaje pompa o napędzie parowym. W tym też roku w Bóbrce działają już 84 studnie o wydajności 400 tysięcy litrów rocznie. Ciekawostka: w jednym z szybów najpierw natrafiono na wody mineralne o podobnym składzie co w Iwoniczu, co pozwoliło na urządzenie zakładu leczniczego z kąpielami i pijalnią – a po wyczerpaniu się wody studnia okazała się roponośna. W 1870 r. spółka angażuje jako urzędnika technicznego w Bóbrce farmaceutę, byłego powstańca styczniowego Alfreda Jabłońskiego. W 1871 r. Łukasiewicz zostaje jedynym zarządcą spółki; wysyła Jabłońskiego do Stanów Zjednoczonych na studia techniczne i ekonomiczne. Jabłoński wraca z USA przywożąc ze sobą nowoczesny sprzęt techniczny (świdry, hermetycznie gwintowane rury itp.) i zostaje kierownikiem technicznym kopalni. Niestety podczas pobytu w Stanach dzieli się z tamtejszymi nafciarzami stanem wiedzy w temacie wydobywania i przerobu ropy w Galicji. Łukasiewicz nie widzi w tym nic niewłaściwego, ale wiele jego pomysłów zostaje później opatentowanych przez Amerykanów.

Łukasiewicz początkowo sam zajmował się rozprawdaniem swoich wyrobów. Posiadał własne sklepy w Tarnowie, Krakowie i Warszawie – później sprzedawał je już tylko hurtowo. Dziś powiedzielibyśmy, że zajmował się też marketingiem. Swoją działalność związaną z ropą prowadził również w innych miejscowościach Podkarpacia: Chorkówce, Ropiance, Wójtowej, Ropie, Smerecznie, Wilszni. Wchodził w kolejne spółki – Stanisław Brzozowski wymienia nazwiska czternastu wspólników Łukasiewicza z tych czasów. Zajmuje się także destylacją koksu, a nawet produkcją beczek.

Łukasiewicz rozumiał konieczność uporządkowania prawnych aspektów eksploatacji ropy naftowej; przyczynił się do powołania Krajowej Rady Górniczej, w której pracach brał czynny udział. Prowadził zakrojoną na szeroką skalę działalność oświatową i dobroczynną. W 1876 r. został wybrany posłem gmin wiejskich z okręgu Krosno-Dukla-Żmigród do Sejmu Krajowego i pozostał nim aż do śmierci.

Ogólnie szanowany, był obywatelem honorowym Gorlic i Jasła, wielu organizacji społecznych Galicji, odznaczony został papieskim orderem św. Grzegorza i godnością szambelana papieskiego oraz austriackim orderem Żelaznej Korony.

Zmarł wskutek ostrego zapalenia płuc 7 stycznia 1882 r. mając niespełna 60 lat.

Ignacy Łukasiewicz pochłonięty badaniami nad ropą, kłopotami materialnymi i osobistymi nie publikował wyników swoich prac: po rozstaniu z Zehem nie patentował swoich wynalazków. Jego zasługi zaczęli sobie przypisywać inni (Heindl, Dittmar). Jeszcze w 1927 r. „*Neues Wiener Journal*” usiłował podważyć zasługi Łukasiewicza na rzecz Abrahama Schreinerera i drohobycko-borysławskich kupców żydowskich.

Już w miesiąc po śmierci Łukasiewicza pozostawiony przez niego majątek (wraz z myślą techniczną!) przeszedł w obce ręce. Dwukrotnie Krajowe Towarzystwo Naftowe przygotowywało uroczysty zjazd poświęcony Ignacemu Łukasiewiczowi w rocznicę powstania polskiego przemysłu naftowego: w sześćdziesiątą rocznicę przeszkodził temu wybuch pierwszej, a w siedemdziesiątą piątą – drugiej wojny światowej.

---

W artykule wykorzystałem informacje gromadzone w czasie wieloletniej przynależności do Stowarzyszenia Naukowo-Technicznego Inżynierów i Techników Przemysłu Naftowego i Gazowniczego w Polsce.



## FELIETON NAUKOWY



### OKRUCHY XVII. O SALETRZE FILOZOFÓW

**Ignacy Z. Siemion**

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

---





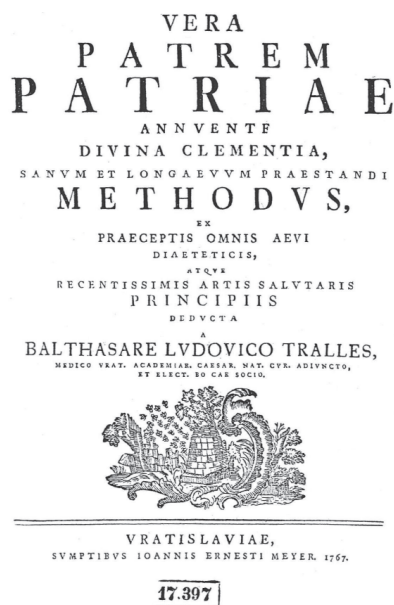
**Ignacy Z. Siemion**, urodzony w 1932 r., ukończył studia chemiczne na Uniwersytecie Moskiewskim w 1955 r. Doktorat nauk technicznych na Politechnice Wrocławskiej – 1964. Doktor habilitowany nauk chemicznych – 1968. Profesor nadzwyczajny – 1974, profesor zwyczajny – 1981. Był kierownikiem Zakładu Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Własne zainteresowania badawcze: chemia i stereochemia peptydów i białek. Wypromował 23 doktorów chemii, z których czworo się habilitowało. Autor 9 książek, 275 prac oryginalnych i ponad 120 artykułów przeglądowych oraz dotyczących

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

Moje aktualne zajęcia – jako emeryt jestem opiekunem utworzonego na Wydziale Gabinetu Historii Chemii – sprawiają, że treści tych notatek niepokojąco przenoszą się w coraz odleglejsze czasy. W ostatnich zaś miesiącach intensywnie pracowałem nad życiem i działalnością wrocławskiego XVIII-wiecznego lekarza, Baltazara Ludwika Trallesa (1708–1797). Był to wzięty lekarz, ale zarazem fizyk, poeta i filozof. W swoich poglądach raczej konserwatywny; wojował zaciekle z francuskimi oświeceniowymi materialistami. Z jego nazwiskiem zetknąłem się jeszcze na studiach. Przeglądałem znalezione w antykwariacie zbiór prac Galvaniego, oraz Volty, o elektryczności zwierząt i napotkałem tam wiadomość, że Tralles z Wrocławia, lekarz nadworny króla polskiego odkrył zjawisko elektryzowania się wody fontann. Kiedy po studiach trafiłem do Wrocławia, szukałem śladów tego uczonego męża. Okazało się, że dla króla Stanisława Augusta napisał objętościowe dzieło, zawierające rady, jak zachować długie i zdrowe życie. Później zdobyłem kserokopię tego dzieła. Leżała u mnie szereg lat. Aż zaistniała nowa sytuacja. Emerytowany profesor historii prawa naszej uczelni, Kazimierz Orzechowski, ojciec kolegi z Wydziału, zaczął współpracować z nami nad tłumaczeniem z łaciny „Filozofii chemii” Jakuba Barnera. Kiedy ukończył to tłumaczenie, powiedział synowi: dajcie mi coś jeszcze. To mi pozwala żyć. Bo trzeba powiedzieć, że cały czas zmagał się z chorobą nowotworową. Wtedy oddałem mu kserokopię dzieła Trallesa. Profesor ukończył tłumaczenie i niedługo potem zmarł.

Dzieło Trallesa nie jest, ściśle rzecz biorąc, książką medyczną. Nie znajdziemy tu ani zestawienia chorób, ani kompendium leków. Jest to w gruncie rzeczy zbiór pogadank o treści nawiązującej do medycyny, lecz wysycanych wszelką erudycją: historyczną, mitologiczną i przyrodniczą. Tralles był doskonale zorientowany w piśmiennictwie przyrodniczym swoich czasów. Dlatego jego książka może budzić zainteresowanie historyków przyrodznawstwa tamtej doby.

Dzieło wyszło drukiem we Wrocławiu, w roku 1767 [1]. Jak już powiedziałem, Tralles uprawiał badania fizyczne. Wiele lat używano areometru jego konstrukcji do mierzenia „mocy” wódek, na którym oparta była polska „miara do wódek” Antoniego Magiera. Fizyką wysycone są liczne stronicy dzieła Trallesa. Moją jednak uwagę przykuł fragment dzieła poświęcony „saletrze powietrza”, czyli „saletrze filozofów”. Pojęcie „saletry powietrza” wprowadził do piśmiennictwa jeszcze alche-



Rysunek 1. Strona tytułowa dzieła B.L. Trallesa

micznego, polski sławny alchemik, Michał Sędziwój. Istnieje nawet tendencja, by jego koncepcję nazywać „teorią saletry powietrznej”. Było to w gruncie rzeczy przeczcucie tlenu i jego roli w zjawiskach życia. Za taką interpretacją sformułowań Sędziwoja latami optował nasz historyk alchemii i nauk tajemnych Roman Bugaj. Muszę się przyznać, że sceptycznie odnosiłem się do takiej interpretacji. Teraz jednak, zwłaszcza po przestudiowaniu napisanej po angielsku, a dostępnej w tłumaczeniu Romana Mierzeckiego książki, wywodzącego się z rodziny polskich emigrantów Zbigniewa Szydły pt „Woda, która nie moczy rąk. Alchemia Michała Sędziwoja” [2], skłaniam się też do przyjęcia tego stanowiska.



Rysunek 2. Michał Sędziwój (1566–1636)

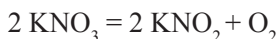
Przystępując do rzeczy muszę krótko zdać sprawę z koncepcji Sędziwoja. Posłużę się tu cytataми z prac naszego alchemika w wersji podanej w książce Z. Szydły. W swoim wczesnym dziełku, wydanym w Pradze, w 1604 roku, noszącym tytuł *Novum lumen chymicum*, lub, w innych wydaniach, *De Lapide Philosophorum*, Sędziwój pisze tak:

„Człowiek, stworzony z ziemi, żyje z powietrza, jest bowiem w powietrzu tajemny pokarm życia, nazywany przez nas rosą nocy, rozrzedzoną wodą dnia, którego niewidoczny, skupiony duch jest lepszy, niż cała ziemia” [3].

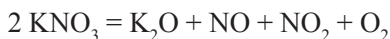
Ów duch powietrza, twierdzi Sędziwój, wraz z deszczem przedostaje się do gleby, i łącząc się ze stałą solą ziemi, tworzy saletrę. W saletrze więc jest zestalony ten żywotny składnik atmosfery. Ten ostat-

ni aspekt swojej teorii zawarł Sędziwój w „Traktacie o siarce” (*Tractatus de Sulphure*). Rozpatruje tam też Sędziwój jeszcze raz własności tego życiodajnego składnika powietrza. „Widzimy – pisze – że wszystkie wody stają się zgniłe i nieczyste, gdy nie ma dość świeżego powietrza. Ogień również wygasa, gdy zabraknie mu powietrza” [4]. Twierdzenie, że saletra zawiera skondensowany „pokarm życia”, zdaje się potwierdzać Sędziwój doświadczalnie. W „Traktacie o soli centralnej” (sól centralna to saletra, nitra) tak bowiem pisze nasz uczone alchemik: „Ta nasza nitra z gleby dziewiczej, choć z wyglądu zdaje się stanowić jedno ciało, jednak zawiera w sobie trzy rozmaite sole i jako taka stanowi kosztowną i filozoficzną sól, w której jest ukryty Duch Świata wcale nie stały, lecz o naturze pośredniej. Po wtóre, zawiera ona w sobie sól amoniacką, albo lotną. Po trzecie tkwi w niej także sól alkaliczna, czyli sól trwała” [5].

To sformułowanie wygląda na opis termicznego rozkładu saletry, która, jak wiadomo, w 336°C rozkłada się z wydzieleniem tlenu:



zaś w wyższych temperaturach z wydzieleniem tlenków azotu:



O tym, że tak się rzeczy mogły mieć, świadczyć może wydarzenie, którego bohaterem był holenderski alchemik Cornelius Drebbel (1572–1632). Drebbel żył i pracował głównie w Anglii, ale przebywał też na dworze wielkiego opiekuna alchemików, cesarza Rudolfa II w Pradze, gdzie w latach 1610–1612 był nawet głównym alchemikiem dworu. I otóż, w 1621 roku Drebbel przeprowadził w Londynie doświadczenie z drewnianą łodzią podwodną. Łódź, napędzana przez dwunastu wiosłarzy, przepłynęła pod wodą z Westminsteru do Greenwich. Drebbel odświeżał w trakcie przeprawy powietrze w łodzi, wypuszczając z pojemnika jakiś tajemniczy czynnik. Wiadomość o tym wydarzeniu zapisał, między innymi, tak wiarygodny człowiek, jak Robert Boyle. Drebbel mógł w swoich wędrówkach zetknąć się z Sędziwojem w Pradze, gdzie Sędziwój wielokrotnie i przez dłuższy czas przebywał. A że Drebbel był świadomy sprawy termicznego rozkładu saletry, sam zaznaczył w swoim „Traktacie o elementach Przyrody” (1608). Zawarł w nim Drebbel taką prawdę: „ciało saletry jest łamane i rozkładane przez moc ognia i zmieniane w istotę powietrza” [6]. Dodajmy tutaj, że w 1630 roku składał Drobbelowi w Londynie wizytę przebywający tam polski polihistor i lekarz, Jan Jonson [7]. Czyżby i jego popędziła tam chęć poznania tajemnicy podwodnej podróży Drebbela?

W pracach z historii chemii panuje ciągle domniemanie, że głoszona przez Sędziwoja koncepcja nie została przez współczesnych i potomnych podjęta. Takiemu domniemaniu przeciwstawił się Roman Bugaj, który wykazał, że szereg XVII-wiecznych alchemików podejmowało te same myśli [8]. Jest to niewątpliwa zasługa naszego badacza. W tym miejscu wypada wreszcie przytoczyć zapowiedziane na wstępie wywody wrocławskiego Trallesa.

„Wiadomo – pisze Tralles – że powietrze składa się z cząsteczek bardzo delikatnych, śliskich, bardzo łatwo w ruch wprowadzanych, łatwo się ze sobą wzajemnie łączących, ale też łatwo się rozdzielających. Podlegają one najróżniejszym zmianom i współcześni Fizycy dowodzą, że swe ciśnienie wywierają we wszystkich kierunkach, że wszystkie mają własności fluidów. Widzi się bowiem w częściach powietrza zawsze w nich obecne jakieś poruszenie i wzajemne napieranie na siebie i nigdy nie ma wśród nich zupełnego spokoju. Tymczasem, gdy powietrze jest łagodne i życzliwe, działa na nas, kiedy w nim żyjemy, łagodnie i uspokajająco. Gdy dopuszczamy je do płuc, i one są uciszzone i spokojne. Niemniej jednak, tak jak nasze życie nie istniałoby bez powietrza, służącego wszelkim życiowym ruchom, tak też, jeśli wolno tak powiedzieć, życie samego powietrza jest utrzymywane dzięki ruchowi jego cząsteczek, bowiem ono swoje dary esencjonalne, a najbardziej unoszenie się go, powoduje, i zdaje się zachowywać jak ciecz i takie wywoływać doznania. Owego ciągłego ruchu cząsteczek powietrza względem siebie w żadnym rozumie-

niu, przez żadne odkrycia mikroskopowe, nie można nazwać wewnętrznym, istnieje bowiem również w powietrzu jakiś ruch postępowy i lokalny, który jest uchwytny dla zmysłów, i to często dostatecznie wyraźnie, a który nazywamy aurą, albo wiatrem (...).

Wszystko to rozważywszy ze wszystkich stron, przechodzę obecnie do szczegółowego objaśnienia zarówno pożytków, jak i szkód powodowanych przez podmuchy wiatrów, wpływających na ludzkie życie i zdrowie. Te wszystkie bowiem ściśle do mnie należą. Stąd się obserwuje, że woda, sama z siebie czysta i przezroczysta, pozostawiona w spokoju, traci swą przyrodzoną dobroć i ulega zanieczyszczeniu. Zatamaj tylko bieg potoków, pozbaw rzeki ich ruchu, spowodowanego przez zaw sze pochyłe dno wód płynących pod własnym ciężarem, spowoduj, aby morza utraciły swe przyływy i odpływy i będziesz miał cały świat zamieniony w wodnistą, wszędzie spływającą, brudną mokrotę. I to porównywalne jest z powietrzem; nawet to najczystsze i najlepsze, jeśli dłużej jest nieruchome i zalega, traci wszystkie godne chwały dary, jakie wcześniej posiadało i zdegenerowane i skorumpowane nie może dłużej służyć podtrzymywaniu życia i zdrowia. Dziwny jest to fenomen, że powietrze, zamknięte i uwięzione w pomieszczeniu, do którego nie ma dostępu powietrza z zewnątrz, stopniowo się psuje i brzydko pachnie, zupełnie nie nadaje się do respiracji i w efekcie staje się zabójcze.

Omówił to sławny Boerhavius, który ustalił, że w powietrzu znajduje się pewna jakość zupełnie szczególna, ciemna, przed nami ukryta, dotychczas jeszcze niewyjaśniona, różna od wszystkich innych znanych cech powietrza, w sumie jednak niezbędna dla życia. Przebywa ona spokojnie w powietrzu i w nim znika, nie wydaje się jednak, by była jedyną elastyczną częścią powietrza. Ciemną dla nas stroną owego zepsucia powietrza, której ono same z siebie nabiera, jest to, że kiedy ono zalega przez długi czas nie odświeżane, w wykopach, w jaskiniach, sztolniach, porzuconych magazynach, w więzieniach i innych miejscach, świece gasi i zabija człowieka. Hallerus zapewnia, że rzecz ta jest najprawdziwsza i dowodzi tego, powołując się na różnych autorów. Z tego powodu, powietrze, znajdujące się w jednym miejscu, nie niepokojone, nieporuszone i uwięzione i dzięki temu zanieczyszczone nie nadaje się do oddychania i jest samo przez się tak zepsute. Derham dochodzi do uczonej konkluzji, że gdyby ogólna masa całego powietrza, ze swymi wyziewami, zalegała świat, który cały kocha i ożywia, zainfekowałaby (świat) szybko działającą trucizną, aż do uduszenia.

Tak więc, powietrze, kiedy spoczywa, z własnej swej winy staje się gorsze, ulega zepsuciu, a jego spoczynek zawsze i wszędzie przynosi szkody. Rzeczywiście, tak i my, kiedy jedno i to samo powietrze wdychamy do płuc i je wydychamy, bez wielkiego trudu pozbawiamy je najlepszych cech. Zatem, przy takim oddychaniu i tamto zanieczyściwszy powietrze, i to deprawujemy i je korumpujemy i na powrót jego używamy. To znaczy, że powietrze wydychane wydobywa się z płuc w znacznej mierze pozbawione swojej naturalnej dobrej części i przy powtórnym wdechu jest stopniowo coraz bardziej pozbawiane swoich dobrych części, tak długo, aż w ogóle



je utraci i zostaną zużyte. Obserwował to już Mayovius, ostatnio zaś, dokładnie, Robert Boyle, najbardziej zaś Stefan Hales.



Rysunek 3. John Mayow (1643–1679)

nale elastyczne, gdy pozbawione jest swoich naturalnych wartości, nie jest dłużej zdolne, by podtrzymać życie. Nurkowie pod dzwonem do nurkowania, zanurzonym w wodzie, mogą przez krótki czas przetrwać. Według obliczeń Halesa, w dzwonie takim powinno się mieścić na sto palców objętości powietrza, aby nurek mógł żyć w ciągu pierwszego, krótkiego czasu. Nieprzeliczona liczba ludzi umiera w swoich łaźniach, wilgotnych, ciemnych i zamkniętych, na których szkodliwość wskazywał Hales, w spichlerzach, na statkach, w kopalniach, w więzieniach, we wszelkich pomieszczeniach podziemnych, a skoro byli chorzy, w takich ciasnych pomieszczeniach, oraz szpitalach, z powodu samego tylko powietrza, zamkniętego w małej przestrzeni i zalegającego, w dodatku równocześnie przemieszanego z nieczystościami wydzielin, wydobywających się przez powierzchnię skóry. Najwyższym zaś jest dobrem, gdy codziennie pomieszczenia wszystkich budynków, szczególnie wilgotnych i ciemnych, szczególnie niezdrowych, do których nie ma dostępu zewnętrzne powietrze, są przewietrzane przez otwarcie drzwi i okien. Podziemne spichlerze, jakich dużo jest na Węgrzech, i są długo zamknięte, zabijają z łatwością swym zepsutym powietrzem tych, którzy nagle zbliżają się do nich i do nich wchodzi, jeżeli tylko nie zostanie im zapewniony dostęp do czystego powietrza. Powodują one nagle śmierci bez widocznych objawów, gdyż wydzielają szkodliwe i wręcz

W niezauważanym tym niszczeniu wartości, a gdzie indziej i mocy powietrza, szukać trzeba powodu, dlaczego w powietrzu nie odnawianym, lecz zalegającym, takie same stworzenia nie mogą przetrwać i naprawdę giną. Doświadczenia z rybami, ptakami, jaskółką, gołębiami, myszami, owcami, przeprowadzone przez najwybitniejszych Mężów, Boyle'a, Muschenbroeka, Halesa, Linneusza, Derhama i Verattiego, opisali Boerhavius, a przede wszystkim Hallerus. Jasne więc, że gdy w takim powietrzu muszą umierać zwierzęta, tak samo muszą i ludzie. Eksperymenty mówią tu same za siebie, a bardzo znane można znaleźć u bardzo sławnego Hallerusa. W rzeczy samej tego samego naucza Hales, gdy z pęcherza wyciągał powietrze, nie bez strachu, że się udusi.

Niemniej jednak, do dobrego oddychania konieczne jest powietrze doskonałe

trujące wyziewy. Żeglarze, zadziwiająco skutecznie myją się, odświeżają się i zachowują zdrowie gdy z ich statków usunie się zalegające zepsute powietrze i zamieni na nowe. Doskonale daje się to osiągnąć przy pomocy wentylatora wymyślonego przez Halesa i Suttona, który zaleca dla ich skuteczności Huxham”.

Tekst Trallesa dość dokładnie referuje stan badań nad „saletrą filozofów” w połowie XVIII wieku. Jak widzimy, od czasów Sędziwoja uczyniono na tym polu niemało. Przede wszystkim język opisu stał się jasny, został pozbawiony alchemicznej zawilgości. Badania nad oddychaniem i składem powietrza podjęli, jak widzimy, najwybitniejsi uczeni epoki, których Tralles troskliwie wylicza. Zwraca uwagę, że byli to z profesji głównie fizycy i fizjologowie. Może dlatego ich poczynania uszły uwadze historyków chemii. Pierwsi podjęli prace nad fizyką atmosfery i w ogóle fizyką gazów i od tej strony dążyli problem. Drugich interesował sam proces oddychania. Tak czy owak, usiłowania obu stron poważnie rozwinęły problem życiodajnego składnika powietrza. Ich obraz, zarysowany przez Trallesa, mógłby posłużyć za rodzaj programu badań dla kogoś, kto zechciałby opracować dzieje odkrycia tlenu.

Do najwybitniejszych, po Sędziwoju badaczy „saletry powietrza” należał John Mayow (1643–1679). Jego znakomita na ten temat rozprawa (Oxford, 1674) jest dostępna od niedawna po polsku, w tłumaczeniu Romana Bugaja [9]. Nie mamy miejsca, by tutaj szczegółowo analizować traktat Anglika. Ograniczymy się do przytoczenia tylko kilku końcowych konkluzji. Wybiegają one częstokroć poza horyzont ówczesnej wiedzy chemicznej. Mayow dowodził, że w powietrzu i w saletrze zawarta jest ta sama substancja, niezbędna do życia i procesów spalania. „Należy zauważyć – pisał – że do powstania każdego spalania niezbędna jest nie tylko palna substancja, ale także cząsteczki ogniowo – powietrzne, co właśnie wyłożyłem. Ostatnie muszą być udzielone albo przez powietrze, albo przez domieszkaną saletrę, z czego widoczne jest dlaczego substancja palna jedynie po zmieszaniu z saletrą spala się w próżni” [10].

Dalej wskazuje Mayow, że substancje spalane zwiększają swój ciężar. „Antymon – wyjaśnia – zwapniany, za pomocą promieni słonecznych w sposób widoczny zwiększa swój ciężar, jak okazuje doświadczenie. Jednak trudno jest pojąć, z czego pochodzi ten przyrost ciężaru, jeżeli nie z połączonych z antymonem saletrowych cząsteczek powietrza” [11], i jeszcze: „Wskutek procesu oddychania zwierzęcia zostają odebrane powietrzu pewne niezbędne dla życia elastyczne cząsteczki, tak, że obecnie nie pozostaje wątpliwości, że w powietrzu istnieje coś, co podczas oddychania przedostaje się do krwi” [12].

I wreszcie: „Z tego wynika, że powietrze w skutek procesu oddychania, w sposób mniej więcej podobny jak przy spalaniu, traci siłę elastyczną, wobec czego jest wysoce prawdopodobne, że w wyniku obu procesów zostają usunięte cząsteczki tego samego rodzaju” [13]. Mayow zdaje też sobie sprawę z tego, że w wyniku spalania powstają produkty o własnościach kwasowych. „Należy zwrócić uwagę – pisze – na to, że kwasy zostają wytworzone zarówno w cieczach, jak i ciałach stałych, w wyniku działania saletrzanego ducha powietrza” [14]. A więc i ten element teorii spalania Lavoisiera został przewidziany przez Mayowa.

W dziele Trallesa mamy zwięzłe podsumowanie sytuacji, jaka w kwestiach oddychania i spalania istniała w połowie XVIII wieku. Jak widzimy, wystąpienie Lavoisiera było już wtedy nieźle przygotowane. Nie zostało to jednak mocniej uwypuklone w pracach historyków chemii. Zaważyło na tym stanie rzeczy powszechne wtedy zachłyśnięcie się chemików teorią flogistonową G.E. Stahla (1660–1734). Ale teoria flogistonowa to jedna tylko strona całego obrazu. Dlaczego jednak zdominowała ona chemię przełomu XVII i XVIII wieków? Wydaje się, że właśnie dlatego, że była w istocie konserwatywna. Prezentowała, choć w nowej szacie, tradycyjny punkt widzenia. Trzy początki Paracelsusa zostały przez K. Bechera (1635–1682) przetworzone w trzy ziemie: terra fluida (rtęć Paracelsusa), terra pinguis (siarka) i terra lapida (ziemia szklista, element topliwości). Z tej terra pinguis Bechera zrodził się flogiston Stahla. A spalanie ciał tradycyjnie rozumiano jako proces ich rozkładu, zniszczenia. Oba te elementy – istnienie specjalnego czynnika palności, który wydziela się przy spalaniu, i samo spalanie, jako proces zniszczenia, rozkładu, znalazły się w teorii flogistonowej Stahla. Ale, powtórzmy, była to tylko jedna strona ówczesnej chemii. Drugą stanowiła pięknie już rozwinięta tradycja idąca od Sędziwoja, tradycja „saletry filozofów”, przygotowująca wystąpienie Lavoisiera. O tym najlepiej świadczy takie sformułowanie z „Elementów chemii” (1732) Boerhaave’go, sławnego holenderskiego lekarza i chemika: „Powietrze posiada pewną utajoną cechę, której nie można wyjaśnić przez żadną z właściwości uprzednio badanych. Niektórzy chemicy twierdzili, że w tej cesze ukryty jest tajny pokarm życia, jak to wyraźnie powiedział Sędziwój. Lecz co to właściwie jest, jak działa, co dokładnie powoduje, jest jeszcze nieznanne. Szczęśliwy człowiek, który to odkryje” [15].

To zdanie najlepiej oddaje stan oczekiwania, jaki w tej kwestii panował w owym czasie. A o Trallesie trzeba dopowiedzieć jeszcze jedno. Był to człowiek głęboko odczytany, Znał on doskonale piśmiennictwo medyczno-przyrodnicze, zwłaszcza zaś piśmiennictwo niemieckie. Tymczasem w jego książce nie uświadczymy nazwiska Stahla, ani też wzmianki o teorii flogistonowej. Takie zaniechanie nie mogło być przypadkowe. Najwidoczniej wrocławski lekarz dystansował się od tej teorii, stojąc na stanowisku „saletry filozofów”.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] *Vera Patem Patriae annuente Divina Clementia sanum et longum praestandi Methodus ex praeceptis omnis aevi Diaeteticis, atque recentissimis artis salutaris Principis deducta a Balthasare Ludowico Tralles*. Vratislavia, sumptibus Joannis Ernesti Meyer, 1767.
- [2] Z. Szydło, *Woda, która nie moczy rąk. Alchemia Michała Sędziwoja*. WNT, Warszawa, 1997.
- [3] Jak wyżej, s. 120.
- [4] J.w., s. 125.
- [5] J.w., s. 130.
- [6] J.w., s. 193.



- [7] H.A.M. Sneliders, *Jan Jonston, His stay and scientific activities in Netherlands, 1629–1634*, Studia i materiały z dziejów nauki polskiej, Ser.B, Z. 28, Warszawa 1978, a. 216.
- [8] R. Bugaj, „*Saletra filozofów*” a odkrycie tlenu, *Kwartalnik Historii Nauki i Techniki*, **3**, 749–780, 1986.
- [9] J. Mayow, *Badania nad saletrą i saletrowym duchem powietrza, Spalanie i oddychanie*, *Analecta*, **3**, 135–180, 1994.
- [10] J.w., s. 144.
- [11] J.w., s.149.
- [12] J.w., s.157.
- [13] J.w., s. 159.
- [14] J.w., s. 152.
- [15] Cytuję za: Z. Szydło, dz. cyt. s. 213.

## NOWE WYDAWNICTWA



Jan F. Rabek, *Współczesna wiedza o polimerach: wybrane zagadnienia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2009. Wyd. 1, str. 586, oprawa miękka lakierowana, cena 62,90 zł.

Niedawno na polskim rynku wydawniczym ukazała się nowa książka autorstwa prof. Jana F. Rabka, zatytułowana *Współczesna wiedza o polimerach: wybrane zagadnienia*. Jest to kolejny, po *Podstawach fizykochemii polimerów*, podręcznik akademicki tego Autora, przeznaczony dla polskiego czytelnika

Treść książki obejmuje 35 rozdziałów, traktujących skrótowo, lecz przejrzysto, różne aspekty wiedzy o polimerach począwszy od budowy, poprzez właściwości fizykochemiczne, mechaniczne oraz inne cechy specyficzne i użytkowe.

Dość szczegółowo potraktowane zostały rozdziały dotyczące mechanizmów i kinetyki otrzymywania związków wielkocząsteczkowych, obejmujące różne typy polimeryzacji i kopolimeryzacji. Autor omawia różne typy polimerów: tradycyjne, stosowane od dziesięcioleci, nowego typu, czy też określane mianem nowoczesnych o nowych dopiero wyłaniających się zastosowaniach.

Materiały polimerowe cechuje ogromna różnorodność: od materiałów elastycznych (np. kauczuk), poprzez polimery rozpuszczalne i topliwe do tworzyw usieciowanych nierozpuszczalnych i nietopliwych. Do grupy ostatniej można zaliczyć beton, który rzadko bywa wymieniany wśród materiałów polimerowych.

Istnieje szereg istotnych cech, które posiadają polimery. Są to między innymi stan szklisty, który zawierać może domeny o strukturze zorganizowanej, oraz rozrzut masy molowej. Ze względu na niejednorodności masy molowej istnieje szereg definicji tzw. średniej masy molowej. Wychodząc od pojęć podstawowych Autor dokładnie przeanalizował wpływ budowy cząsteczkowej monomerów na właściwości materiału polimerowego zarówno w roztworach jak i stanie stałym.

Dokładna analiza sposobów prowadzenia polireakcji przy zastosowaniu mechanizmu polimeryzacji rodnikowej, jonowej i koordynacyjnej jest mocną stroną książki. Autor nie pominął takich procesów żyjącej polimeryzacji rodnikowej jak: ATRP (*Atom Transfer Radical Polymerization*), SFRP (*Stable Free Radical Polymerization*) i RAFT (*Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization*). Opisał też w miarę dokładnie oraz przystępnie metody badania kinetyki polireakcji, w tym przede wszystkim polimeryzacji i kopolimeryzacji.

Niewątpliwą zaletą książki jest jej charakter przeglądowy. Odnosi się wrażenie, że mamy do czynienia z aktualnie wydaną, skróconą encyklopedią wiedzy o polimerach. Dużą uwagę Autor poświęcił polimerom, które stanowiąc mogą o przyszłości rynku materiałów polimerowych, a których rolę opisują prace zaliczane dziś do dyscypliny inżynieria materiałowa. Do nich należą polimery przewodzące i półprzewodzące, fotopolimery, polimery ciekłokrystaliczne, supramolekularne oraz nanocząstki i nanokompozyty.

Dość znaczną część książki zajmuje opis polimerów pochodzenia naturalnego, (biopolimerów). Szczególnie zaś, ich zastosowanie w farmacji i medycynie może przynieść wiele korzyści.

Należy podkreślić, że każdy z 35 rozdziałów książki kończy się wykazem zalecanej literatury uzupełniającej, z zaznaczeniem pozycji zarówno dla czytelnika początkującego jak i zaawansowanego. Autor cytuje wiele prac wykonanych przez polskich autorów w ośrodkach akademickich w Polsce i trzeba uznać, że ma w tej dziedzinie doskonale rozeznanie. Ponadto, w końcowej części omawianego opracowania spotykamy zestaw literatury ogólnej na osiemnastu stronach (drobnym drukiem), literatury przypisanej poszczególnym rozdziałom, ale nie dublującej się z listami publikacji zamieszczonymi po każdym omawianym rozdziale.

Uważny czytelnik pewnie dostrzeże drobne nieścisłości, których uniknięcie w pierwszym wydaniu książki było raczej trudne. Pewnym problemem dla osób z naszego kręgu kulturowego jest fakt, że nie zawsze na podstawie publikacji w czasopiśmie anglojęzycznym, można ocenić płeć autora. Jako przykład podam Catherine Blodgett, asystentkę Langmuira, dzięki której mówimy o monowarstwach Langmuira-Blodgett. W Tab. 33.1 na str. 441, wzór strukturalny asparginy i kwasu asparginowego jest tożsamy, podobnie w przypadku glutaminy i kwasu glutaminowego. Być może, dobrze byłoby dołączyć erratę.

Z całą pewnością można wyrazić Autorowi uznanie za napisanie książki, którą przeznaczył jako podręcznik dla czytelników o różnym stopniu przygotowania merytorycznego. Dla studentów może służyć jako pierwszy podręcznik akademicki do nauki chemii polimerów, zaś dobrze obeznany czytelnik uzyska tu wskazówki i odnośniki do bardziej szczegółowych opracowań.

Sądzę, że książka ta znajdzie w naszym kraju liczne grono czytelników, a nie mniej godny podkreślenia jest fakt, że jej Autor większą część swojego życia zawodowego spędził poza Polską.

*Stanisław Kucharski*

## INFORMACJE

### INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

#### Informacje bieżące

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

*Redakcja „Wiadomości Chemicznych”*

#### CENY PRENUMERATY NA ROK 2010

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

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

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

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

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

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

---

---



**Zapraszamy do deklarowania udziału oraz wystąpień  
w formie wykładów (30 min) lub komunikatów (15 min).**

Zgłoszenia prosimy przysyłać najpóźniej do **30.07.2010**, na adres:

Dr Renata Siedlecka  
Zakład Chemii Organicznej,  
Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska,  
Wyb. Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław,  
e-mail: [renata.siedlecka@pwr.wroc.pl](mailto:renata.siedlecka@pwr.wroc.pl)  
Tel.: (071) 320 32 24  
Fax: (071) 328 40 64

Jednostronicowe (A4) streszczenia wystąpień prosimy nadsyłać w postaci załączników, jako pliki \*.rtf, na adres e-mailowy. Całkowity koszt uczestnictwa, łącznie z noclegami i wyżywieniem, wynosi 500 zł.

Opłaty za uczestnictwo będą przyjmowane na konto Politechniki:  
BZ WBK S.A. 16 O/Wrocław Nr 37 1090 2402 0000 0006 1000 0434  
Na przekazie prosimy dopisać: **Seminarium 419945/Z0305**  
Termin przysyłania streszczeń i wpłat upływa **15.09.2010**.

Szczegółowy program spotkania prześlemy w terminie do **30.09.2010**.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## REGULAMIN DLA AUTORÓW

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Autorzy zobowiązani są do wykonania jednej korekty tekstu.

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

Redakcja  
„Wiadomości Chemicznych”



**DO CZYTELNIKÓW**  
**„WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”**

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

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

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

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

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

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

*Redakcja „Wiadomości Chemiczne”*