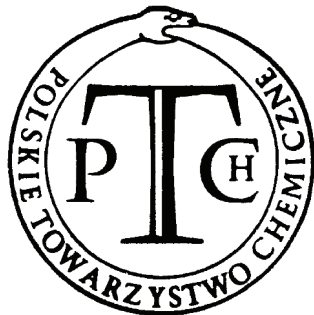
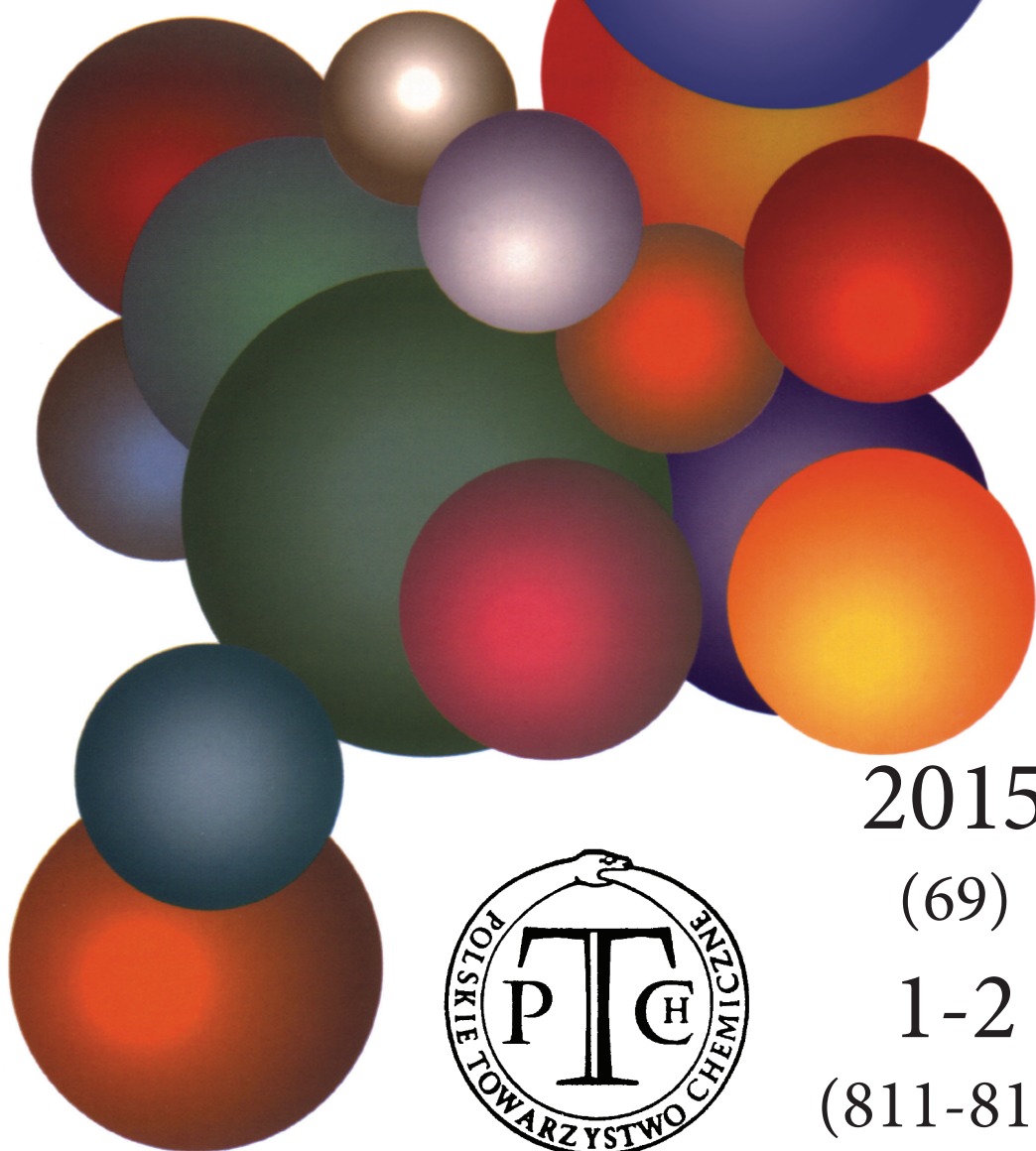


WIADOMOŚCI *chemiczne*



2015

(69)

1-2

(811-812)

CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez MNiSW

RADA REDAKCYJNA

RYSZARD ADAMIAK, IRENA BARANOWSKA, ANDRZEJ BARAŃSKI,
JERZY BŁAŻEJOWSKI, ANATOL KOJŁO, TADEUSZ M. KRYGOWSKI, ANDRZEJ KUTNER,
PIOTR PANETH (PRZEWODNICZĄCY), K. MICHAŁ PIETRUSIEWICZ, DARIUSZ POGOCKI,
MAREK POTRZEBOWSKI, GRZEGORZ SCHROEDER, ANDRZEJ SOKALSKI, ARTUR P. TERZYK

KOMITET REDAKCYJNY

JERZY P. HAWRANEK, ADAM JEZIEFSKI, LUDWIK KOMOROWSKI, MIROSŁAW SOROKA,
MARIA SUSZYŃSKA, SŁAWOMIR SZAFERT, ANDRZEJ TROCHIMCZUK

REDAKTOR NACZELNY

ZDZISŁAW LATAJKA

SEKRETARZ REDAKCJI

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

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

INTERNET

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

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

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2015
pISSN 0043-5104
eISSN 2300-0295

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy: styczeń-luty 2015

Przygotowanie do druku i druk:
Firma Wydawnicza K2, al. Stanów Zjednoczonych 51, 04-026 Warszawa
tel. 22 517 78 12, fax 22 517 78 11, e-mail: k2@druk-k2.pl

**WSPOMNIENIE O PROFESORZE
ANDRZEJU TRAMERZE (1930–2014)**

**IN MEMORY OF PROFESSOR ANDRZEJ TRAMER
(1930–2014)**

Irena Deperasińska

Institut Fizyki PAN
Al. Lotników 32/46, 02-668 Warszawa
e-mail: deper@ifpan.edu.pl

Abstract
Streszczenie
1. Polska
2. Francja
3. Polska – Francja
Piśmiennictwo cytowane

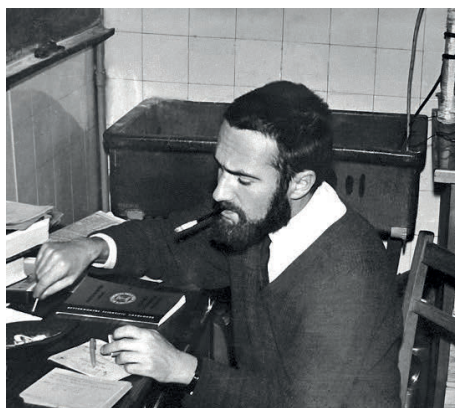
ABSTRACT

On November 19, 2014 in Wrocław died Professor Andrzej Tramer, physical chemist. He was involved in molecular spectroscopy and photophysics, devoting particular attention to deactivation pathways of electronic excited states of molecules. He worked in Poland and France. Here are a few words about his contribution to the development of science and the traces left in our memory.

STRESZCZENIE

W dniu 19 listopada 2014 r. we Wrocławiu zmarł profesor Andrzej Tramer, fizykochemik. Zajmował się spektroskopią i fotofizyką molekularną, szczególnie dużo uwagi poświęcając ścieżkom dezaktywacji elektronowo wzbudzonych stanów molekularnych. Pracował w Polsce i we Francji. Poniżej kilka słów o jego wkładzie w rozwój nauki oraz o śladach, jakie pozostawił w naszej pamięci.

1. POLSKA



Fot. 1. Docent Andrzej Tramer w swojej pracowni na Hożej 69 w latach sześćdziesiątych XX w. „Jedność miejsca i akcji” – biurko, tablica, stanowiska pomiarowe, zlew, wszystko w zasięgu ręki. I jeszcze papieros w ustach – w tych czasach palono je powszechnie

Photo 1. Associate Professor Andrzej Tramer in his lab at Hoza 69 in the sixties the twentieth century. „The unity of place and action” – a desk, table, measuring points, sink, all at your fingertips. In addition, the cigarette in his mouth - at that time smoking was common

Niewielki zaułek na końcu długiego korytarza w świątyni fizyki, jak żartobliwie fizycy nazywali stylowy budynek przy ulicy Hożej 69 w Warszawie. To tutaj w latach 60. ubiegłego wieku młody, dobrze zapowiadający się docent Andrzej Tramer (Fot. 1) zorganizował zespół spektroskopii molekularnej. Był wtedy autorem kilkunastu prac, poświęconych widmom oscylacyjnym niewielkich układów molekularnych, a wśród nich kompleksów tiocyjanianow [1]. Jak się później okazało, wybór tych związków był krokiem znacznie wybiegającym w przyszłość. Praca [1] zaczęła być cytowana dopiero po upływie dekady od daty jej ukazania się, ale od tego momentu osiągnęła bardzo dużą liczbę cytowań.

Badania prowadzone przez zespół Tramera koncentrowały się wokół przejawów słabych oddziaływań międzymolekularnych w widmach oscylacyjnych i elektronowo-oscylicyjnych układów molekularnych. Rzeczowym śladem po tych badaniach są artykuły, takie jak ten donoszący o pierwszej w świecie obserwacji tworzenia kompleksów charge-transfer w fazie gazowej [2] (na przykładzie cyjanku

karbonylu w oddziaływaniach z szeregiem donorów elektronu), czy też propozycja modelu charge-transfer wiązania wodorowego [3].

Mniej uchwytnym śladem, ale dobrze zachowanym w naszej pamięci była codzienna nauka rzemiosła u Tramera. Był człowiekiem o dużej wiedzy, błyskotliwym umyśle, ceniącym dyscyplinę w myśleniu, dbającym o logikę i jasność wypowiedzi, a jednocześnie bezpośrednim, przyjaznym, z poczuciem humoru. Członkowie jego ówczesnego zespołu dobrze pamiętają jedyne w swoim rodzaju poranne spotkania w ... kawiarni „Uśmiech”, mające charakter ni to seminarium, ni to kółka samokształceniowego, gdzie przy kawie i w swobodnej atmosferze omawiano problemy w bieżącej pracy, a także wspólnie przerabiano wybrane podręczniki. Pamiętają też krótką, zabawną skalę ocen, którą posługiwał się Tramer – „chłam, niezła robota i porządna robota”. I niech nikogo nie dziwi, że w tym wspomnieniu najczęściej brakuje tytułowania – nie cenił sobie tego, istniał jako Tramer.

Warto dodać, że w tych czasach zaczęły swoje długie życie jeszcze inne seminaria, przybliżające osiągnięcia spektroskopii molekularnej na świecie. Było to wspólne dzieło trójki profesorów Z.R. Grabowskiego (IChF PAN), K.L. Wierzchowskiego (IBB PAN) i A. Tramera (IF PAN). Te seminaria odegrały ogromną rolę w ożywieniu życia naukowego i integracji ludzi z trzech ośrodków warszawskich, do których z czasem dołączyli ludzie spoza Warszawy, a same seminaria przetrwały aż pół wieku.

Potrzeba wolności i niezależności, bardzo silne u Tramera, w zderzeniu z tym, co w naszej historii mieści się pod hasłem „wydarzenia 1968 roku” spowodowały, że wybrał on status bezpieczeństwa i wyjechał z Polski. Osiedł we Francji, gdzie podjął pracę w laboratorium fizyki molekularnej w Orsay, z którym związany był już do końca.

2. FRANCJA

Lata pracy we Francji, gdzie przecież zaczynał życie od nowa, przyniosły Tramerowi sukcesy i uznanie w wielu ośrodkach w Europie i na świecie. Zajmował się „dyssypacją energii w układach molekularnych” – tak zatytułował świetną książkę [4] napisaną wraz z dwojgiem bliskich współpracowników.

O zdobyciu autorytetu w kręgach naukowych decydowały kolejno ukazujące się artykuły, wskazujące na podjęcie metodycznych badań nad relaksacją energii w układach molekularnych. W budowie planu badań z pewnością istotny był fakt, że będąc bardzo dobrym eksperymentatorem blisko współpracował z teoretykami [5]. Nie przypadkiem najczęściej cytowaną jego pracą [6] jest swoisty słownik – zestawienie języka kinetyki chemicznej, używanego przez doświadczalników z językiem kwantowej teorii przejść bezpromienistych.

Teoria przejść bezpromienistych jest gęsta od różnych przypadków granicznych, często krzyżujących się – mała i duża cząsteczka, słabe i silne sprzężenie, cząsteczka izolowana i w kąpielii cieplnej, granica statystyczna. Swój długi marsz

rozpoczął Tramer od studiów nad widmami emisji i jej zaników w przypadku małej, izolowanej (tzn. w warunkach bez zderzeń przez odpowiednio długi czas) cząsteczki glioksalu [7–10]. Kilka lat eksperymentów, w trakcie których osiągnięto taką precyzję, że udało się zmierzyć czasy życia niektórych podpoziomów rotacyjnych we wzbudzonym stanie singletowym, przyniosły dane o sile sprzężenia singlet-tryplet, a nawet o stałych struktury nadsubtelnej trypletu [10].

Do grupy swoich „laboratoryjnych” cząsteczek wybrał Tramer także pirazynę [11, 12] ze względu na charakter $n\pi^*$ jej najniższej wzbudzonego stanu singletowego [11, 12], a także perylen [13, 14], jako reprezentanta tzw. przypadku pośredniego w teorii przejść bezpromienistych.

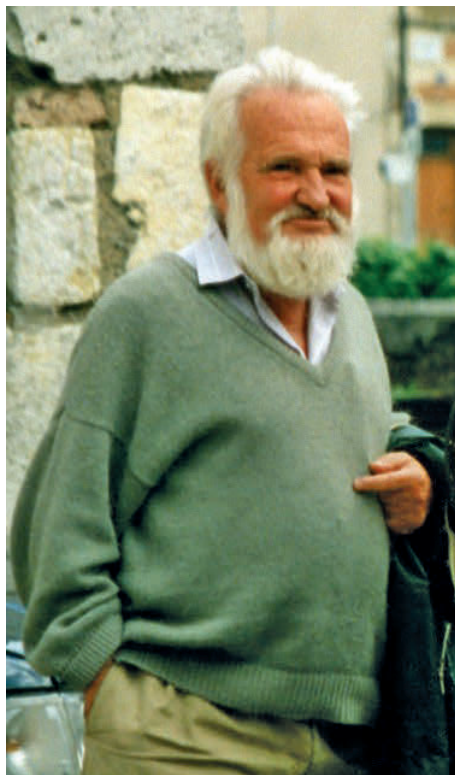
O procesach dezaktywacji biegnących w cząsteczkach izolowanych decydują mechanizmy sprzęgające pierwotnie wzbudzony stan izolowanej cząsteczki z innymi jej stanami, pełniącymi rolę akceptorów energii. Jednak większość procesów w otaczającym świecie odbywa się w fazie skondensowanej, gdzie w wyniku oddziaływania między cząsteczką a jej otoczeniem zachodzi wymiana energii, pojawiają się nowe ścieżki dezaktywacji. Zespół Tramera publikował prace i na ten temat, a mianowicie o kolizyjnie indukowanym procesie intersystem crossing w tlenku węgla [15, 16], o konwersji energii elektronowej na oscylacyjną w tlenku azotu spułapkowanym w matrycy ksenonu, [17], o drogach relaksacji wzbudzonych atomów rtęci w matrycach gazów szlachetnych [18, 19], o fotofizyce metali I, II i III grupy tworzących z gazami szlachetnymi kompleksy i klastery [20] i o wpływie mikro otoczeń na drogi promienistej i bezpromienistej relaksacji naftalenu w matrycach niskotemperaturowych [21].

W zespole Tramera pracowano też intensywnie nad procesami przeniesienia energii, ładunku i dezaktywacji zachodzącymi w różnego typu kompleksach 1:1, takich jak kompleksy Van der Waalsa, charge transfer, exciplexy, excimery, z wiązaniem wodorowym [22–26].

Jedna z ostatnich prac Tramera [27] zapowiadała wyjście poza krąg kompleksów 1:1, a mianowicie dotyczyła spektroskopii i dynamiki najniższego stanu wzbudzonego w klasternych antracenu z dużą liczbą cząsteczek (aż do $n = 5$). We wszystkich klasternych wykryto obecność emisji excimerowej. Powstało więc pytanie o niezidentyfikowane kanały relaksacji w tych bardzo już złożonych układach. Na razie bez odpowiedzi.

3. POLSKA – FRANCJA

Wyjazd Tramera z Polski nie przerwał jego kontaktów z przyjaciółmi i z Polską. Dom Tramerów we Francji był zawsze otwarty dla znajomych i „znajomych znajomych” zza żelaznej kurtyny. Po pewnym czasie udało się także powrócić do kontaktów naukowych [25, 26, 28–30], a w końcu zdecydował się przyjeżdżać do Polski.



Fot. 2. Profesor A.Tramer we Francji w roku 2005 (foto – K. Bukowczyk)
Photo 2. Professor A.Tramer in France in 2005 (photo – K. Bukowczyk)

W ostatnich latach życia Tramer z przyjaciółmi opublikował artykuł na zaskakujący temat - rozwoju i upadku alchemii [31]. Ta mała, historyczno-filozoficzna rozprawa (używając języka Tramera – porządna robota: dużo faktów, ładnie ilustrowana) jest refleksją na temat współzależności między istnieniem jakiejś dyscypliny a klimatem intelektualnym czasów w jakich rozwija się bądź umiera.

Był wybitnym naukowcem i mądrym człowiekiem

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Tramer, J. Chim. Phys. Phys.-Chim. Biol, 1962, **59**, 232.
- [2] J. Prochorow, A. Tramer, J. Chem. Phys, 1966, **44**, 4545.
- [3] K. Szczepaniak, A. Tramer, J. Phys. Chem., 1967, **71**, 3035.
- [4] A. Tramer, Ch. Jungen, F. Lahmani, *Energy dissipation in molecular systems*, Springer, Berlin, 2005.
- [5] A. Tramer, R. Voltz, [w:] *Excited States*, vol.III, E.C. Lim (Red.), Academic Press, 1979, str. 281.
- [6] F. Lahmani, A. Tramer, C. Tric, J. Chem. Phys., 1974, **60**, 4431.
- [7] A. Frad, A. Tramer, Chem. Phys. Lett., 1973, **23**, 297.
- [8] B. Soep, A. Tramer, Chem. Phys. Lett., 1979, **64**, 465.

- [9] C. Michel, A. Tramer, *Chem. Phys.*, 1979, **42**, 315
- [10] M. Lombardi, R. Jost, C. Michel, A. Tramer, *Chem. Phys.*, 1981, **57**, 341.
- [11] F. Lahmani, A. Frad, A. Tramer, *Chem. Phys. Lett.*, 1972, **14**, 337.
- [12] A. Frad, F. Lahmani, A. Tramer, C. Tric, *J. Chem. Phys.*, 1974, **60**, 4419
- [13] C. Bouzou, C. Jouvét, J.B. Leblond, Ph. Millie, A. Tramer, *Chem. Phys. Lett.*, 1983, **97**, 161.
- [14] B. Fourmann, C. Jouvét, A. Tramer, J.M. Le Bars, Ph. Millie, *Chem. Phys.* 1985, **92**, 25
- [15] D. Grimbert, M. Lavollée, A. Nitzan, A. Tramer, *Chem. Phys. Lett.*, 1978, **57**, 45.
- [16] A. Tramer, A. Nitzan, *Adv. Chem. Phys.*, 1981, **47**, 337.
- [17] F. Legay, N. Legay-Sommaire, A. Tramer, M. Chergui, N. Schwentner, *J. Phys. Chem.*, 1988, **92**, 261.
- [18] C. Crépin, F. Legay, N. Legay-Sommaire, A. Tramer, *Chem. Phys.*, 1987, **111**, 183.
- [19] C. Crépin, A. Tramer, *J. Chem. Phys.*, 1992, **97**, 4772.
- [20] C. Crepin-Gilbert, A. Tramer, *Int. Rev. Phys. Chem.*, 1999, **18**, 485.
- [21] C. Crepin, A. Tramer, *Chem. Phys.*, 2001, **272**, 227.
- [22] M. Castella, A. Tramer, F. PiuZZi, *Chem. Phys. Lett.*, 1986, **129**, 105.
- [23] A. Amirav, A.M. Castella, F. PiuZZi, A. Tramer, *J. Phys. Chem.*, 1988, **92**, 5500.
- [24] M. Castella, P. Millie, F. PiuZZi, J. Caillet, J. Langlet, P. Claverie, A. Tramer, *J. Phys. Chem.*, 1989, **93**, 3941, 3949.
- [25] M. Castella, J. Prochorow, A. Tramer, *J. Chem. Phys.*, 1984, **81**, 2511.
- [26] J. Prochorow, M. Castella, A. Tramer, *J. Lumnesc.*, 1984, **31/2**, 603.
- [27] F. PiuZZi, I. Dimicoli, M. Mons, P. Millié, V. Brenner, Q. Zhao, B. Soep, A. Tramer, *Chem. Phys.*, 2002, **275**, 123.
- [28] I. Deperasińska, J.A. Beswick, A. Tramer, *J. Chem. Phys.*, 1979, **71**, 2477.
- [29] M. Broquier, H. Dubost, R. Kołos, J. Lefevre, A. Tramer, J.M. Berset, J.M. Ortega, A. Peremans, *Opt. Commun.*, 1995, **118**, 255.
- [30] H. Ratajczak, J. Baran, J. Barycki, S. Debrus, M. May, A. Pietraszko, H.M. Ratajczak, A. Tramer, J. Venturini, *J. Mol. Struct.*, 2000, **555**, 149.
- [31] A. Tramer, R. Voltz, F. Lahmani, J. Szczepińska-Tramer, *Acta Phys. Polon. A*, 2007, **112**, S5.

Praca wpłynęła do Redakcji 28 grudnia 2014

**PEPTYDY PENETRUJĄCE
– RODZAJE I MECHANIZMY PRZENIKANIA
PRZEZ BŁONY KOMÓRKOWE**

**CELL-PENETRATING PEPTIDES
– TYPES AND MECHANISMS OF PENETRATION**

**Marcin T. Kawczyński^{1*}, Joanna Kreczko-Kurzawa²,
Zbigniew Maćkiewicz²**

¹ *Katedra Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej
ul. Narutowicza 11/12, 80-223 Gdańsk
e-mail: marcin.kawczynski@gmail.com

² *Pracownia Chemii Makromolekuł Biologicznych,
Katedra Biotechnologii Molekularnej, Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego,
ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Rodziny peptydów penetrujących
 - 1.1. Oligokationowe cpp
 - 1.2. Amfipatyczne cpp
 - 1.3. Cpp bogate w prolinę
 - 1.4. Aktywowalne peptydy penetrujące (acpp)
 - 1.5. Hydrofobowe cpp
2. Mechanizmy penetracji błon biologicznych przez cpp
 - 2.1. Endocytoza
 - 2.2. Odwrócona micela
 - 2.3. Przenikanie adaptacyjne
 - 2.4. Mechanizm dywanowy
 - 2.5. Przenikanie przypominające elektroporację
 - 2.6. Wejście na granicy integralnych białek transbłonowych
3. Zastosowanie koniugatów substancji czynnych i peptydów penetrujących w roli proleków

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr Marcin Kawczyński urodził się w 1987 roku. W 2006 roku rozpoczął studia na kierunku Chemia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Tytuł licencjata uzyskał w 2009 roku, a magistra w 2011. W tym samym roku rozpoczął studia doktoranckie w Katedrze Chemii Organicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej.

Mgr Joanna Kreczko-Kurzawa urodzona w 1984 roku, absolwentka pięcioletnich studiów magisterskich na kierunku Ochrona Środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Dyplom magistra uzyskała w 2008 roku. Ponadto ukończyła Międzywydziałowe Studia Podyplomowe – Współczesne metody analityki z elementami diagnostyki molekularnej (dyplom uzyskany w 2010 roku).

Prof. dr hab. Zbigniew Maćkiewicz urodził się w 1953 roku. W październiku 1973 rozpoczął studia na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, na kierunku Chemia. Od 1977 roku był pracownikiem Katedry Chemii Organicznej Wydziału Chemii UG. Obecnie pełni funkcję kierownika Pracowni Makromolekuł Biologicznych w Katedrze Biotechnologii Molekularnej. Prof. dr hab. Zbigniew Maćkiewicz jest autorem i współautorem około 100 publikacji oraz ponad 200 komunikatów; był opiekunem 10 prac doktorskich.

ABSTRACT

Before discovery of the Tat peptide over twenty years ago, it was assumed that large peptides and proteins do not penetrate cell membranes. After discovery of Tat, Penetratin [1, 2] and several other peptides of natural origin, able to cross the cell membranes in an energy-independent manner, the structural determinants of their cell-penetrating potency were established, including polycationic character, amphipaticity and presence of proline-rich motifs [3, 4].

Currently known cell-penetrating peptides of natural or synthetic origin are composed of 5 to 40 amino acid residues and belong to one of the three families: oligocationic, amphipatic or proline-rich and penetrate the biological membranes by endocytosis or other ways of direct translocation. Most of these translocation mechanisms are not exclusive and may occur simultaneously, and their contribution may be different for each peptide depending on the conditions (e.g. CPP concentration, pH, etc.).

Most CPPs demonstrate little or no mammalian cell toxicity what makes them promising vectors for drug delivery. Such vectors might be useful for efficient internalization of compounds otherways poorly penetrating biological membranes. Novel CPP-effector conjugates may become effective anticancer or antimicrobial agents of a great potential for chemotherapy [3, 5].

In this short review we present a glimpse at the current state of knowledge concerning sub-families, types and mechanisms of action of most prominent members of CPP family.

Keywords: CPP, cell-penetrating peptides, penetratin, endocytosis, amphipaticity
Słowa kluczowe: peptydy penetrujące, penetratyna, endocytoza, amfipatyczność

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

BIP	– peptydowy inhibitor Bax (<i>ang. Bax inhibiting peptide</i>)
ACPP	– aktywowalne peptydy penetrujące (<i>ang. activatable cell-penetrating peptides</i>)
CAMP	– kationowe peptydy przeciwdrobnoustrojowe (<i>ang. cationic antimicrobial peptides</i>)
CPP	– peptydy penetrujące błony komórki (<i>ang. cell-penetrating peptides</i>)
FGF	– czynnik wzrostu fibroblastów (<i>ang. fibroblasts growth factor</i>)
GFP	– białko zielonej fluorescencji (<i>ang. green fluorescent protein</i>)
GST	– S-transferaza glutationu (<i>ang. glutathione S-transferase</i>)
MTS	– sekwencje przenikania przez błony (<i>ang. membrane translocating sequences</i>), również CPP
NLS	– sekwencja lokalizacji jądrowej (<i>ang. nuclear localisation sequence</i>)
PTD	– peptydowe domeny transdukcji (<i>ang. peptide transduction domains</i>), również CPP
TAR	– region transaktywujący (<i>ang. trans-activation responsive element</i>)
TAT (lub Tat)	– transaktywator transkrypcji (<i>ang. trans-activator of transcription</i>)

WPROWADZENIE

Jeszcze nieco ponad dwadzieścia lat temu powszechnie sądzono, że cząsteczki peptydów i białek (oraz wielu innych związków polarnych) nie mają zdolności swobodnego przenikania przez błony biologiczne. Nieco później odkryto jednak grupę peptydów, które dzięki specyficznemu oddziaływaniu z błoną komórkową są w stanie wnikać do jej wnętrza oraz przedostać się na drugą stronę. Są to tzw. peptydy penetrujące (ang. CPP – *Cell Penetrating Peptides*; również PTD – ang. *peptide transduction domains*, MTS – ang. *membrane translocating sequences*, *Trojan peptides*). Niektóre z tych peptydów nie tylko potrafią przeniknąć do wnętrza komórki, ale również są w stanie zwiększyć przenikalność innych, nawet znacznie większych, związków.

Odkrycie peptydów penetrujących nastąpiło dość niedawno, bo pod koniec lat osiemdziesiątych XX wieku. Udowodniono wtedy, że jedno z białek wirusa HIV będące trans-aktywatorem transkrypcji (TAT) jest w stanie przeniknąć do wnętrza hodowanych komórek limfocytów, a zdolność ta jest wynikiem obecności w strukturze tego białka fragmentu oligopeptydowego o specyficznej sekwencji [1]. Niedługo później, podobne właściwości stwierdzono dla fragmentu białka homeotycznego występującego u muszki owocowej (*Drosophila*), który nazwano penetratyną [2, 6].

Te dwa odkrycia zapoczątkowały badania nad mechanizmami penetracji białek i peptydów przez błony i doprowadziły do odkrycia w białkach wirusów, komórek drobnoustrojów i organizmów wyższych kolejnych sekwencji stymulujących penetrację transbłonową [4]. Do chwili obecnej odkryto cały szereg takich sekwencji, jak również wykazano zdolności penetracyjne dla wielu peptydów, zarówno pochodzenia naturalnego, jak i całkowicie syntetycznych sekwencji zaprojektowanych na podstawie analizy strukturalnej wcześniej odkrytych CPP [3].

Dość trudno podać jedną, spójną definicję peptydów penetrujących. Można powiedzieć, że CPP są krótkimi peptydami, liczącymi od 5 do 40 reszt aminokwasowych, posiadającymi zdolność wnikania do wnętrza komórki za pomocą różnych mechanizmów, w tym nie wymagających dostarczenia energii oraz endocytozy, bez angażowania specyficznych receptorów i stereospecyficznego rozpoznawania. Większość CPP nie posiada właściwości toksycznych, chociaż są znane przykłady CPP o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Przyłączenie CPP (kowalencyjnie lub niekowalencyjnie) do innych aktywnych biologicznie cząsteczek znacznie zwiększa zdolność przenikania przez błonę komórkową tych ostatnich [3, 5].

Istnieje wiele związków o budowie peptydowej, białkowej lub kwasów nukleinowych stanowiących potencjalne leki, które jednak nie są zbyt efektywne ze względu na ograniczoną przenikalność przez błony komórkowe [7]. Połączenie tych związków z nośnikiem w postaci CPP może stanowić szansę na zwiększenie ich penetracji błon komórkowych, a tym samym na zwiększenie efektywności. Tego typu połączenia są często w stanie nie tylko penetrować błony komórkowe, ale też przenikać do jądra komórkowego, a nawet pokonywać barierę krew-mózg [8].

1. RODZINY PEPTYDÓW PENETRUJĄCYCH

Podziału peptydów penetrujących można dokonać m.in. na podstawie: mechanizmu pokonywania błony komórkowej, sposobu tworzenia koniugatów, sekwencji i budowy peptydów lub ich pochodzenia. W przypadku tego ostatniego kryterium, wyróżnić można CPP pochodzenia naturalnego, CPP chimeryczne – stanowiące połączenie sekwencji dwóch naturalnych peptydów, z których jeden posiada właściwości penetrujące, zaś drugi modyfikuje to działanie oraz CPP syntetyczne, których sekwencja została opracowana na podstawie badań zależności struktura-aktywność.

Tabela 1. Najważniejsze rodziny peptydów penetrujących
Table 1. The most important families of Cell-penetrating peptides

Klasyfikacja	Rodzina	Przykładowy CPP	Pochodzenie	Seqwencja	Przykład transportowanego związku	
Kationowe	Rodzina Tat	Tat (49-60)	Białko wirusa HIV-1	RKKRRQRR RPPQ [4]	β -galaktozydaza [8]	
		Oligoarginina	Pochodna Tat	R _n (gdzie n = 6–10) [4]	Cyklosporyna A [9]	
Amfipatyczne	Penetratyny	pAntp	Domena homeotyczna Antennapedia	RQIKIWFQN RRMKWKK [4]	Polo-box [10]	
		pIsl	Domena homeotyczna Isl-1	RVIRVWFQN KRCKDKK [4]	Biotyna [11]	
	Chimeryczne CPP	Transportan	Galanina i mastoparan	GWTLNSAGY LLGKINKAL AALAKKIL [4]	siRNA [12]	
		MPG	HIV-1 gp41 i NLS	GALFLGFLGA AGSTMGAWS QPKKKRKV [4]	siRNA [13]	
	Pochodne peptydów przeciwdrobnoustrojowych	Buforyna 2	Żołądek ropuchy	TRSSRAGLQW PVGRVHRL RK [4]	GFP [14]	
		SynB (1)	Protegryny	RGGRLSYSRR RFSTSTGR [4]	Doksorubicyna [15]	
		PAF26	Syntetyczny	RKKWFW [16]		
	Pochodne białka hCT	hCT (9-32)	Ludzka kalcytonina	LGTYTQDFNK FHTFPQTAIGV GAP [4]	GFP [17]	
	Bogate w prolinę	SAP		γ -zeina	VRLPPVRL PP PVRLPPP [18]	Fluorofor [18]
	Peptydy hydrofobowe	Pochodne czynnika wzrostu fibroblastów	Seqwencja sygnałowa Kaposi FGF	Kaposi FGF	AAVALLPAVL LALLAP [19]	NF- κ B [19]

Wydaje się, że najbardziej uzasadniony sposób podziału opiera się na wspólnych elementach strukturalnych. Pod tym względem wśród znanych CPP wyróżnić można trzy główne grupy: CPP oligokationowe, CPP amfipatyczne oraz CPP zawierające reszty proliny. W Tabeli 1 przedstawione zostały przykłady CPP należących tych grup, ich sekwencje aminokwasowe oraz przykłady ich zastosowania jako nośników substancji trudno penetrujących błony biologiczne.

1.1. OLIGOKATIONOWE CPP

Peptydy z tej rodziny charakteryzują się wysokim dodatnim ładunkiem wypadkowym cząsteczki wynikającym z dużej zawartości zasadowych reszt aminokwasowych lizyny i/lub argininy i niewielkiej ilości lub całkowitego braku reszt kwasowych. Szczególną rolę w przenikaniu przez błony wydają się pełnić grupy guanidynowe argininy. Wymiana reszt Arg na cytrulinę pozbawia CPP całkowicie zdolności do penetracji błony [20]. Arginina prawdopodobnie tworzy wielokrotne wiązania wodorowe z fosfolipidami na powierzchni komórki, co ma kluczowe znaczenie dla przenikania oligokationowych CPP [21].

1.1.1. Białko Tat

Białko Tat (ang. *trans-activator of transcription*) zostało wyizolowane z wirusa HIV-1. Białko to przenika przez błonę komórkową limfocytów T, a następnie łączy się z mRNA na końcu 5' nici, gdzie znajduje się element TAR (ang. *trans-activation responsive element*). Połączenie białka z RNA następuje poprzez domenę Tat sekwencji RKKTTYRRR, zaś za odpowiedź jądra komórkowego (ang. *nuclear localisation signal*, NLS) odpowiada fragment peptydu o sekwencji GRKKR. Ten drugi fragment odpowiedzialny jest za przenikanie peptydu do jądra komórkowego [22].

Właściwości fragmentu białka Tat, jako peptydu penetrującego, zostały odkryte po raz pierwszy gdy zaobserwowano, że koniugat trzydziestosześcio-aminokwasowego fragmentu w/w białka (reszty 37–72) z β -galaktozydazą (177 kDa) był w stanie wnikać do wnętrza komórki zwierzęcej [23]. W późniejszych badaniach stwierdzono, że właściwości penetrujące wykazuje już krótszy fragment, Tat₄₉₋₅₇, o sekwencji RKKRRQRRR.

Na podstawie badań analogów peptydu Tat z przyłączonymi sondami fluorescencyjnymi i prób z różnego typu inhibitorami procesów komórkowych (opisanych w dalszej części), jako główny mechanizm przenikania przez błony biologiczne zaproponowano endocytozę, która jest procesem zależnym od energii. Zdolność bezpośredniego przenikania przez błony jest jednak niezbędna, aby peptyd wraz z transportowanym związkiem mógł opuścić endosom [4].

Właściwości penetrujące, podobne do tych wykazywanych przez Tat₄₉₋₅₇, stwierdzono dla syntetycznych oligopeptydów zbudowanych z reszt Arg lub Lys,

w tym oktaargininy i dekalizyny [23]. Ta pierwsza wykazuje nawet dwudziestokrotnie większą skuteczność niż sam peptyd Tat₄₉₋₅₇.

1.2. AMFIPATYCZNE CPP

Peptydy należące do tej grupy charakteryzują się przede wszystkim obecnością dodatkowo naładowanych reszt aminokwasów (L-argininy i/lub L-lizyny) oraz reszt aminokwasów hydrofobowych (najczęściej L-tryptofanu i/lub L-feniloalaniny). Amfipatyczność tych peptydów można podzielić na pierwotną i wtórną. Pierwotna amfipatyczność wynika z wyraźnego podziału sekwencji peptydu na część hydrofobową i hydrofilową (np. tak jak w syntetycznym PAF26 o sekwencji RKKWFW). Wtórna amfipatyczność jest efektem powstawania peptydowych struktur drugorzędowych (np. α -helikalnych), w których sprotonowane grupy z łańcuchów bocznych reszt aminokwasów zasadowych znajdują się po przeciwnej stronie struktury względem reszt hydrofobowych [18].

1.2.1. Penetratyny

Białka homeotyczne są jednym z czynników biorących udział w transkrypcji. Po raz pierwszy wykryto je u muszki owocowej (*Drosophila*), a następnie u innych zwierząt i roślin. Wiążą one DNA za pośrednictwem sekwencji 60 reszt aminokwasowych noszącej nazwę domeny homeotycznej, która zbudowana jest z trzech α -helis, z czego trzecia rozpoznaje docelowe miejsce w helisie DNA.

Zdolność penetratyny (o sekwencji ⁴³RQIKIWF⁵⁰QNR⁵⁵KWKK) do przenikania błon komórkowych odkryta została w 1991 r. podczas badania roli domeny homeotycznej w rozwoju układu nerwowego [2]. Później powtórzono te obserwacje przy udziale innych domen homeotycznych i białek homeotycznych, co dało podstawy do stworzenia koncepcji peptydów penetrujących [6, 24].

Badając mutanty białek homeotycznych stwierdzono, że największy wpływ na ich przenikanie przez błony komórkowe ma sekwencja trzeciej helisy [25]. Zsyntezowany fragment składający się z szesnastu reszt aminokwasowych (43–58), który wykazuje zdolność penetracji błon biologicznych, jest ponadto w stanie wnikać do jądra komórki. Translokacja następowała we wszystkich typach badanych komórek ze 100% skutecznością, zarówno w temperaturze 4, jak i 37°C, co wskazuje na mechanizm niezależny od dostarczania energii [26]. Badania z użyciem spektroskopii dichroizmu kołowego wskazują na to, że w środowisku wodnym peptyd ten nie tworzy helisy; powstaje ona dopiero w środowisku hydrofobowym (np. wewnątrz błony komórkowej) [27].

Jako główny sposób transportu penetratyn przez błony komórkowe zaproponowano mechanizm odwróconej miceli (opisany w dalszej części). Oczywiście nie można wykluczyć innych mechanizmów, jednak wykonane badania wskazują na

znaczny udział wspomnianego powyżej procesu [6]. Pewien udział we wnikiwaniu penetratyn do wnętrza komórki ma prawdopodobnie także endocytoza. Wskazuje na to zmniejszenie przenikalności po zastosowaniu inhibitorów metabolizmu oraz endocytozy. Ponadto wiązanie penetratyny na powierzchni komórki z glikozaaminoglikanami może inicjować endocytozę przyłączonego do tego peptydu „ładunku” o dużej masie [28].

1.2.2. Kationowe peptydy przeciwdrobnoustrojowe (CAMP)

Naturalne kationowe peptydy przeciwdrobnoustrojowe (CAMP) zawierają przeważnie od 13 do 50 reszt aminokwasowych. W ich sekwencjach wyróżnić można domeny o znacznym udziale reszt hydrofobowych oraz domeny złożone z reszt aminokwasów z kationową grupą w łańcuchu bocznym (lizyna oraz arginina). Syntetyczne pochodne CAMP mogą mieć znacznie krótszą sekwencję (poniżej 10 reszt aminokwasowych) [28].

Większość CAMP ma możliwość penetracji błony komórkowej mikroorganizmów doprowadzając do lizy komórek. Jednak część z nich jest w stanie przeniknąć w bardziej subtelny sposób poprzez błonę, nie niszcząc komórki. Te właśnie zaliczają się do peptydów penetrujących [29].

Związek nazwany skrótowo PAF26 jest heksapeptydem o sekwencji RKKWFW i o stwierdzonym działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Mechanizm tego działania nie został jeszcze do końca poznany [30]. W toku badań stwierdzono, że PAF26 jest w stanie pokonywać błony komórkowe [28].

Widoczny jest podział tego peptydu na część o charakterze hydrofilowym (arginina i dwie reszty lizyny) i hydrofobowym (fenyloalanina i dwie reszty tryptofanu). Ma to duży związek z przenikaniem błon. Okazuje się, że prawdopodobnie mechanizm przenikania jest zależny od stężenia peptydu. W niskich stężeniach transport zależny jest od energii, zaś przy wyższych – przejście przez błonę następuje niezależnie od energii. Jako najbardziej prawdopodobny sposób przenikania błon dla CAMP postulowany jest „mechanizm dywanowy”. Prawdopodobnie właściwości penetrujące w sposób niezależny od energii wykazuje jedynie wersja PAF26, w której *N*-końcowa grupa α -aminowa jest acetylowana, a *C*-końcowa grupa α -karboksylowa występuje w formie amidowej. Wolny heksapeptyd wnika efektywnie do komórek, jednakże głównie za pośrednictwem białek transportowych, nazywanych permeazami oligopeptydowymi [Schiellmann M., Kawczyński M. i in., dane niepublikowane].

1.2.3. Transportan – CPP chimeryczny

Transportan jest syntetycznym peptydem zbudowanym z 27 reszt aminokwasowych. Podzielić go można na dwie części: *N*-końcowy, 12-peptydowy fragment

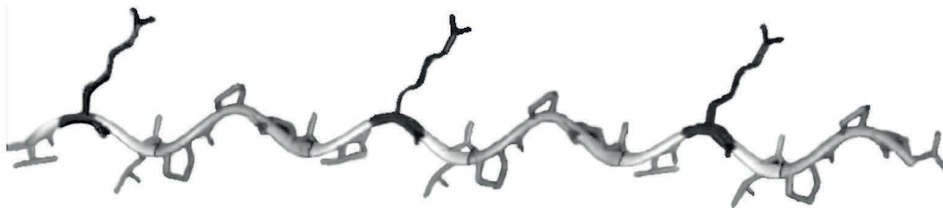
galaniny (neuropeptydu) oraz mastoparan (peptyd pochodzący z jadu os, który ma zdolność oddziaływania z błoną komórkową), połączone resztą lizyny [31]. Jego sekwencja przedstawia się następująco: GWTLNSAGYLLG¹³KINLKALAALAK-KIL.

Podobnie jak w przypadku niektórych peptydów penetrujących, widać tu wyraźny podział na część hydrofilową, zawierającą reszty lizyny oraz hydrofobową, w skład której wchodzi między innymi tryptofan.

Badania przenikania transportanu z zastosowaniem inhibitorów endocytozy dowodzą, że nie bierze ona udziału podczas translokacji tego peptydu przez błonę, a rzeczywisty mechanizm translokacji jest niezależny od energii metabolicznej. Wykazano też, że przenikalność nie zależy od rodzaju komórki, a transportan jest w stanie przeniknąć nie tylko do cytoplazmy, ale także do jądra komórkowego. W przypadku transportanu najprawdopodobniej największy udział w przenikaniu błon ma mechanizm dywanowy [31].

1.3. CPP BOGATE W PROLINĘ

Część peptydów z tej grupy można zaklasyfikować jako peptydy amfipatyczne wtórne ze względu na tworzenie struktury poliproliny II połączonej z hydrofilowymi resztami aminokwasów. Powstająca w ten sposób helisa zawiera 3.0 reszty aminokwasowe na skręt [18]. Przykładem może być tu pochodzący z białka γ -zeiny peptyd SAP o sekwencji: VRLPPPVRLPPPVRLPPP. 50% sekwencji tego peptydu stanowi prolina, dzięki czemu tworzy się wspomniana wcześniej helisa. W pozycjach 2, 8, 14 znajdują się zasadowe reszty argininy, które tworzą hydrofilową stronę peptydu, zaś walina w pozycjach 1, 7 i 13 tworzy stronę hydrofobową (Rys. 1) [18].



Val - Arg - Leu - Pro - Pro - Pro - Val - Arg - Leu - Pro - Pro - Pro - Val - Arg - Leu - Pro - Pro - Pro

Rysunek 1. Trójwymiarowa struktura helisy peptydu SAP bogatego w prolinę. Hydrofilowe reszty Arg skierowane są w jednym kierunku, zaś hydrofobowe reszty Val i Leu w przeciwnym. Na podstawie [32]
 Figure 1. Helical structure of proline-rich SAP. Hydrophilic arginine residues are clustered on the one side and hydrophobic residues (Valine and Leucine) on another one. Based on [32]

Zbadano również peptydy zbudowane na bazie struktury polihydroksyproliny. Zmodyfikowano reszty hydroksyproliny w taki sposób, że do grupy hydroksylowej przyłączano podstawniki hydrofobowe lub kationowe. Następnie łączono je na przemian: jedna hydroksyprolina z hydrofobowym podstawnikiem i dwie następane

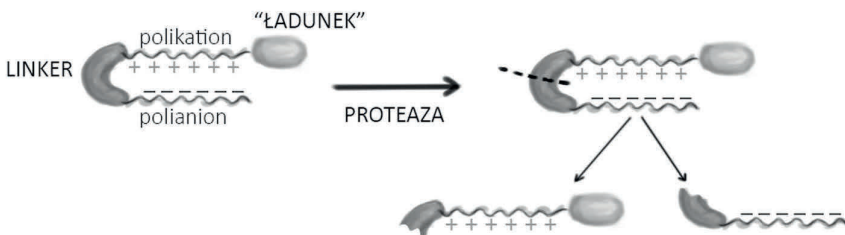
z hydrofilowym. Otrzymano w ten sposób helisę zawierającą 3.0 reszty na skręt (analogicznie jak struktura poliproliny II) o właściwościach amfipatycznych. Otrzymany peptyd okazał się mieć zdolność przenikania błon komórkowych [33].

Peptyd SAP oraz jego analogi, podobnie jak γ -zeina, mają tendencję do agregacji w długie fibryle. Tworzą się one z opisanych powyżej struktur układając się hydrofobową stroną do wnętrza, a hydrofilową na zewnątrz. Powstałe w ten sposób cylindryczne micle, łączą się dalej tworząc fibryle [32]. Może mieć to związek z przenikaniem peptydu do wnętrza komórek, gdyż dodatnio naładowane łańcuchy boczne aminokwasów będą oddziaływały z ujemnymi ładunkami fosfolipidów.

Własności penetrujące są sugerowane także dla mniejszych oligopeptydów takich, jak np. VRLPPP, jednakże nie zostało to jednoznacznie potwierdzone.

1.4. AKTYWOWALNE PEPTYDY PENETRUJĄCE (ACPP)

W 2004 roku przeprowadzono badania z wykorzystaniem syntetycznych peptydów, które nazwano aktywowalnymi peptydami penetrującymi (ACPP). W ich budowie można znaleźć fragmenty sekwencji poznanych i opisanych CPP, które zostały zmodyfikowane poprzez dodanie kolejnych elementów. ACPP składają się więc z trzech części; pierwszą jest właściwy peptyd penetrujący (analog białka Tat, który zawiera znaczną ilość kationowych reszt aminokwasowych argininy i lizyny), druga część to łącznik (linker) podatny na działanie enzymu proteolitycznego, zaś trzecia część to inhibitor transdukcji będący peptydowym łańcuchem zbudowanym z reszt aminokwasowych posiadających ujemnie naładowane grupy boczne (najczęściej kwasu glutaminowego). Dzięki takiej budowie, oddziaływanie dodatnio naładowanych łańcuchów bocznych z fosfolipidami błony komórkowej jest znacznie utrudnione i peptyd nie wykazuje przenikalności do momentu, gdy linker nie zostanie przecięty przez odpowiednią proteazę. Wtedy peptyd penetrujący zaczyna działać normalnie (Rys. 2) [34].



Rysunek 2. Sposób działania ACPP: Część polianionowa oddziałuje z częścią polikationową; w wyniku działania proteazy dochodzi do rozerwania linkera i odblokowania części kationowej, a tym samym umożliwienia przenikania CPP

Figure 2. Mechanism of action of activable CPPs. A polycationic part of the molecule interacts with a polyanionic one. Upon the action of proteases, the linker is cleaved, the polycationic fragment becomes unblocked what facilitates CPP penetration

Jednym z wykorzystywanych linkerów jest peptydowa sekwencja PLGLAG, która jest substratem dla metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP). Linker ten został zaprojektowany do przenoszenia przez CPP leku przeciwnowotworowego, ponieważ duża produkcja MMP jest związana z rozwojem komórek nowotworowych. Dzięki temu lek przenika do wnętrza komórek głównie w miejscach powstawania guza [35]. Z powodzeniem prowadzone są również badania nad zastosowaniem ACPP osadzonych na powierzchni nanocząstek będących lekami [36].

1.5. HYDROFOBOWE CPP

CPP należące do tej rodziny są stosunkowo nieliczne w porównaniu do kationowych czy amfipatycznych CPP. Można je podzielić na takie, które zbudowane są wyłącznie z reszt hydrofobowych oraz takie, które zawierają nieliczne, zjonizowane reszty aminokwasowe, jednak ich sumaryczny ładunek jest niewielki [37].

Jednym z pierwszych opisanych peptydów tej rodziny był hydrofobowy fragment domeny sygnałowej czynnika wzrostu fibroblastów Kaposiego (K-FGF) o sekwencji AAVALLPAVLLALLA. Peptyd ten wykazywał dobrą przenikalność do komórek, podobnie jak jego koniugat z większymi fragmentami peptydowymi (sekwencją lokalizacji jądrowej – NLS) [19].

Dalsze badania czynnika wzrostu fibroblastów doprowadziły do opisanego kolejnych peptydów takich, jak np. fragment FGF12 o sekwencji PIEVCMYREP (określony mianem CPP-C). Białko, z którego pochodzi, nie oddziałuje na żadne receptory wzrostu fibroblastów, jednak ma zdolność przenikania do wnętrza komórki. Również koniugaty tych sekwencji z innymi peptydami są zdolne do penetracji błony komórkowej, a nawet wnikanie do jądra komórkowego [40].

Innymi ciekawymi peptydami zaliczanymi do tej rodziny, są pentapeptydowe fragmenty białka Ku70, wybrane z tzw. domeny inhibitorowej Bax (Bax jest induktorem programowanej śmierci komórki, zaś jedną z ról białka Ku70 jest jego inhibicja). Peptydy te, o przykładowych sekwencjach: PMLKE, VPALR, IPALK, VPTLK, w literaturze występują pod nazwą BIP. Pomimo niewielkiego rozmiaru, peptydy BIP są w stanie transportować białko GFP przez błonę komórkową [38].

Sposób pokonywania błony komórkowej przez te peptydy nie został jeszcze jednoznacznie ustalony. Wiadomo, że CPP-C przenika poprzez endocytozę, a następnie ucieka z endosomu [40]. W początkowych badaniach peptydu K-FGF ustalono, że jego przenikanie do komórki jest niezależne od ATP [19]. Grupa syntetycznych, hydrofobowych CPP prawdopodobnie jest w stanie przenikać przez błonę bezpośrednio. Są to peptydy o sekwencjach otrzymanych z biblioteki stworzonej na bazie obliczeń statystycznych bazujących na sekwencjach znanych już CPP. Były one w stanie przenikać przez sztuczną błonę fosfolipidową, więc endocytoza nie wchodziła tu w grę. Wykazały również taką zdolność w badaniach na żywych komórkach [39].

2. MECHANIZMY PENETRACJI BŁON BIOLOGICZNYCH PRZEZ CPP

Na podstawie dotychczasowych badań opracowano kilka możliwych mechanizmów transportu peptydów przez błony komórkowe. Większość z nich nie wyklucza się wzajemnie i prawdopodobnie występuje równolegle, a ich udział może być różny dla danego peptydu zależnie od warunków (np. stężenia CPP, pH, temperatury, itp.).

Mechanizmy penetracji CPP przez błony można podzielić na różnego rodzaju endocytozy (wykorzystujące energię metaboliczną, czyli zgromadzoną w komórce w postaci ATP) oraz bezpośredni transport przez błonę komórkową. Ten drugi rodzaj transportu jest niezależny od energii i temperatury. W jego trakcie dochodzi do lokalnej destabilizacji błony komórkowej, w trakcie której peptydy przedostają się na jej drugą stronę. W początkowych badaniach CPP postulowano właśnie ten mechanizm przenikalności, później go odrzucono, by ostatecznie jednak potwierdzić taki przebieg poprzez doświadczenia z zastosowaniem inhibitorów endocytozy, prowadzone w niskich temperaturach [41, 42].

Ustalono kilka cech wspólnych, charakterystycznych dla większości CPP, które mają duże znaczenie dla transportu poprzez błony komórkowe. Jedną z nich jest obecność dodatnio naładowanych reszt aminokwasowych L-argininy i L-lizyny (cecha ta nie dotyczy hydrofobowych CPP). Ich rolą jest oddziaływanie z ujemnie naładowanymi fosfolipidami i proteoglikanami występującymi na powierzchni komórki. Ponadto stwierdzono, że arginina ma większe znaczenie dla przenikalności niż reszty lizyny [43]. Może mieć to związek z tworzeniem się wiązań wodorowych pomiędzy grupami guanidynowymi łańcucha bocznego argininy, a fosforanowymi, sulfonowymi lub karboksylowymi składnikami błony [21].

Obecność reszt aminokwasów o charakterze hydrofobowym w sekwencji ma istotny wpływ na zdolność przenikania, jednakże zbyt duża hydrofobowość może prowadzić do zmniejszenia przenikania wynikającego z zatrzymywania takiego peptydu wewnątrz błony komórkowej [44]. Szczególną rolę odgrywają tutaj reszty aminokwasów aromatycznych, w tym L-tryptofanu, nie tylko ze względu na hydrofobowość, ale również zwiększoną gęstość elektronową wynikającą z obecności zdelokalizowanych elektronów π . Tryptofan ma także duży udział w destabilizacji błony komórkowej [45]. Ma on możliwość oddziaływania z białkami błonowymi oraz glikozaminoglikanami, co powoduje przenikanie CPP na drugą stronę błony komórkowej [46].

Jak wykazały badania, konfiguracja absolutna reszt aminokwasowych w CPP nie ma większego wpływu na przenikanie przez błony, gdyż mechanizmy transdukcji nie angażują żadnych specyficznych receptorów. Nawet jeśli analog tworzy drugorzędową strukturę (np. helisę), a zbudowany jest z reszt D-aminokwasów, struktura ta stanowi odbicie lustrzane pierwotnej struktury i oddziałuje z błoną w analogiczny sposób jak „oryginał”. Ponadto analogi zbudowane z reszt D-aminokwasów są dłużej akumulowane w komórkach, co wynika z ich większej odporności na działanie enzymów tnących wiązania peptydowe [18, 27, 28].

2.1. ENDOCYTOZA

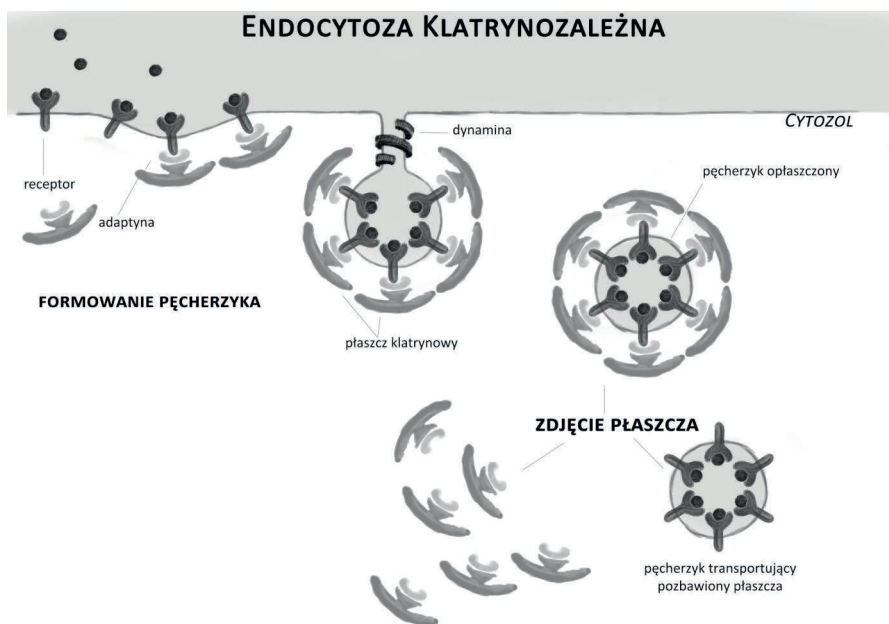
Endocytoza jest procesem występującym praktycznie w każdej komórce, zależnym od energii i przez komórkę regulowanym. Ma na celu dostarczenie komórce niezbędnych substancji ze środowiska. Jako mechanizm translokacji peptydów penetrujących przez błonę dzieli się na dwa etapy: wnikięcie do komórki poprzez endocytozę i ucieczkę z endosomu. Endocytoza w różnych formach towarzyszy przenikaniu większości peptydów, jednak w przypadku pochodnych peptydu Tat ma główny udział w transporcie.

Badania nad mechanizmem transdukcji zaczęły się od obserwacji przeniesienia dużego enzymu przez krótki fragment białka Tat do wnętrza komórki ssaka. Udowodniono, że białko Tat posiada dwie domeny: jedna z nich – domena podstawowa – inicjuje wnikięcie do wnętrza jądra komórkowego i może odpowiadać za pokonywanie błon biologicznych, a drugą jest przylegająca α -helisa poprzez którą białko oddziałuje z RNA [47]. Podobna konfiguracja występowała w przypadku penetratyn – co wtedy było uznawane za istotne w procesie przenoszenia do wnętrza komórki [26].

Grupę analogów peptydu Tat z delecją w domenie podstawowej lub w α -helisie przebadano pod względem przenikania przez błony komórkowe przy użyciu znakowania fluorescencyjnego. Na podstawie tych doświadczeń jednoznacznie wykazano, że α -helisa nie ma wpływu na transport przez błonę komórkową. Jako prototyp peptydu penetrującego Tat uznano sekwencję GRKKRRQRRR, która zawiera wspomniany już fragment odpowiedzialny za oddziaływanie białka Tat z RNA oraz motyw NLS. Ponadto usunięcie z peptydu α -helisy zmniejszyło jego cytotoksyczność [48]. Skan alaninowy sekwencji transportującej pokazał, że wymiana któregośkolwiek aminokwasu powoduje znaczne zmniejszenie zdolności przenikania błon [49, 50].

Początkowo postulowany mechanizm niezależny od energii, został zakwestionowany [51]. Badania przenikalności przy użyciu znaczników fluorescencyjnych wskazywały na akumulację wewnątrz komórek. Jednak peptydy Tat chętnie łączą się z ujemnie naładowanymi cząstkami, w tym nie tylko z peptydoglikanami i fosfolipidami występującymi na powierzchni błony komórkowej, ale także z powierzchniami szklanymi i plastikowymi. Przemywanie, stosowane w tych badaniach, nie wystarczyło do odmycia z powierzchni naczyń związanego z nimi znakowanego peptydu co w konsekwencji prowadziło do zafałszowania wyników [52]. Zatem endocytoza jako mechanizm przenikania peptydu Tat do wnętrza komórki nie mogła być odrzucona. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że peptyd Tat znacznie chętniej łączy się z glikozaminoglikanami na powierzchni komórki niż z ujemnie naładowanymi fosfolipidami tworzącymi ścianę komórkową [53–55]. Potwierdzono to przeprowadzając testy na mutantach z zaburzeniem w syntezie glikozaminoglikanów – w tym wypadku peptyd Tat nie przenosił „ładunku” do wnętrza komórki [56].

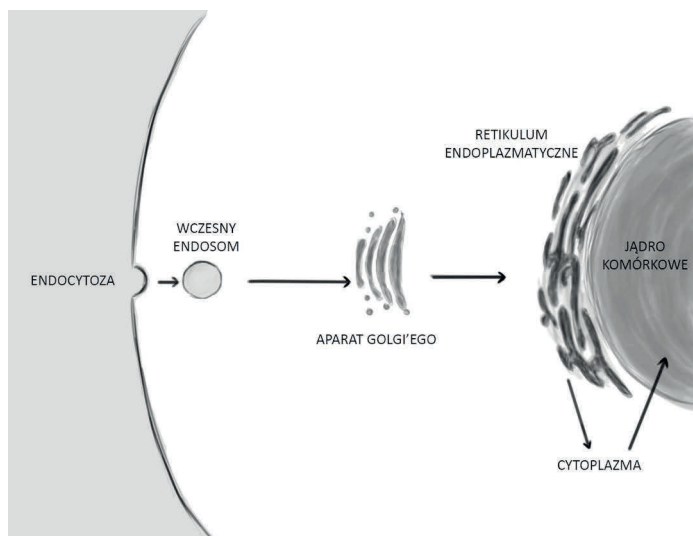
Badania pełnego peptydu Tat oraz koniugatów peptydu Tat z fluorochromami z zastosowaniem inhibitorów endocytozy klatrynozależnej (w których zmieniono metodologię, aby uniknąć zanieczyszczeń w postaci peptydu związanego z powierzchnią naczynia) [57], pokazały znaczny spadek wnikania do wnętrza komórki (Rys. 3). Z drugiej strony, dodatek inhibitorów endocytozy zależnej od tratw lipidowych nie wpłynął znacząco na przenikanie peptydu Tat [57–59]. Opublikowano też doświadczenia przeprowadzone na koniugatach peptydu Tat z rekombinazą Cre oraz koniugatu GST-Tat-GFP, które sugerują makropinocytozę lub endocytozę klatrynozależną [60–62]. Może to wskazywać na różnorodność mechanizmów, które odpowiadają za przenikanie peptydu Tat oraz jego analogów i koniugatów.



Rysunek 3. Mechanizm endocytozy klatrynozależnej
Figure 3. Clathrin-dependent endocytosis mechanism

Badania potwierdzają, że peptyd Tat jest w stanie regulować własną endocytozę oddziałując na aktynę w cytoszkielecie, [63].

Niezależnie od tego jaki rodzaj endocytozy czy pinocytozy towarzyszy wnikaniu peptydu Tat do wnętrza komórki, problemem pozostaje ucieczka związku z endosomu, by uniknąć rozkładu „ładunku” transportowanego przez peptyd. Mechanizm tej ucieczki nie został jeszcze poznany. Jedną z propozycji jest przedostawanie się peptydu do innych organelli komórkowych, a na końcu do cytoplazmy. Odbyna się to na zasadzie wstecznego transportu wczesnego endosomu do aparatu Golgiego; następnie do retikulum endoplazmatycznego i stamtąd do cytoplazmy [4] (Rys. 4).



Rysunek 4. Proponowana droga „ucieczki” CPP z pęcherzyka endosomalnego w oparciu o [4]
 Figure 4. Postulated way of escape from endosomal vesicles. According to [4]

2.2. ODWRÓCONA MICELA

Mechanizm odwróconej miceli jako główny sposób przenikania błon został zaproponowany dla penetratyny. Aby stwierdzić, co wpływa na przenikanie penetratyny przez błony biologiczne i na jakiej drodze się to odbywa, zsyntezowano grupę analogów tego peptydu.

Analog o sekwencji zbudowanej z D-aminokwasów oraz analog o odwróconej sekwencji (43-58) wykazały taką samą przenikalność jak penetratyna w temperaturze 4°C, jak i 37°C. Wyklucza to udział chiralnych receptorów błonowych w procesie przenikania. Pod uwagę brano była możliwość wnikania poprzez pinocytozę, gdyż nie jest ona zatrzymywana w temperaturze 4°C, nie nasycy się, a receptory błonowe nie biorą w niej udziału, jednak badania akumulacji tych peptydów nie wykazały oznak pinocytozy, zaś peptydy znajdowały się zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze. To wyklucza pinocytozę jako sposób przenikania błon. D-aminokwasowa pochodna wykazała większą akumulację, co jest dość typowe dla tego rodzaju peptydów, gdyż peptydy zbudowane z reszt D-aminokwasowych trudniej poddają się proteolizie [27, 64].

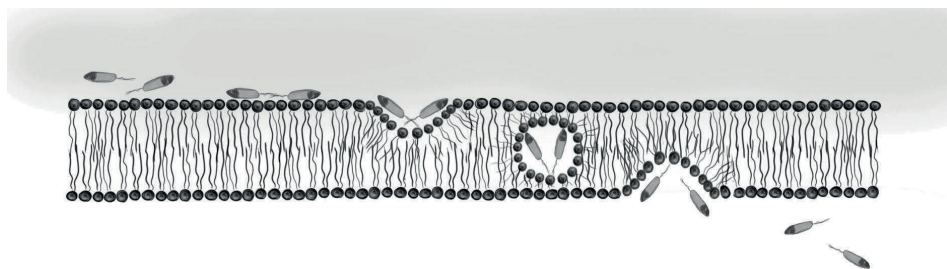
W celu oceny wpływu konformacji penetratyny na jej działanie, przeprowadzono eksperyment, który polegał na przyłączeniu L-cysteiny na N- i C-końcu penetratyny, a następnie utworzeniu wiązania disulfidowego, aby otrzymać peptyd o strukturze cyklicznej. Okazało się, że peptyd w formie liniowej przenika przez błonę komórkową, zaś forma cykliczna nie. Wskazuje to na istotny wpływ struktury przestrzennej na przenikanie związku przez błonę komórkową [64].

Innym doświadczeniem było otrzymanie dwóch analogów: jednego, w którym 50 reszta aminokwasowa (glutamina) została wymieniona na L-prolinę i drugiego, w którym na L-prolinę wymieniono reszty 45, 50 i 55 (odpowiednio izoleucyna, glutamina, lizyna). Prolina utrudnia organizowanie się peptydu w helisę (jest tzw. „łamaczem α -helis”). Okazało się, że takie analogi również przenikają przez błonę, jednak badanie mikroskopem elektronowym pokazało, że analogi nie miały dostępu do jądra komórkowego [65].

W celu oceny wpływu amfifilowości na przenikanie, zsyntezowano analog penetratyny, w którym wymieniono reszty tryptofanu 48 i 56 na fenyloalaninę. Okazało się, że otrzymany analog nie przenika przez błony. Prowadzi to do wniosku, że sama amfifilowość nie jest wystarczająca, aby peptyd mógł przeniknąć przez błonę [26]. Wskazuje to również na istotną rolę reszt tryptofanu w procesie penetracji błony. Uściśliły to wyniki badań, w których analog domeny homeotycznej z delecją Trp56 przenikał przez błonę komórkową [66].

Zaobserwowano, że długość sekwencji ma wpływ na przenikanie peptydu. Analogi penetratyny skracane od C-końca bardzo szybko traciły możliwość przenikania przez błony, natomiast w przypadku usuwania N-końcowych reszt aminokwasowych spadek przenikalności był mniejszy. Heptapeptyd (52-58) wykazuje przenikalność z wydajnością 60% względem oryginalnej penetratyny [64].

Skan alaninowy wskazuje przede wszystkim na istotną rolę reszt L-lizyny i L-argininy. Wymiana reszty tryptofanu 48 na L-alaninę sprawiła, że peptyd stracił możliwość przenikania przez błony [25, 67].



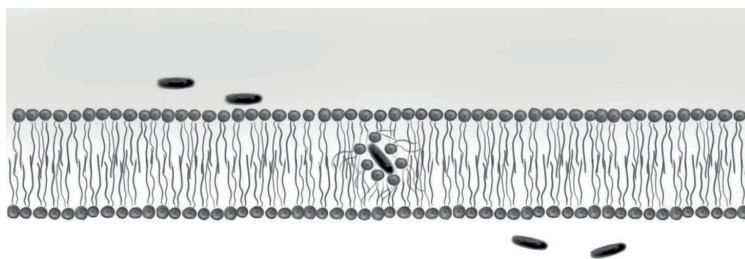
Rysunek 5. Mechanizm wnikania CPP do wnętrza komórki na zasadzie odwróconej miceli

Figure 5. Reverse micelle mechanism of CPP transduction

Na podstawie powyższych informacji zaproponowano mechanizm odwróconej miceli. Na początku CPP jest stabilizowany na powierzchni komórki w wyniku oddziaływań elektrostatycznych reszt obdarzonych ładunkiem dodatnim (Lys i Arg) z ujemnie naładowanymi „głowami” fosfolipidów. W tym momencie reszta Trp48 inicjuje powstanie odwróconej miceli wokół CPP, która przenosi peptyd na drugą stronę błony komórkowej. Możliwy jest też wariant, w którym powstanie odwróconej miceli zaburza strukturę błony, co pozwala na przeniknięcie peptydu.

2.3. PRZENIKANIE ADAPTACYJNE

Mechanizm przenikania adaptacyjnego występuje m.in. w transporcie poliargininy. Peptyd ten oddziałuje swoimi dodatnio naładowanymi grupami guanidynowymi z fosfolipidami i jednocześnie tworzy z nimi wiązania wodorowe. W ten sposób dodatni ładunek peptydu jest maskowany, co znacznie obniża jego polarność. Peptyd może zanurzyć się w błonie komórkowej i w ten sposób przedostaje się na jej drugą stronę. Mechanizm ten pokazuje, jak istotny wpływ dla przenikania peptydów nośnikowych ma potencjał elektrostatyczny błony komórkowej oraz obecność dodatnio naładowanych grup guanidynowych reszt argininy [68].



Rysunek 6. Schemat mechanizmu przenikania adaptacyjnego
Figure 6. Adaptive translocation mechanism

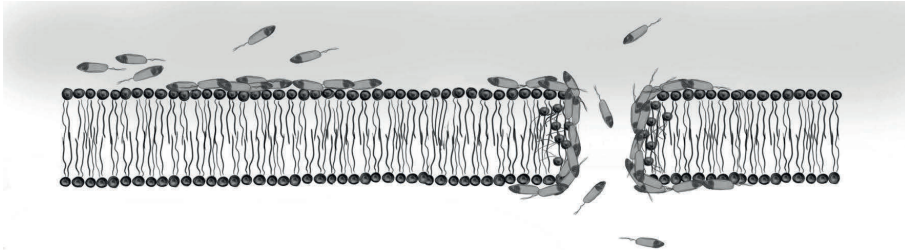
2.4. MECHANIZM DYWANOWY

Mechanizm dywanowy został zaproponowany m.in. dla peptydu PAF26, w którego strukturze wyraźnie widoczny jest podział na dwie części: jedną obdarzoną ładunkiem i drugą o charakterze hydrofobowym. Można zauważyć pewne podobieństwo PAF26 do penetratyny, która zawiera znaczną ilość naładowanych reszt aminokwasowych w jednej części oraz resztę tryptofanu, która ma istotne znaczenie dla właściwości tego peptydu [25, 67].

PAF26 jest zbyt krótkim peptydem aby tworzyć strukturę drugorzędową. Potwierdziły to badania z użyciem spektroskopii dichroizmu kołowego [69].

Postanowiono porównać działanie bakteriobójcze PAF26 z innym peptydem przeciwdrobnoustrojowym: KR20 (składającym się z dwudziestu reszt aminokwasowych – fragmentem większego peptydu K126 pochodzącego z katelicydyny LL37) [28]. Jednak interesujące wyniki przyniósł dopiero kolejny eksperyment, w którym przetestowano aktywność koniugatu obu powyższych związków. Co ciekawe, koniugat był co najmniej równie skuteczny jak każdy jego składnik z osobna, a w większości przypadków przewyższał je aktywnością. Naukowcy chcieli ustalić, czy wydłużenie sekwencji KR20 o sześć reszt aminokwasowych wpływa na skuteczność tego peptydu. Zsyntezowali więc peptyd, który jest analogiem KR20 – przedłużonym o sześć kolejnych reszt aminokwasowych pochodzących z peptydu K126. Nie wykazywał on jednak skuteczności większej niż KR20. Kolejną próbą wyjaśnienia

tego zjawiska, była synteza peptydu P20 o sekwencji: RKRPFW, który jest analogiem PAF26, nie posiadającym jednak właściwości przeciwdrobnoustrojowych. Jego koniugat z KR20 również wykazywał aktywność większą niż sam peptyd KR20, choć mniejszą niż koniugat PAF26-KR20. W oparciu o te wyniki można stwierdzić, że zarówno PAF26, jak i jego analog P20, u którego nie obserwowano działania przeciwdrobnoustrojowego, muszą ułatwiać wnikanie KR20 do wnętrza komórki [70].



Rysunek 7. Tworzenie „dywanu” i przenikanie CAMP przez błonę komórkową; w oparciu o lit. [73]
Figure 7. Carpet-like mechanism of CAMP internalisation. Based on [73]

Mechanizm przenikania PAF26 nie jest jeszcze do końca ustalony i prawdopodobnie jest zależny od stężenia. Przy niskich stężeniach peptydu następuje endocytotza i przeniesienie peptydu z endosomu do wakuoli, skąd następnie przedostaje się on do cytoplazmy. Przy wyższych stężeniach peptyd przenika bezpośrednio przez błonę komórkową do wnętrza komórki [71]. Przy tych stężeniach peptyd prawdopodobnie oddziałuje dodatnio naładowanym fragmentem z ujemnie naładowanymi „głowami” fosfolipidów błonowych. Na powierzchni błony komórkowej tworzy się „dywan”, który po osiągnięciu odpowiedniego stężenia destabilizuje miejscowo błonę, w której tworzą się pory, przez które peptyd jest w stanie przeniknąć do wnętrza komórki (Rys. 7) [72].

Prawdopodobnym jest również mechanizm, w którym peptyd wchłaniany jest do komórki i trafia do wakuoli, a stamtąd dopiero do cytoplazmy. Taki mechanizm sugerują badania, w których wykorzystano dwa analogi: AAAWFW oraz RKKAAA. Jeden zawiera część hydrofobową (WFW), podczas gdy drugi zawiera część kationową (RKK) peptydu PAF26. Za pomocą znakowania fluorescencyjnego pierwszy z nich został wykryty w wakuolach, ale nie w cytoplazmie. Drugi zaś akumulował się na otoczce komórki, w ogóle nie przenikając do wnętrza [74].

2.5. PRZENIKANIE PRZYPOMINAJĄCE ELEKTROPORACJĘ

Część badaczy sugeruje udział mechanizmu przypominającego elektroporację w przenikaniu penetratyn i wiąże go z rozkładem ładunków na zewnątrz i wewnątrz komórki. Powyżej pewnego stężenia peptydu (zawierającego dodatnio naładowane łańcuchy boczne) asymetryczne rozłożenie ładunku po obu stronach błony komór-

kowej może powodować destabilizację struktury fosfolipidowej w błonie komórkowej, co znacząco ułatwia peptydom jej pokonanie [75].

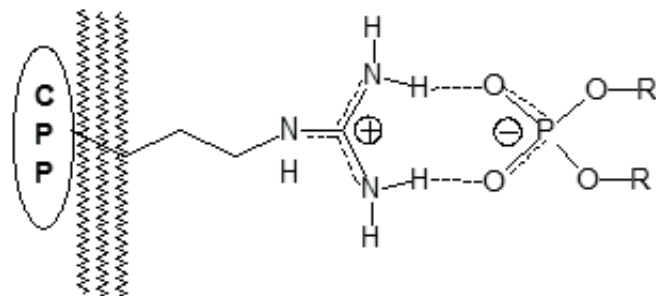
2.6. WEJŚCIE NA GRANICY INTEGRALNYCH BIAŁEK TRANSBŁONOWYCH

Obszary błony komórkowej znajdujące się pomiędzy różnymi białkami transbłonowymi mogą zawierać defekty, które mogą ułatwiać przenikanie peptydom penetrującym, bądź działać jako miejsca „zarodkowania” tworzących się porów. Takie obszary mogą powstawać poprzez oddziaływanie peptydów z ujemnie naładowanymi fosfolipidami, co może prowadzić do lokalnej reorganizacji oraz destabilizacji błony komórkowej [76].

3. ZASTOSOWANIE KONIUGATÓW SUBSTANCJI CZYNNYCH I PEPTYDÓW PENETRUJĄCYCH W ROLI PROLEKÓW

Peptydy penetrujące mogą zostać użyte jako wektory ułatwiające transport różnych klas związków (określanych jako „ładunek” lub cargo) przez błonę komórkową. Transportowanymi związkami mogą być m.in.: białka [8], oligopeptydy [77], oligonukleotydy [78], siRNA [27, 28], kwasy peptydonukleinowe [79] czy nanocząstki [34].

Przyłączenie „ładunku” do CPP lub jego pochodnej może nastąpić poprzez wiązania kowalencyjne lub jonowe. Najprostszym sposobem jest utworzenie wiązania peptydowego, amidowego lub estrowego pomiędzy CPP a związkiem, którego przenikalność ma zostać zwiększona. Odłączenie „ładunku” następuje poprzez enzymatyczne cięcie tych wiązań wewnątrz komórki. Drugim sposobem jest wprowadzenie reszty L-cysteiny na N-koniec sekwencji transportowanej. Grupa tiolowa przyłączana jest wiązaniem disulfidowym do analogicznej grupy L-cysteiny w CPP. Uwolnienie „ładunku” następuje w wyniku rozcięcia wiązania disulfidowego w redukującym środowisku cytoplazmy [80].



Rysunek 8. Schemat wiązań wodorowych pomiędzy grupą guanidynową a grupą fosforanową według lit. [81]
 Figure 8. Hydrogen bonds between the guanidine moiety of CPP and the phosphate group of a “cargo”.
 Based on [81]

Interesującą możliwością wydaje się tworzenie kompleksów jonowych pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami guanidynowymi arginin w CPP typu okta-argininy, a ugrupowaniami fosforanowymi lub karboksylowymi ładunku (Rys. 8). Połączenia takie utworzone dla oktargininy i inhibitora enzymatycznego o strukturze aminokwasowej – fosfidomycyny, były efektywnie transportowane do komórek bakteryjnych [82].

Metoda ta znalazła zastosowanie DNA do komórek eukariotycznych, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* [83]. Daje to możliwość wprowadzania genów do komórki leczeniu terapią genową. Zastosowanie koniugatów z CPP może być w tym przypadku pewną alternatywą dla wektorów wirusowych, których stosowanie może być ograniczone poprzez immunogenność, toksyczność lub trudności z produkcją na dużą skalę [84].

W podobny sposób CPP znacznie zwiększają przenikanie biofarmaceutyków opartych na siRNA. Koniugaty mogą być tu tworzone zarówno kowalencyjnie, jak i niekowalencyjnie, aczkolwiek te drugie wykazują większą wydajność [85]. Na przykład udowodniono, że podawany dożylnie koniugat peptydu MPG z siRNA cykliny B1 (białko pełniące istotną rolę w cyklu komórkowym) powodował zahamowanie wzrostu nowotworu [86].

Z pomocą CPP transportowane do wnętrza komórek mogą być nawet bardzo duże białka. Koniugaty takie otrzymywane są głównie z wykorzystaniem wiązań kowalencyjnych. Koniugat peptydu Tat z β -galaktozydazą (około 117 kDa) był w stanie przeniknąć do wszystkich komórek myszy, w tym również do mózgu [8]. Niestety aktywność białek zależy w dużym stopniu od ich wrażliwej struktury wyższego rzędu, która może zostać utracona w czasie tworzenia koniugatów lub podczas ich transportu, co może przekładać się na niską skuteczność takiego leku.

Kolejną grupą związków, których przenikanie przez błony komórkowe zostało poprawione dzięki koniugatam z CPP, są nanocząstki. Mogą one znaleźć zastosowanie w terapii przeciwdrobnoustrojowej, przeciwnowotworowej lub jako kontrast w badaniach rezonansem magnetycznym. Przykładem zastosowania takiego podejścia mogą być nanocząsteczki superparamagnetycznego tlenku żelaza w połączeniu z polimerem, na którym osadzono łańcuchy peptydu Tat. W badaniach przenikalności na komórkach Caco-2 (linia komórkowa pochodząca z gruczołaka jelita grubego) połączenie takie wykazało znacznie większą przenikalność niż identyczne nanocząsteczki pozbawione peptydu Tat [87].

Przykładami leków, których efektywność można zwiększyć w wyniku poprawy ich biodostępności poprzez połączenie z CPP mogą być np. δ -peptydowy inhibitor kinazy proteinowej C, którego koniugat z peptydem Tat ma potencjalne zastosowanie przy ostrym zawale serca [88], czy też cyklosporyna A, która w formie koniugatu z poliargininą może być skuteczna w leczeniu łuszczycy [89].

PODSUMOWANIE

Peptydy penetrujące z pewnością są wyjątkową i ciekawą grupą związków peptydowych. Zostały odkryte ponad dwadzieścia lat temu, ale wiedza na ich temat wciąż jest rozbudowywana. Liczne badania nad mechanizmami ich przenikania do wnętrza komórek pozwalają zrozumieć jakie cechy strukturalne warunkują ich zdolność do penetracji komórek. Wiedza ta pozwala na projektowanie nowych, bardziej efektywnych peptydów penetrujących., które mogą być wykorzystane do konstrukcji kolejnych chemoterapeutyków przeciwdrobnoustrojowych lub przeciwnowotworowych.

PODZIĘKOWANIA

Serdeczne podziękowania dla prof. M. J. Milewskiej za pomoc i cenne uwagi merytoryczne oraz techniczne.

Podziękowania dla p. Anny Łuki za wykonanie rysunków według wskazówek autorów.

Praca zrealizowana dzięki finansowaniu ze środków Narodowego Centrum Nauki UMO-2012/05/B/ST5/00291.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] A.D. Frankel, C.O. Pabo, *Cell*, 1988, **55**, 1189.
- [2] A. Joliot, C. Pernelle, H. Deagostini-Bazin, A. Prochiantz, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1991, **88**, 1864.
- [3] U. Langel, *Handbook of Cell-Penetrating Peptides*, Taylor&Francis, London 2007.
- [4] C. Foerg, H.P. Merkle, *J. Pharm. Sci.*, 2008, **97**, 144.
- [5] C. Bechara, S. Sagan, *FEBS Lett.*, 2013, **587**, 1693.
- [6] A. Prochiantz, *Cell Biol.*, 2000, **12**, 400.
- [7] A.M. Gewirtz, D.L. Sokol, M.Z. Ratajczak, *Blood*, 1998, **92**, 712.
- [8] S.R. Schwarze, A. Ho, A. Vocero-Akbani, S.F. Dowdy, *Science*, 1999, **285**, 1569.
- [9] J.B. Rothbard, S. Garlington, Q. Lin, T. Kirschberg, E. Kreider, P.L. McGrane, P.A. Wender, P.A. Khavari, *Nat. Med.*, 2000, **6**, 1253.
- [10] J. Yuan, A. Kramer, F. Eckerdt, M. Kaufmann, K. Strebhardt, *Cancer Res.*, 2002, **62**, 4186.
- [11] K. Kilk, M. Magzoub, M. Pooga, L.E. Eriksson, U. Langel, A. Graslund, *Bioconjug. Chem.*, 2001, **12**, 911.
- [12] M. Pooga, A. Jureus, K. Razaee, H. Hasanvan, K. Saar, K. Kask, P. Kjellen, T. Land, J. Halonen, U. Maeorg, A. Uri, S. Solyom, T. Bartfai, U. Langel, *J. Pept. Res.*, 1998, **51**, 65.
- [13] F. Simeoni, M. C. Morris, F. Heitz, G. Divita, *Nucleic Acids Res.*, 2003, **31**, 2717.
- [14] K. Takeshima, A. Chikushi, K.K. Lee, S. Yonehara, K. Matsuzaki, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 1310.
- [15] C. Rousselle, M. Smirnova, P. Clair, J.M. Lefauconnier, A. Chavanieu, B. Calas, J.M. Scherrmann, J. Tamsamani, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, **296**, 124.
- [16] A. Muñoz, B. López-García, J.F. Marcos, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**, 384.

- [17] Z. Machova, C. Muhle, U. Krauss, R. Trehin, A. Koch, H.P. Merkle, A.G. Beck-Sickingher, *Chem. Biochem.*, 2002, **3**, 672.
- [18] J. Fernandez-Carneado, M.J. Kogan, S. Castel, E. Giralt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2004, **43**, 1811.
- [19] Y.-Z. Lin, S. Yao, R.A. Veach, T.R. Torgerson, J. Hawiger, *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**, 14255.
- [20] M. Zorko, U. Langel, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2005, **57**, 529.
- [21] J.B. Rothbard, T.C. Jessop, R.S. Lewis, B.A. Murray, P. Wender, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 9506.
- [22] K.-T. Jeang, H. Xiao, E.A. Rich, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 28837.
- [23] D.J. Mitchell, D.T. Kim, L. Steinman, C.G. Fathman, J.B. Rothbard, *J. Pept. Res.* 2000, **56**, 318.
- [24] A. Prochiantz, A. Joliot, *Mol. Cell Biol.*, 2003, **4**, 814.
- [25] I. Le Roux, S. Duharcourt, M. Volovitch, A. Prochiantz, E. Ronchi, *FEBS Lett.*, 1995, **368**, 311.
- [26] D. Derossi, A. Joliot, G. Chassaing, A. Prochiantz, *J. Biol. Chem.*, 1994, **269**, 10444.
- [27] G. Drin, H. Déméné, J. Tamsamani, R. Brasseur, *Biochemistry*, 2001, **40**, 1824.
- [28] G. Drin, S. Cottin, E. Blanc, A.R. Rees, J. Tamsamani, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 31192.
- [29] J. F. Marcos, M. Gandía, *Expert Opin. Drug Discov.*, 2009, **4**, 659.
- [30] L. Carmona, M. Gandía, B. López-García, J.F. Marcos, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2012, **417**, 56.
- [31] M. Pooga, M. Hällbrink, M. Zorko, U. Langel, *FASEB J.*, 1998, **12**, 67.
- [32] S. Pujals, J. Fernández-Carneado, C. López-Iglesias, M.J. Kogan, E. Giralt, *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, **1758**, 264.
- [33] Y.A. Fillon, J.P. Anderson, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 11798.
- [34] T. Jiang, E.S. Olson, Q.T. Nguyen, M. Roy, P.A. Jennings, R.Y. Tsien, *PANS*, 2004, **101**, 17867.
- [35] E.S. Olson, T.A. Aguilera, T. Jiang, L.G. Ellies, Q.T. Nguyen, E.H. Wong, L.A. Grossa, R.Y. Tsien, *Integr. Biol.*, 2009, **1**, 382.
- [36] H. Xia, G. Gu, Q. Hu, Z. Liu, M. Jiang, T. Kang, D. Miao, Q. Song, L. Yao, Y. Tu, H. Chen, X. Gao, J. Chen, *Bioconjug. Chem.*, 2013, **24**, 419.
- [37] F. Miletti, *Drug Discov. Today*, 2012, **17**, 850.
- [38] J. Gomez, S. Matsuyama, *Methods Mol. Biol.*, 2011, **683**, 465.
- [39] J.R. Marks, J. Placone, K. Hristova, W.C. Wimley, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, **133**, 8995.
- [40] F. Nakayama, T. Yasuda, S. Umeda, M. Asada, T. Imamura, V. Meineke, M. Akashi, *J. Biol. Chem.*, 2011, **286**, 25823.
- [41] C.-Y. Jiao, D. Delaroche, F. Burlina, I. D. Alves, G. Chassaing, S. Sagan, *J. Biol. Chem.*, 2009, **284**, 33957.
- [42] K. Park, *J. Control. Release.*, 2011, **153**, 117.
- [43] P.A. Wender, D.J. Mitchell, K. Pattabiraman, E.T. Pelkey, L. Steinman, J.B. Rothbard, *PNAS*, 2000, **97**, 1300.
- [44] M. Magzoub, L.E. Eriksson, A. Graslund, *Vesicles Biophys. Chem.*, 2003, **103**, 271.
- [45] D.I. Chan, E.J. Prenner, H.J. Vogel, *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, **1758**, 1184.
- [46] C. Bechara, M. Pallerla, Y. Zaltsman, F. Burlina, I.D. Alves, O. Lequin, S. Sagan, *FASEB J.*, 2012, **27**, 738.
- [47] E.P. Loret, E. Vives, P.S. Ho, H. Rochat, J.J. Van Rietschoten, W.C. Johnson, *Biochemistry*, 1991, **30**, 6013.
- [48] E. Vives, P. Brodin, B. Lebleu, *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**, 16010.
- [49] E. Vives, C. Granier, P. Prevot, B. Lebleu, *Lett. Pept. Sci.*, 1997, **4**, 429.
- [50] T. Suzuki, S. Futaki, M. Niwa, S. Tanaka, K. Ueda, Y. Sugiura, *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 2437.
- [51] E. Vives, J. Richard, C. Rispal, B. Lebleu, *Curr. Protein Pept. Sci.*, 2003, **2**, 125.
- [52] J.P. Richard, K. Melikov, E. Vives, C. Ramos, B. Verbeure, M.J. Gait, L.V. Chernomordik, B. Lebleu, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 585.

- [53] P.E.G. Thorén, D. Persson, E.K. Esbjörner, M. Goksör, P. Lincoln, B. Nordén, *Biochemistry*, 2004, **43**, 3471.
- [54] A. Ziegler, X. L. Blatter, A. Seelig, J. Seelig, *Biochemistry*, 2003, **42**, 9185.
- [55] A. Ziegler, J. Seelig, *Biophys. J.*, 2004, **86**, 254.
- [56] S. Console, C. Marty, C. García-Echeverría, R. Schwendener, K. Ballmer-Hofer, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 35109.
- [57] J.P. Richard, K. Melikov, H. Brooks, P. Prevot, B. Lebleu, L.V. Chernomordik, *J. Biochem.*, 2005, **280**, 15300.
- [58] A. Vendeville, F. Rayne, A. Bonhoure, N. Bettache, P. Montcourrier, B. Beaumelle, *Mol. Biol. Cell*, 2004, **15**, 2347.
- [59] T.B. Potocky, A.K. Menon, S.H. Gellman, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 50188.
- [60] P. Sazani, S.H. Kang, M.A. Maier, C. Wei, J. Dillman, J. Summerton, M. Manoharan, R. Kole, *Nucleic Acids Res.*, 2001, **29**, 3965.
- [61] I.M. Kaplan, J.S. Wadia, S.F. Dowdy, *J. Control. Release*, 2005, **102**, 247.
- [62] A. Fittipaldi, A. Ferrari, M. Zoppé, C. Arcangeli, V. Pellegrini, F. Beltram, M. Giacca, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 34141.
- [63] A. Mishra, G.H. Lai, N.W. Schmidt, V.Z. Sun, A.R. Rodriguez, R. Tong, L. Tang, J. Cheng, T.J. Deming, D.T. Kamei, G.C.L. Wong, *PNAS*, 2011, **108**, 16883.
- [64] P.M. Fischer, N.Z. Zhelev, S. Wang, J.E. Melville, R. Fähræus, D.P. Lane, *J. Pept. Res.*, 2000, **55**, 163.
- [65] D. Derossi, S. Calvet, A. Trembleau, A. Brunissen, G. Chassaing, A. Prochiantz, *J. Biol. Chem.*, 1996, **271**, 18188.
- [66] G. Mainguay, M.L. Montesinos, B. Lesaffre, B. Zevnik, M. Karasawa, R. Kothary, W. Wurst, A. Prochiantz, M. Volovitch, *Nat. Biotechnol.*, 2000, **18**, 746.
- [67] B. Christiaens, J. Grooten, M. Reusens, A. Joliot, M. Goethals, J. Vandekerckhove, A. Prochiantz, M. Rosseneu, *Eur. J. Biochem.*, 2004, **271**, 1187.
- [68] P.A. Wender, W.C. Galliher, E.A. Goun, L.R. Jones, T.H. Pillow, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008, **60**, 452.
- [69] B. López-García, J.F. Marcos, C. Abad, E. Pérez-Payá, *Biochim. Biophys. Acta*, 2004, **1660**, 131.
- [70] B. López-García, W. Ubhayasekera, R.L. Galloc, J.F. Marcos, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, **356**, 107.
- [71] A. Muñoz, J.F. Marcos, N.D. Read, *Mol. Microb.*, 2012, **85**, 89.
- [72] Y. Shai, *Biopolymers*, 2002, **66**, 236.
- [73] R. Fischer, M. Fotin-Mleczek, H. Hufnagel, R. Brock, *ChemBioChem.*, 2005, **6**, 2126.
- [74] A. Muñoz, E. Harries, A. Contreras-Valenzuela, L. Carmona, N.D. Read, J.F. Marcos, *PloS ONE*, 2013, **8**, e54813.
- [75] H. Binder G. Lindblom, *Biophys. J.*, 2003, **85**, 982.
- [76] P. Joanne, C. Galanth, N. Goasdoué, P. Nicolas, S. Sagan, S. Lavielle, G. Chassaing, C. El Amri, I.D. Alves, *Biochim. Biophys. Acta*, 2009, **1788**, 1772.
- [77] J.S. Wadia, S.F. Dowdy, *Curr. Protein Pept. Sci.*, 2003, **4**, 97.
- [78] A. Astriab-Fisher, D. Sergueev, M. Fisher, B.R. Shaw, R.L. Juliano, *Pharm. Res.*, 2002, **19**, 744.
- [79] M. Pooga, U. Soomets, M. Hällbrink, A. Valkna, K. Saar, K. Rezaei, U. Kahl, J.X. Hao, X.J. Xu, Z. Wiesenfeld-Hallin, T. Hökfelt, T. Bartfai, U. Langel, *Nat. Biotechnol.*, 1998, **16**, 857.
- [80] M. Hällbrink, A. Florén, A. Elmquist, M. Pooga, T. Bartfai, U. Langel, *Biochim. Biophys. Acta*, 2001, **101**, 1515.
- [81] R. Fischer, M. Fotin-Mleczek, H. Hufnagel, R. Brock, *ChemBioChem.*, 2005, **6**, 2126.
- [82] C. Sparr, N. Purkayastha, B. Kolesinska, M. Gengenbacher, B. Amulic, K. Matuschewski, D. Seebach, F. Kamena, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2013, **57**, 4689.

-
- [83] K. Kilk, S. El-Andaloussi, P. Järver, A. Meikas, A. Valkna, T. Bartfai, *J. Control. Release*, 2005, **103**, 511.
- [84] D.J. Glover, H.J. Lipps, D.A. Jans, *Nat. Rev. Genet.*, 2005, **6**, 299.
- [85] L. Crombez, A. Charnet, M.C. Morris, G. Aldrian-Herrada, F. Heitz, G. Divita, *Biochem. Soc. Trans.*, 2007, **35**, 44.
- [86] P. Kumar, H. Wu, J.L. McBride, K.E. Jung, M.H. Kim, B.L. Davidson, *Nature*, 2007, **7149**, 39.
- [87] C. Wang, L. Qiao, Q. Zhang, H. Yan, K. Liu, *Int. J. Pharm.*, 2012, **430**, 372.
- [88] J. Bian, Z.B. Popovic, C. Benejam, M. Kiedrowski, L.L. Rodriguez, *M.S. Penn, Circ. Res.*, 2007, **100**, 1626.
- [89] H. Lee, R. Jefferies, P. Watt, R. Hopkins, F. Sotzik, S. Reid, A. Armson, A. Boxell, U. Ryan, *Exp. Parasitol.*, 2008, **118**, 303.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 grudnia 2014

**ENANCJOSELEKTYWNA ENZYMATYCZNA
DESYMETRYZACJA KATALIZOWANA
OKSYDOREDUKTAZAMI.
REAKCJE UTLENIANIA. CZĘŚĆ I**

**ENANTIOSELECTIVE ENZYMATIC
DESYMMETRIZATION CATALYZED
BY OXIDOREDUCTASES.
OXIDATION REACTIONS. PART I**

**Aleksandra Karczmarska-Wódzka^{*1},
Renata Kołodziejska^{*1}, Agnieszka Tafelska-Kaczmarek²,
Renata Studzińska³, Marcin Wróblewski¹,
Beata Augustyńska¹**

¹ *Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika,
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

² *Katedra Chemii Organicznej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika,
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń*

³ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej,
Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. dr. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz*

**e-mail: akar@cm.umk.pl*

**e-mail: Renatakol@poczta.fm*

Abstract

Wprowadzenie

1. Enzymatyczny rozdział kinetyczny
2. Biokatalityczny rozdział kinetyczny alkoholi drugorzędowych
3. Enzymatyczna reakcja desymetryzacji w obecności dehydrogenazy jako katalizatora
4. Monooksygenazy w reakcjach utleniania
5. Monooksygenazy Baeyer-Villigera

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



Dr Aleksandra Karczmarska-Wódzka, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



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



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



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



Dr Marcin Wróblewski, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autora obejmują syntezę organiczną z wykorzystaniem enzymów jak również syntezę zmodyfikowanych nukleozydów pirymidynowych.



Dr hab. n. med. Beata Augustyńska, kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują ocenę stanu oksydacyjnego z zastosowaniem enzymatycznych i nieenzymatycznych wykładników.

ABSTRACT

The main advantage of biotransformation involving enzymes, compared to chemical processes, is a highly selective formation of products with precise configuration. Herein we describe enzymes participating in the oxidation processes, especially dehydrogenases and monooxygenases.

Dehydrogenases are not only able to catalyze the enantioselective reduction of prochiral ketones, but they can also desymmetrize *meso* and prochiral diols through the enantioselective oxidation. As a result of this processes, optically active hydroxyketones, hydroxycarboxylic acids, and their derivatives are obtained.

Cytochrome P450 monooxygenases (CYPs) constitute a family of heme-containing enzymes which exhibits a variety of catalytic activities. They catalyze different reactions, such as hydroxylation, epoxidation, oxidative deamination, or *N*- and (*S*)-oxidation. In the oxidation reaction with monooxygenases, the whole cells are commonly used as catalysts. The use of monooxygenases in the oxidation reaction of prochiral alkanes provides the optically active alcohols. It is very significant that these transformations are still difficult to carry out by chemical methods.

Baeyer-Villiger monooxygenases (BVMO EC 1.14.13.X) effectively catalyze the nucleophilic and electrophilic oxidation reactions of various functional groups. BVMO are highly regio- and stereoselective enzymes, and their catalytic potential is used in the synthesis of optically pure lactones and esters.

Keywords: dehydrogenase, monooxygenase, oxidation reaction

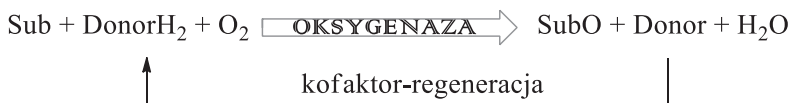
Słowa kluczowe: dehydrogenaza, monooksygenaza, reakcja utleniania

WPROWADZENIE

Oksydoreduktazy, należą do enzymów wykorzystywanych w reakcjach redoks. W tej klasie enzymów możemy wyróżnić trzy podklasy. Do jednej z nich należą dehydrogenazy. Wśród nich wyróżnić możemy szeroko stosowane w reakcjach utlenienia pierwszo- i drugorzędowych alkoholi oraz w reakcjach redukcji związków karbonylowych dehydrogenazy alkoholowe (ADH) zwane również ketoreduktazami (KRED). Chociaż kataliza homogeniczna jest wciąż wysoce konkurencyjną katalityczną metodą do otrzymania chiralnych alkoholi, to wzrastająca liczba przykładów pokazuje, że dehydrogenazy alkoholowe mogą przewyższać alternatywne rozwiązania chemiczne.

Kolejną podklasą są oksygenazy, ich nazwa wiąże się z używaniem tlenu cząsteczkowego jako kosubstratu. Wykazano, że ta grupa enzymów, jest szczególnie przydatna w reakcjach hydroksylowania i epoksydowania, ponieważ katalizuje utlenianie wiązania C-H i C=C. Chociaż mechanizmy reakcji z zastosowaniem różnych monoooksygenaz różnią się znacznie w zależności od podtypów enzymu, jednak sposób aktywacji tlenu jest taki sam. Podczas gdy jeden z atomów tlenu O₂ jest przenoszony na substrat, drugi jest redukowany z wytworzeniem cząsteczki wody. Ten ostatni wymaga dwóch elektronów, które pochodzą od kofaktora, najczęściej jest to NADH lub NADPH, służąc jako donor (Schemat 1).

Oksydazy, to trzecia podklasa oksydoreduktaz, która jest odpowiedzialna za przenoszenie elektronów. Odgrywa ona najmniejszą rolę w biotransformacji nie-naturalnych związków organicznych, jednakże ich zastosowanie w ostatnim czasie ciągle rośnie.



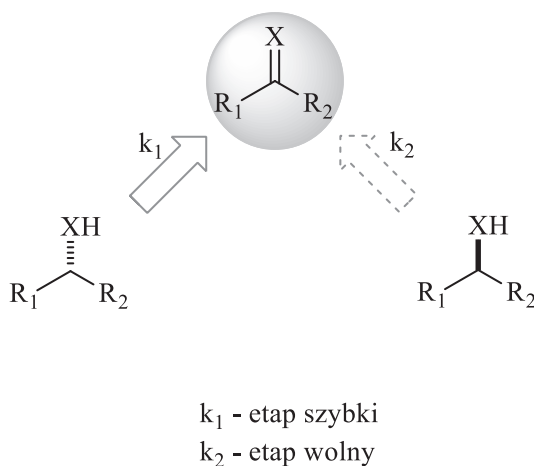
Schemat 1. Enzymatyczne reakcje utlenienia

Scheme 1. Enzymatic oxidation reactions

Enancjowzbożone alkohole i aminy są ważnymi związkami stosowanymi w syntezie asymetrycznej, zarówno ze względu na ich występowanie w produktach naturalnych oraz w środkach farmaceutycznych, a także z uwagi na ich użyteczność jako produkty pośrednie. Jednakże istnieje stosunkowo niewiele metod ich otrzymywania, gdyż zazwyczaj uzyskuje się odpowiednie związki racemiczne. Generowanie enancjowzbożonych alkoholi i amin z odpowiednich racematów przez enzymatyczne utlenianie, oksydacyjną deracemizację, może być efektywną i praktyczną drogą do otrzymania tych wartościowych związków. Ta deracemizacja może być uzyskana przez rozdział kinetyczny, w którym niepożądany enancjomer jest oddzielony od odpowiedniego produktu utleniania.

1. ENZYMATYCZNY ROZDZIAŁ KINETYCZNY

Utlenianie alkoholi do związków karbonylowych stanowi fundament współczesnej chemii organicznej. Utlenianie amin do imin jest reakcją mniej powszechną, ale dobrze znaną. Kluczem rozdziału kinetycznego jest różnica szybkości reakcji dwóch enancjomerów w stosunku do związku wyjściowego. Podczas reakcji utleniania asymetrycznych alkoholi i amin, jeden z enancjomerów ulega przekształceniu odpowiednio w keton lub iminę, pozostawiając tym samym drugi z enancjomerów nieprzereagowany (Schemat 2) [1].



Schemat 2. Enancjoselektywne utlenianie

Scheme 2. The enantioselective reaction

Stałe szybkości reakcji dwóch enancjomerów (k_1 i k_2) dyktują efektywność rozdziału kinetycznego ($s = k_1/k_2$) [2]. Ten współczynnik selektywności może być wyznaczony doświadczalnie przez pomiar stopnia przereagowania (C) i nadmiaru enancjomerycznego alkoholu (ee):

$$s = \frac{k_1}{k_2} = \frac{\ln[(1 - ee)(1 - C)]}{\ln[(1 + ee)(1 - C)]}$$

W wielu przypadkach utleniający rozdział kinetyczny jest opłacalną i praktyczną metodą pomagającą w uzyskaniu wzbogaconych alkoholi i amin [3].

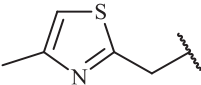
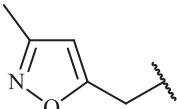
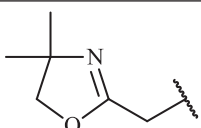
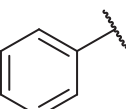
2. BIOKATALITYCZNY ROZDZIAŁ KINETYCZNY ALKOHOLI DRUGORZĘDOWYCH

Enancjomerycznie czyste alkohole drugorzędowe są powszechnie stosowane jako feromony, substancje zapachowe oraz wzmacniające smak, a także jako związki pośrednie i pomocniki chiralne w syntezie organicznej [4, 5]. Utlenianie za pomocą wyizolowanych enzymów lub zawierających je komórek mikroorganizmów prowadzi się w roztworach wodnych i zazwyczaj z użyciem nietoksycznych reagentów. Aspekt ten sprawia, że proces taki jest bardziej pożądanym z punktu widzenia ochrony środowiska.

W układach zawierających komórki *Bacillus stearothermophilus* oraz *Pseudomonas paucimobilis* zachodzi utlenianie alkoholi drugorzędowych z bardzo wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (Schemat 3). Podczas kinetycznego rozdziału racemicznych alkoholi alkilowych, arylowych i heterocyklicznych przy udziale tych mikroorganizmów otrzymuje się odpowiednie (*R*)-alkohole [6–10].



R	Mikroorganizm	Czas (godz.)	Konw.	ee (%)
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	144	49	95
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	96	50	>99
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	48	52	>99
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	49	51	72
	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	40	42	100
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	48	60	95
	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	48	45	74

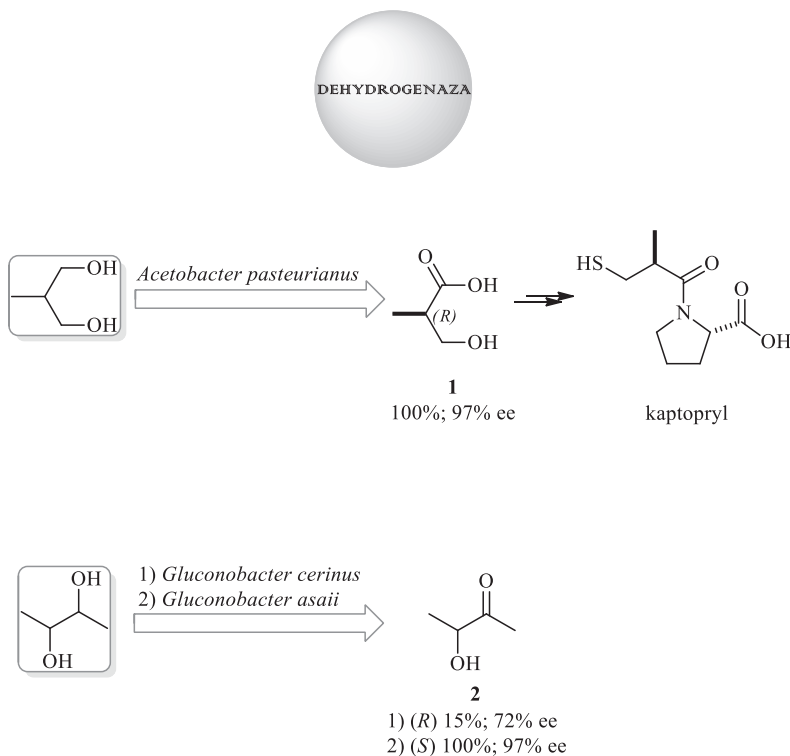
R	Mikroorganizm	Czas (godz.)	Konw.	ee (%)
	<i>Bacillus stearothermophilus</i> <i>Pseudomonas paucimobilis</i>	48 48	52 55	98 100
	<i>Bacillus stearothermophilus</i> <i>Pseudomonas paucimobilis</i>	48 48	10 44	16 90
	<i>Bacillus stearothermophilus</i> <i>Pseudomonas paucimobilis</i>	48 48	10 39	5 95
	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	6	53	85
$(\text{CH}_2)_2\text{CH}=\text{CMe}_2$	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	3	52	98
$(\text{CH}_2)_2\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	4	51	100
$(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{CH}$	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	20	51	99

Schemat 3. Utleniający rozdział kinetyczny z udziałem *Bacillus stearothermophilus* i *Pseudomonas paucimobilis*
Scheme 3. Oxidative kinetic resolution with *Bacillus stearothermophilus* and *Pseudomonas paucimobilis*

3. ENZYMATYCZNA REAKCJA DESYMETRYZACJI PROCHIRALNYCH DIOLI

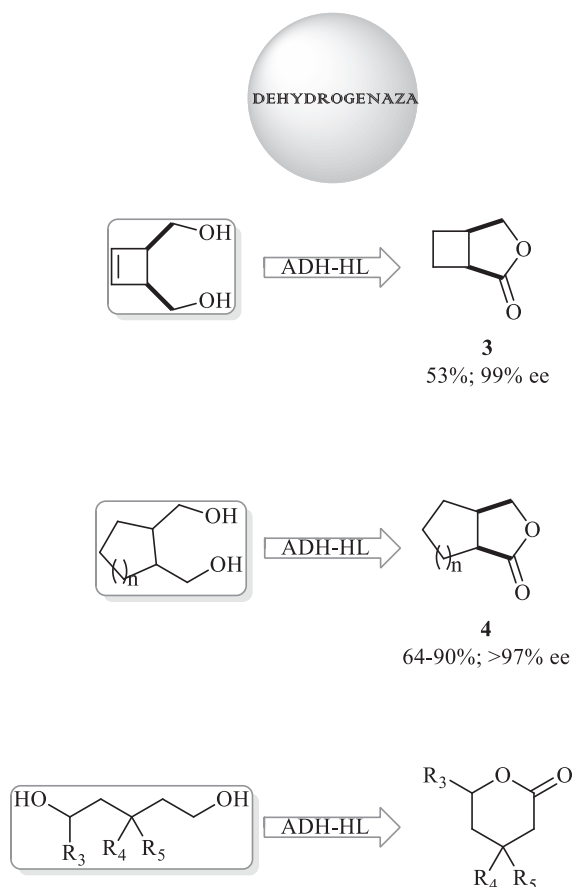
Dehydrogenazy, podczas reakcji enancjoselektywnego utleniania, katalizują nie tylko enancjoselektywne reakcje redukcji prochiralnych ketonów, ale również przeprowadzają desymetryzację *mezo*- i prochiralnych dioli. W wyniku tego procesu pozyskiwane są optycznie czynne hydroksyketony, kwasy karboksylowe i ich pochodne. Na przykład, czysty optycznie kwas (*R*)-3-hydrokso-2-metylopropionowy (**1**) otrzymano w asymetrycznej reakcji utleniania prochiralnego 2-metylo-1,3-propanodiolu w obecności jednego ze szczepu bakterii kwasu octowego *Acetobacter pasteurianus* DSM 8937 (Schemat 4). Otrzymany kwas, jest kluczowym związkiem pośrednim w syntezie kaptoprylu, leku z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny, który jest stosowany w nadciśnieniu tętniczym, zastoinowej niewydolności krążenia, a także po zawale mięśnia sercowego [11].

Hydroksyketon (**2**) uzyskano w reakcji biotransformacji *mezo*-2,3-butanodiolu (Schemat 4). Zastosowanie enzymów bakterii kwasu octowego należące do rodzaju *Acetobacter* oraz *Gluconobacter* umożliwia otrzymanie obu enancjomerów. W reakcji z *G. cerinus* DSM 9534 uzyskano produkt o konfiguracji *R*, natomiast użycie *G. asaii* MIM 1000/9 prowadzi do (*S*)-hydroksyketonu [12].



Schemat 4. Reakcja utleniania w obecności dehydrogenazy pochodzącej z różnych drobnoustrojów
 Scheme 4. The oxidation reaction in the presence of dehydrogenase from various microorganisms

W reakcji utleniania katalizowanej dehydrogenazą alkoholową wyizolowaną z wątroby końskiej (ADH-HL) *mezo*- i prochiralne pierwszorzędowe diole są przekształcane w hydroksyaldehydy, które następnie tworzą stabilne pięcio-, sześć- oraz siedmioczłonowe hemiacetale. Dalsze utlenianie hemiacetali przez ADH-HL prowadzi do uzyskania odpowiednich laktonów. ADH-HL preferencyjnie utlenia tylko jedną z pierwszorzędowych grup wodorotlenowych pro-S w związkach prochiralnych lub grupę -OH o konfiguracji (S) w *mezo*-diolach. W wyniku reakcji utleniania *mezo*-1,4-dioli, w wyniku selektywnej biotransformacji grupy -OH o konfiguracji (S), otrzymuje się czyste enancjomerycznie γ -laktony (Schemat 5, związek **3**, **4**) [13, 14]. Regioselektywne utlenianie acyklicznych pierwszo- i drugorzędowych 1,5- i 1,6-dioli w reakcji katalizowanej ADH-HL prowadzi do otrzymania δ - i ϵ -laktonów (Schemat 5, **5**) [15]. Najwyższe nadmiary enancjomeryczne uzyskano w reakcji z 1,6-diolami.



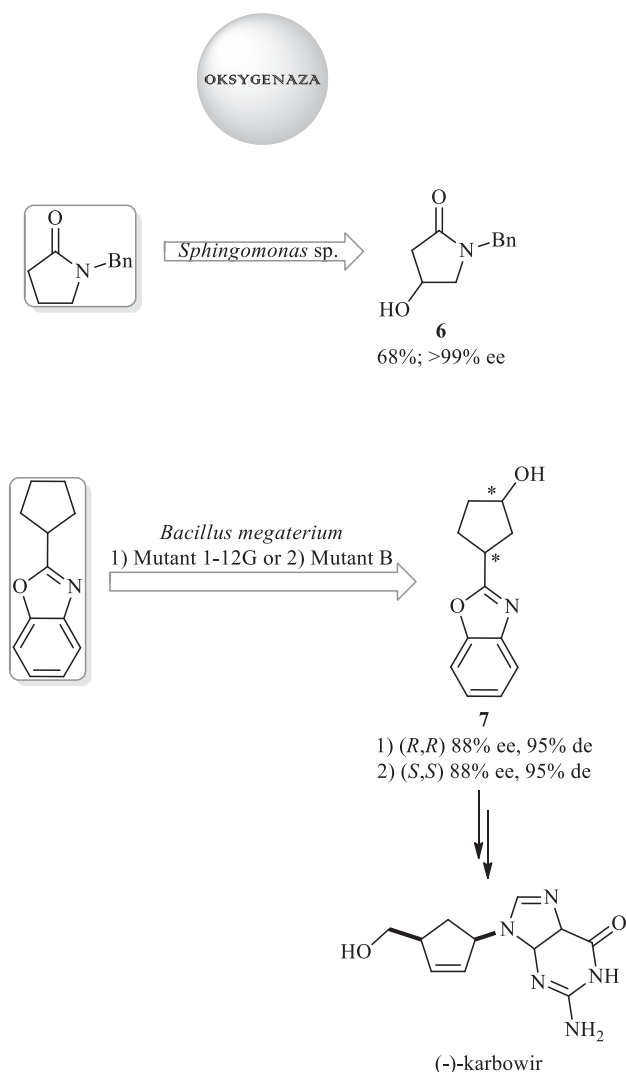
Schemat 5. Reakcja utleniania katalizowana dehydrogenazą wyizolowaną z wątroby końskiej
 Scheme 5. The oxidation reaction catalyzed by dehydrogenase isolated from horse liver

4. MONOOKSYGENAZY W REAKCJACH UTLENIANIA

Monooksygenazy cytochromu P450 (CYPs) należą do rodziny enzymów zawierającej hem i wykazujących różnorodne działanie katalityczne. Katalizują między innymi reakcje hydroksylacji, epoksydacji, oksydacyjnej deaminacji, *N*- oraz (*S*)-oksydacji. W reakcji utleniania monooksygenazami najczęściej stosuje się całe komórki jako katalizatory. Zastosowanie monooksygenaz w reakcji hydroksylowania prochiralnych alkanów umożliwia uzyskanie optycznie czynnych alkoholi. Jest to o tyle ważne, że transformacje te są wciąż trudne do przeprowadzenia za pomocą metod chemicznych. Hydroksylowanie nieaktywnych wiązań C-H w *N*-benzylol-pirolidyno-2-onie, katalizowane komórkami *Sphingomonas sp.*, pozwoliło otrzymać enancjomerycznie czysty (*S*)-*N*-benzylol-4-hydroksypirolidyno-2-on (**6**) z 75% konwersją (Schemat 6) [16]. Reakcję prowadzono w obecności 2% roztworu glu-

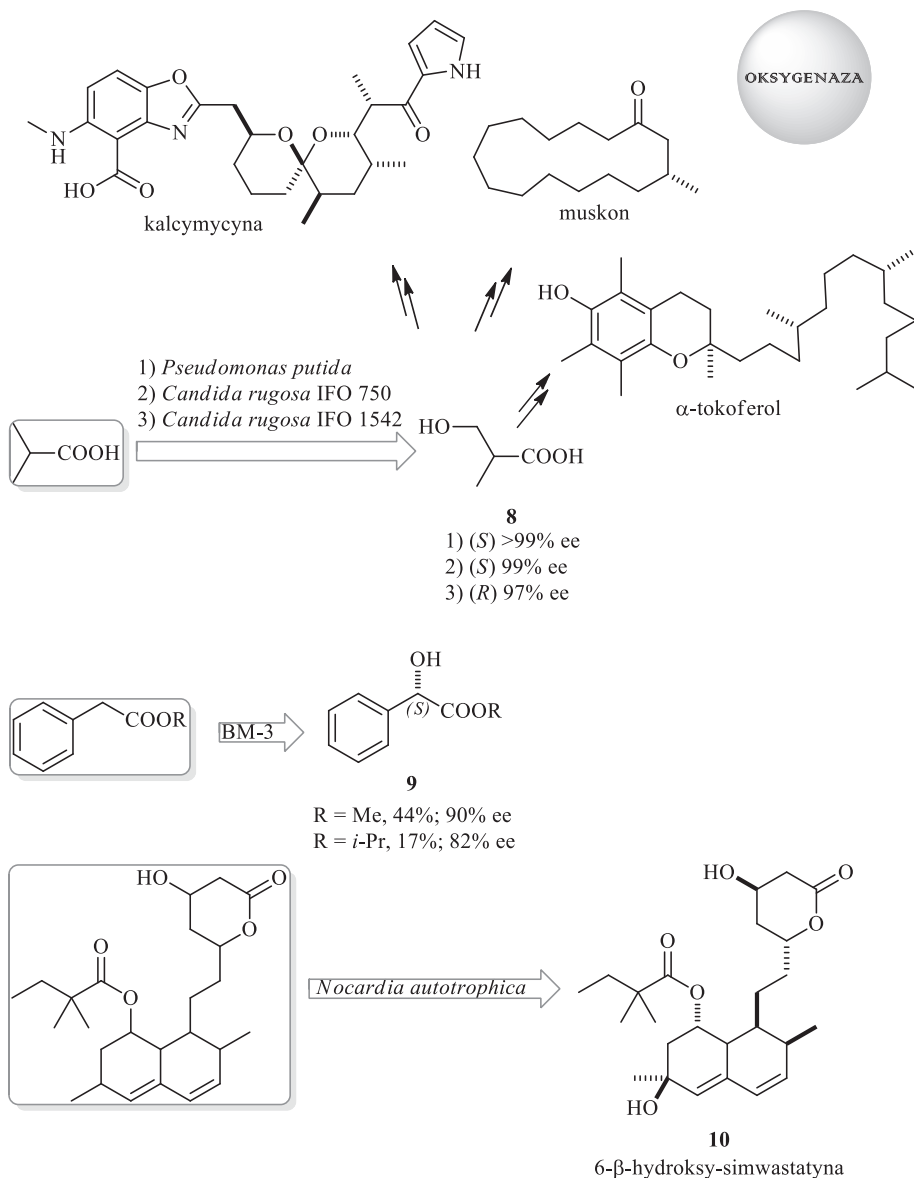
kozy, potrzebnej do regeneracji kofaktora. Otrzymany związek jest półproduktem w syntezie antybiotyków.

W reakcji hydroksylowania 2-cyklopentylbenzooksazolu użyto zmutowanych enzymów BM-3 z *Bacillus megaterium*. Produkt tej reakcji jest wykorzystywany jako związek wyjściowy w syntezie karbowiru, nukleozydu o potencjalnym działaniu przeciwko ludzkiemu wirusowi upośledzenia odporności HIV (Schemat 6, związek 7) [17].



Schemat 6. Oksygenazy w reakcji utleniania prochiralnych alkanów

Scheme 6. Oxygenases in the oxidation reaction of prochiral alkanes



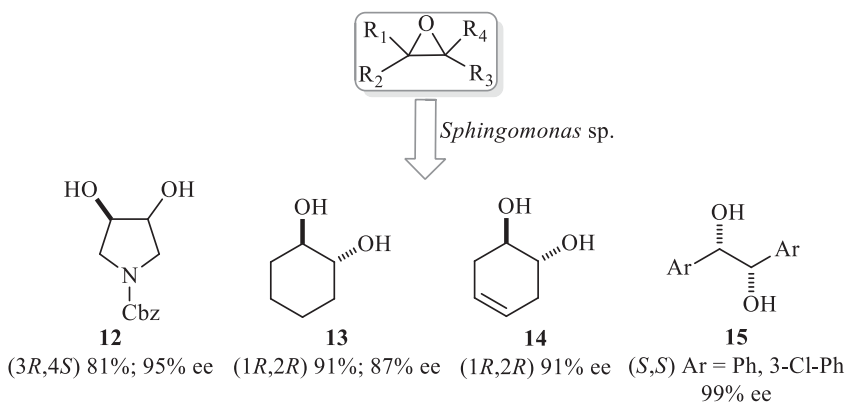
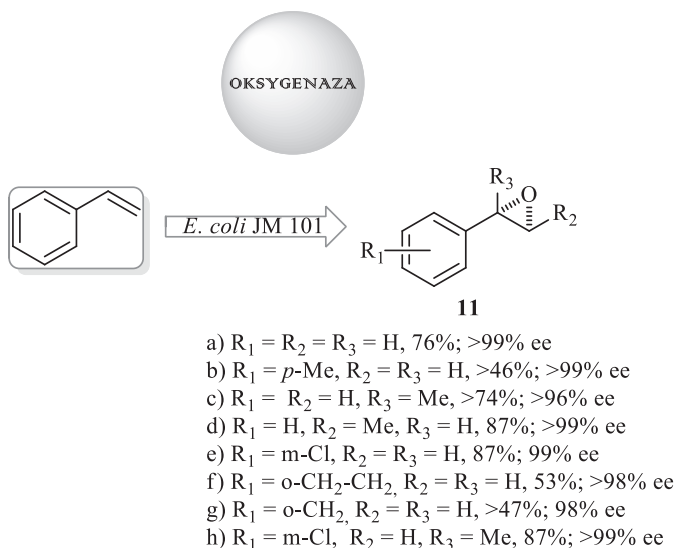
Schemat 7. Przykłady zastosowania oksygenazy w reakcji utleniania

Scheme 7. Examples of application the oxygenase in the oxidation reaction

Optycznie czynny kwas β-hydroksyizomasłowy (Schemat 7, 8) otrzymano podczas asymetrycznej reakcji hydroksylowania kwasu izomasłowego. W zależności od użytego mikroorganizmu uzyskano oba enancjomery. *Pseudomonas putida* ATCC 21244 oraz *Candida rugosa* IFO 750 prowadzą do otrzymania czystego optycznie (S) enancjomeru, natomiast *Candida rugosa* IFO 1542 daje enancjomer o konfiguracji (R) z wysokim nadmiarem enancjomerycznym. Otrzymany hydroksykwas

jest stosowany jako związek wyjściowy do syntezy witamin (α -tokoferol), substancji zapachowych (np. muskon), a także antybiotyków (np. kalmycyna) [18–20]. Selektowna hydroksylacja różnych estrów kwasu 2-arylooctowego prowadzi do otrzymania odpowiednich estrów kwasu (*S*)-migdałowego z wysoką wydajnością chemiczną i optyczną (Schemat 7, **9**). Estry metylowe i propylowe kwasu (*S*)-migdałowego otrzymano odpowiednio z 90% i 82% nadmiarem enancjomerycznym. Pochodne kwasu migdałowego działają jako inhibitory trombiny [21].

W wyniku regioselektywnej reakcji utleniania simwastatyny w obecności *Nocardia autotrophica*, leku zmniejszającego stężenie lipidów we krwi, otrzymano jego hydroksylowy odpowiednik. Preferencyjne hydroksylowanie ugrupowania alilowego umożliwia otrzymanie 6- β -hydroksy-simwastatyny (Schemat 7, **10**) [22].



Schemat 8. Enzymatyczne reakcje epoksydowania olefin

Scheme 8. Enzymatic epoxidation of olefins

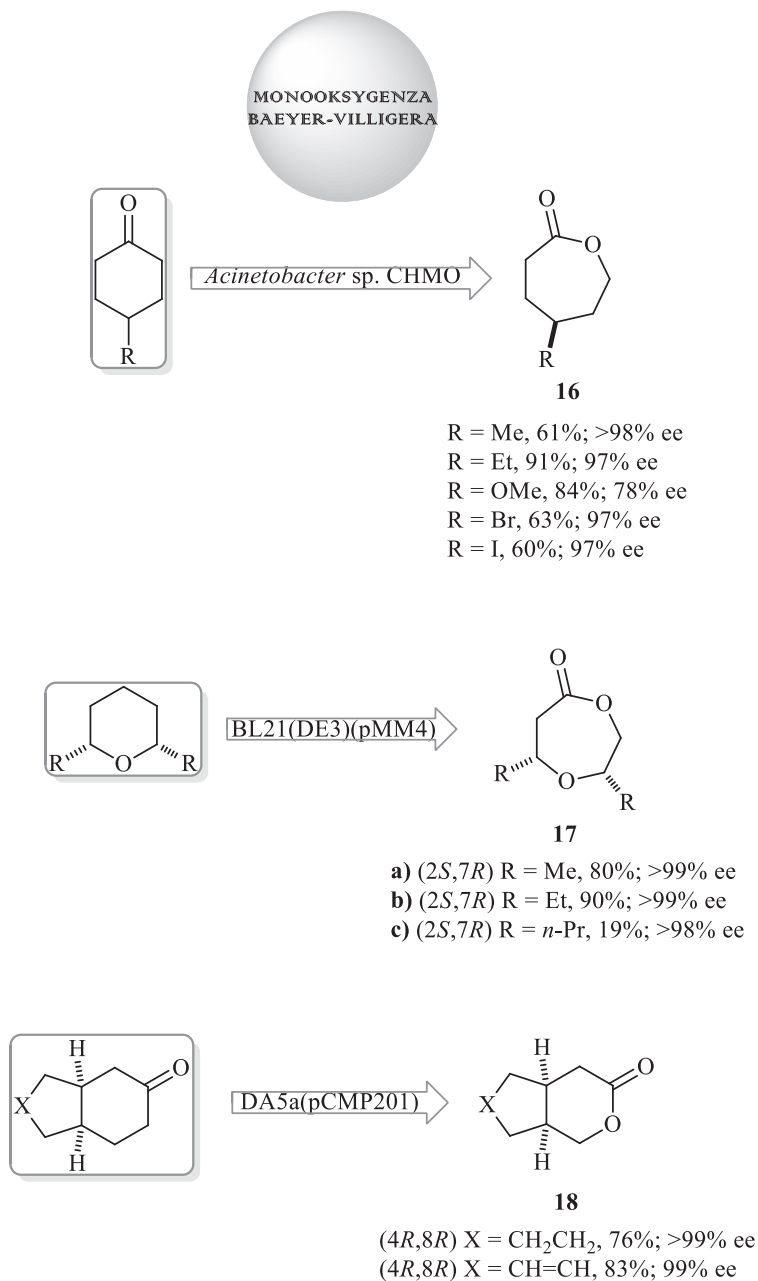
Monooksygenazy mogą również katalizować enzymatyczne reakcje epoksydowania olefin. Użycie rekombinowanych komórek *E. coli* zawierających monooksygenazę styrenową, w reakcjach epoksydowania styrenów, prowadzi do otrzymania odpowiednich optycznie czynnych oksiranów z dobrymi wydajnościami (Schemat 8, **11**). W przypadku związków **11a-c** i **11e** otrzymujemy (1*S*,2*S*)-izomery, a związki **11d**, **11f-h** dają diastereoizomery o konfiguracji (1*S*,2*R*).

Doskonałe wydajności i nadmiary enancjomeryczne styrenów otrzymano również podczas reakcji epoksydowania katalizowanej monooksygenazą styrenową z *Pseudomonas* sp. **11c,e,h** [23, 24]. W asymetrycznej reakcji hydrolizy epoksydów katalizowanej *Sphingomonas* sp. otrzymano *trans*-diolę z 95% nadmiarem enancjomerycznym w przypadku **12** i 87% nadmiarem enancjomerycznym dla związku **13** (Schemat 8, **12** i **13**). W wyniku działania różnych naturalnych hydrolaz epoksydowych można w sposób selektywny hydrolizować cały szereg cyklicznych i arylowych *mezo*-epoksydów z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi otrzymując chiralne (*R,R*)-**14** lub (*S,S*)-**15** diole [25–27].

5. MONOOKSYGENAZY BAEYER-VILLIGERA

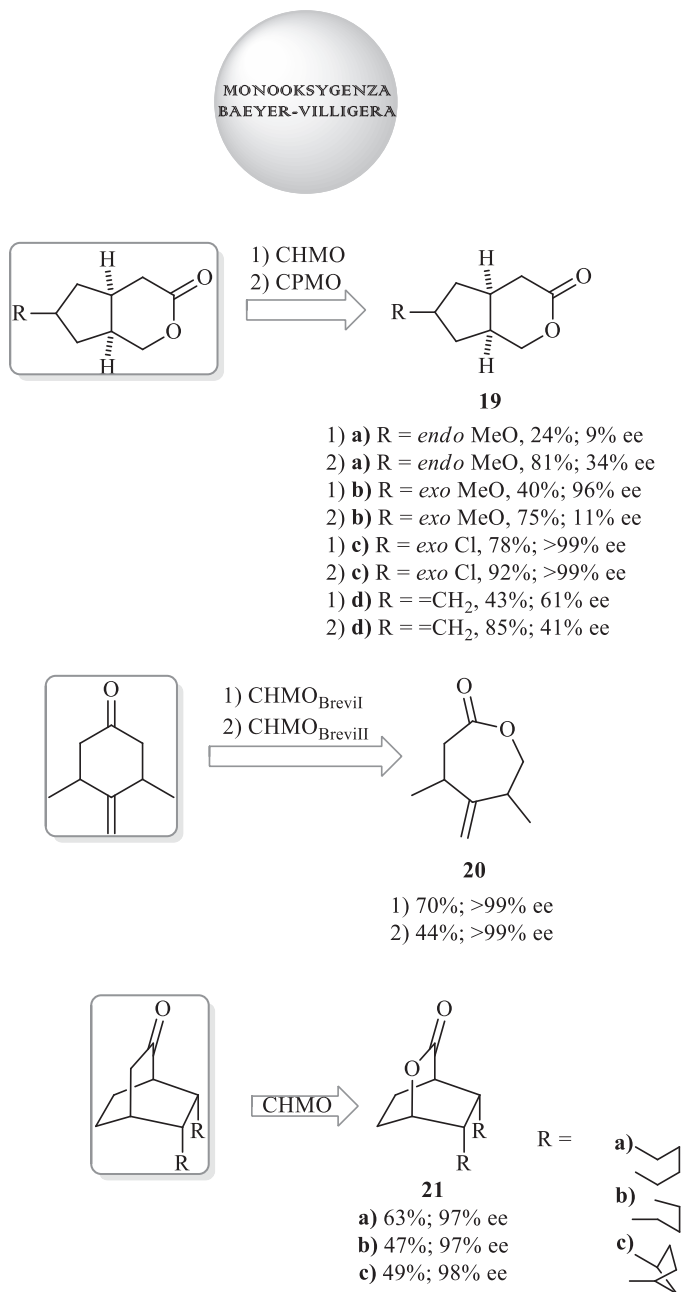
Monooksygenazy Baeyer-Villigera (BVMO EC 1.14.13.X) skutecznie katalizują reakcje nukleofilowego i elektrofilowego utleniania różnych grup funkcyjnych. Działanie BVMO jest wysoce regio- i stereoselektywne, a ich potencjał katalityczny najczęściej jest wykorzystywany w syntezie czystych optycznie laktonów i estrów. Najchętniej stosowanym biokatalizatorem w reakcji utleniania Baeyer-Villigera jest monooksygenaza cykloheksanowa (CHMO) z *Acinetobacter calcoaceticus* NCIMB.

W reakcji Baeyer-Villigera katalizowanej całymi komórkami bakterii szczepu *E. coli* z nadekspresją genu CHMO z *Acinetobacter* sp. NCIB 9871 selektywnie utleniono różne 4-mono- i 4,4-dipodstawione cykloheksanony do (*S*)-laktonów (Schemat 9, **16**) [28]. Rekombinowane komórki *E. coli* BL21(DE3)/pMM4 CHMO z *A. calcoaceticus* NCIMB 9871 zastosowano w reakcji utleniania *cis*-2,6-dialkiloperhydropirany do laktonów (Schemat 9, **17**). Wielkość grupy R istotnie wpływa na konwersję substratów. Ketony zawierające krótkołańcuchowe reszty alkilowe, takie jak metylowe **17a** i etylowe **17b** są utleniane ze znakomitą wydajnością. Wydłużenie łańcucha skutkowało zdecydowanym obniżeniem wydajności lub nawet brakiem reakcji [29]. Cykliczne laktony otrzymano ze znakomitą wydajnością i enancjoselektywnością w reakcji biotransformacji prochiralnych bicyklo[4.3.0] ketonów w obecności rekombinowanej *E. coli* z *Comamonas* sp. NCIMB 9872 z nadekspresją CPMO (Schemat 9, **18**) [30].



Schemat 9. Reakcje utleniania za pomocą BVMO

Scheme 9. Oxidation reactions via BVMO



Schemat 10. Utlenianie bicyklicznych ketonów z użyciem CPMO i CHMO jako katalizatora
 Scheme 10. Oxidation of bicyclic ketones by CPMO and CHMO as a catalyst

Inne bicykliczne ketony w reakcji Baeyer-Villigera utleniono za pomocą dwóch enzymów CPMO i CHMO pochodzących z rekombinowanego szczepu

E. coli z *Comamonas* sp. NCIMB 9872 i *Acinetobacter* sp. NCIMB 9871. W przypadku biotransformacji, obecność podstawnika w położeniu egzo determinowała czystość optyczną uzyskanego produktu. Ponadto mniej polarna grupa funkcyjna (Cl < MeO), w sposób korzystny wpływała na poprawę wydajności i enancjoselektywności [31]. Podobnie reakcja utleniania mezo i prochiralnych bicyklicznych ketonów przebiegała przy użyciu dwóch nowych monooksygenaz CHMOBreviI i CHMOBreviII otrzymanych z rekombinowanych komórek *E. coli* z *Brevibacterium* sp. i prowadzi do czystych enancjomerycznie laktonów. W przypadku nienasyconych regentów utlenianie ketonów przebiegało w sposób chemoselektywny bez jednoczesnego epoksydowania wiązania podwójnego (Schemat 10, 19) [32]. Rekombinowane komórki z ekspresją monooksygenazową Bayer-Villinger z *Xanthobacter* sp. ZL5 używano w biotransformacji różnych prochiralnych ketonów. Selektywnie utleniane były nie tylko cykliczne ale również policykliczne substraty. Monooksygenaza cykloheksanowa jest w stanie utlenić substraty zawierające grupy duże przestrzennie z wysoką enancjoselektywnością (Schemat 10, 20) [33].

UWAGI KOŃCOWE

Przemiany z udziałem enzymów mają tę przewagę nad procesami czysto chemicznymi, że można w nich uzyskać selektywnie związek o określonej konfiguracji. W niniejszej pracy przedstawiono rodzaje enzymów biorących udział w procesach utleniania. Zestawiono również przykładowe reakcje z zastosowaniem dehydrogenaz i monooksygenaz jako katalizatorów.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.T. Mohr, D.C. Ebner, B.M. Stoltz, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 3571.
- [2] H.B. Kagan, J.C. Fiaud, *Top. Stereochem.*, 1988, **18**, 249.
- [3] J.M. Keith, J.F. Larrow, E.N. Jacobsen, *Adv. Synth. Catal.*, 2001, **343**, 5.
- [4] K. Mori, *Tetrahedron*, 1989, **45**, 3233.
- [5] J.D. Morrison, *Asymmetric Synthesis*, Academic Press, Orlando, 1984.
- [6] G. Fantin, M. Fogagnolo, A. Medici, P. Pedrini, S. Poli, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1993, **4**, 1607.
- [7] G. Fantin, M. Fogagnolo, P.P. Giovannini, A. Medici, P. Pedrini, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1995, **6**, 3047.
- [8] M. Fogagnolo, P.P. Giovanini, A. Guerrini, A. Medici, P. Pedrini, N. Colombi, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, **9**, 2317.
- [9] W. Adam, M. Lazarus, B. Boss, C.R. Saha-Moller, H.-U. Humpf, P. Schreier, *J. Org. Chem.* 1997, **62**, 7841
- [10] M.M. Musa, K.I. Ziegelmann-Fjeld, C. Vieille, J.G. Zeikus, R.S. Philips, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 30.
- [11] F. Molinari, R. Gandolfi, R. Villa, E. Urban, A. Kiener, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 2041.
- [12] A. Romano, R. Gandolfi, P. Nitti, M. Rollini, F. Mollinari, *J. Mol. Catal. B: Enzymol.*, 2002, **17**, 235.
- [13] C. Hertweck, W. Boland, *J. Prakt. Chem.*, 1997, **339**, 754.
- [14] E. Schoffers, A. Golebiowski, C.R. Johnson, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 3769.

- [15] F. Boratynski, G. Kielbowicz, C. Wawrzencyk, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2010, **65**, 30.
- [16] D. Chang, H.-J. Feiten, B. Witholt, Z. Li, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2002, **13**, 2141.
- [17] D.F. Munzer, P. Meinhold, M.W. Peters, S. Feichtenhofer, H. Griengl, F.H. Arnold, A. Glieder, A. de Raadt, *Chem. Commun.*, 2005, **20**, 2597.
- [18] N. Cohen, W.F. Eichel, R.J. Lopersti, C. Neukom, G. Saucy, *J. Org. Chem.*, 1976, **41**, 3505.
- [19] Q. Branca, A. Fischli, *Helv. Chim. Acta*, 1977, **60**, 925.
- [20] D.A. Evans, C.E. Sacks, W.A. Kleschick, T.R. Taber, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 6789.
- [21] M. Landwehr, L. Hochrein, C.R. Otey, A. Kasrayan, J.-E. Bäckvall, F.H. Arnold, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 6058.
- [22] K. Gbewonyo, B.C. Buckland, M.D. Lilly, *Biotechnol. Bioeng.*, 1991, **37**, 1101.
- [23] A. Schmid, K. Hofstetter, H.-J. Feiten, F. Hollmann, B. Witholt, *Adv. Synth. Catal.*, 2001, **343**, 732.
- [24] K. Hofstetter, J. Lutz, I. Lang, B. Witholt, A. Schmid, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2004, **43**, 2163.
- [25] D. Chang, Z. Wang, M.F. Heringa, R. Wirthner, B. Witholt, Z. Li, *Chem. Commun.*, 2003, 960.
- [26] D. Chang, M.F. Heringa, B. Witholt, Z. Li, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 8599.
- [27] L. Zhao, B. Han, Z. Huang, M. Miller, H. Huang, D.S. Malashock, Z. Zhu, A. Milan, D.E. Robertson, D.P. Weiner, M. J. Burk, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 11156.
- [28] M.D. Mihovilovic, G. Chen, S. Wang, B. Kyte, F. Rochon, M.M. Kayser, J.D. Stewart, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 733.
- [29] M.D. Mihovilovic, F.W. Rudroff, Kandioller, B. Grötzl, P. Stanetty, H. Spreitzer, Synlett, 2003, 1973.
- [30] M.D. Mihovilovic, B. Müller, M.M. Kayser, P. Stanetty, Synlett, 2002, 700.
- [31] M.D. Mihovilovic, B. Müller, A. Schulze, P. Stanetty, M.M. Kayser, *Eur. J. Org. Chem.*, 2003, 2243.
- [32] M.D. Mihovilovic, F. Rudroff, B. Müller, P. Stanetty, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2003, 1479.
- [33] D.V. Rial, D.A. Bianchi, P. Kapitanova, A. Lengar, J.B. van Beilen, M.D. Mihovilovic, *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, **7**, 1203.

Praca wpłynęła do Redakcji 19 czerwca 2014

**ENANCJOSELEKTYWNA ENZYMATYCZNA
DESYMTRYZACJA KATALIZOWANA
OKSYDOREDUKTAZAMI.
REAKCJE UTLENIANIA. CZĘŚĆ II**

**ENANTIOSELECTIVE ENZYMATIC
DESYMMETRIZATION CATALYZED
BY OXIDOREDUCTASES.
OXIDATION REACTIONS. PART II**

**Aleksandra Karczmarska-Wódzka^{*1},
Renata Kołodziejska^{*1}, Agnieszka Tafelska-Kaczmarek²,
Renata Studzińska³, Marcin Wróblewski¹,
Beata Augustyńska¹**

¹ *Katedra i Zakład Biochemii, Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz*

² *Katedra Chemii Organicznej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń*

³ *Katedra i Zakład Chemii Organicznej,
Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. dr. A. Jurasza 2, 85-089 Bydgoszcz*

**e-mail: akar@cm.umk.pl*

**e-mail: Renatakol@poczta.fm*

Abstract

Wprowadzenie

1. Dioksygenazy

2. Zastosowanie oksydaz w reakcjach desymetryzacji

3. Przykłady enzymatycznej reakcji desymetryzacji w obecności peroksydazy

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



Dr Aleksandra Karczmarzka-Wódzka, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



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



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



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



Dr Marcin Wróblewski, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autora obejmują syntezę organiczną z wykorzystaniem enzymów jak również syntezę zmodyfikowanych nukleozydów pirymidynowych.



Dr hab. n. med. Beata Augustyńska, kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują ocenę stanu oksydacyjnego z zastosowaniem enzymatycznych i nieenzymatycznych wykładników.

ABSTRACT

In continuation of our work, we herein describe next enzyme classes applied for oxidation reaction. Dioxygenases, oxidases, and peroxidases are successfully used in the synthesis of desymmetrization products with high yields and enantiomeric excesses.

Aromatic dioxygenases, such as toluene dioxygenase (TDO), naphthalene dioxygenase (NDO), and biphenyl dioxygenase (BPDO) found in the prokaryotic microorganisms are enzymes belonging to the dioxygenase class and are the most commonly used in organic synthesis.

The α -oxidation of various fatty acids in the presence of an α -oxidase from germinating peas is one of the few examples of oxidases application in asymmetric organic synthesis. The intermediary α -hydroxyperoxyacids can undergo two competing reactions: decarboxylation of the corresponding aldehydes or reduction to the (*R*)-2-hydroxy acids. In order to eliminate the competitive decarboxylation reaction tin(II) chloride is used as an *in situ* reducing agent.

Peroxidases are the redox enzymes found in various sources such as animals, plants, and microorganisms. Due to the fact that, in contrast to monooxygenases, no additional cofactors are required, peroxidases are highly attractive for the preparative biotransformation. Oxidation reactions catalyzed by (halo)peroxydases are also often used in organic synthesis. *N*-Oxidation of amines, for instance, leads to the formation of the corresponding aliphatic *N*-oxides, aromatic nitro-, or nitroso-compounds. From a preparative synthesis standpoint, however, sulfoxidation of thioether is important since it was proven to proceed in a highly stereo- and enantioselective manner. Furthermore, depending on the source of haloperoxidase, chiral sulfoxides of opposite configurations can be obtained.

Keywords: dioxygenase, oxidase, peroxidase, oxidation reaction

Słowa kluczowe: dioksygenaza, oksydaza, peroksydaza, reakcja utleniania

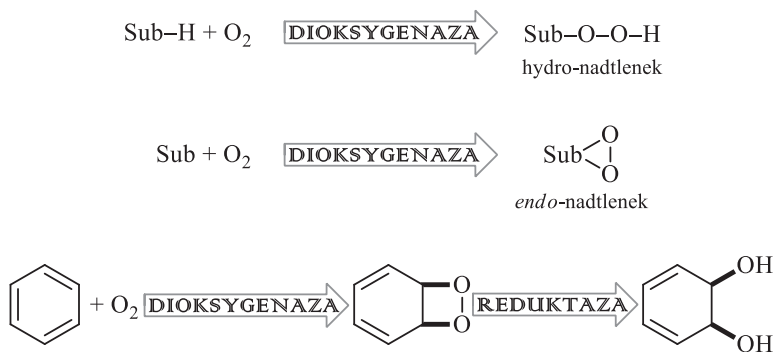
WPROWADZENIE

Enzymy zwane często biokatalizatorami wpływają na reakcje chemiczne zachodzące w organizmie nie zmieniając końcowego składu mieszaniny reagującej ani stałej równowagi danej reakcji. Białka te wykazują dużą swoistość w przyspieszaniu lub nadawaniu odpowiedniego kierunku reakcjom chemicznym. Dzięki biotransformacjom zachodzącym pod wpływem enzymów możliwe jest przeprowadzanie przemian związków organicznych z selektywnością rzadko osiąganą innymi metodami. Fakt ten stanowi ważny aspekt w dynamicznym rozwoju chemii organicznej.

Przyjmując mechanizm działania za kryterium umownego podziału enzymów klasy oksydoreduktaz w tej części przedstawiono przykłady reakcji enzymatycznego utleniania w obecności dioksygenaz, oksydaz i peroksydaz. Praca ta, jest kontynuacją wcześniejszych rozważań dotyczących reakcji redoks wobec białkowych katalizatorów.

1. DIOKSYGENAZY

Dioksygenazy należą do grupy oksygenaz, które utleniają substrat wbudowując do jego cząsteczki dwa atomy tlenu. W obrębie tej klasy enzymów wyróżnia się dioksygenazy rozrywające wiązania węgiel-węgiel oraz dioksygenazy hydroksylujące wprowadzające do pierścienia dwie grupy hydroksylowe. Są to niehemowe oksygenazy typu Riesego, które w centrum aktywnym zawierają kłaster [2Fe-2S] oraz posiadają jedno lub dwa białka transportujące elektrony. Typowe reakcje zachodzące wobec dioksygenazy przedstawione na Schemacie 1 zachodzą przy jednoczesnym przenoszeniu dwóch atomów tlenu na substrat [1, 2].



Schemat 1. Reakcje zachodzące wobec dioksygenazy

Scheme 1. Dioxygenases in the oxidation reactions

We wszystkich przypadkach, tworzą się bardzo reaktywne i niestabilne formy nadtlenkowe, które mogą być przedmiotem dalszych enzymatycznych lub chemicznych przekształceń, takich jak redukcja czy przegrupowanie. Alkany mogą być

utleniaane w pozycji allilowej przez lipooksygenazę, otrzymując wodoronadtlenek allilu, który po redukcji (np. borowodorkiem sodu) daje alkohol allilowy. Reaktywne formy tlenu takie jak nadtlenki lipidowe reagują ze składnikami organizmów żywych. Reakcje te mogą mieć niepożądane dla organizmów skutki, wywołując niektóre z poważnych chorób w tym miażdżycę czy nawet niektóre rodzaje nowotworów.

Enzymy należące do klasy dioksygenaz najczęściej wykorzystywane w syntezie organicznej to tzw. aromatyczne dioksygenazy znajdujące się w mikroorganizmach prokariotycznych, w tym dioksygenaza toluenowa (TDO), dioksygenaza naftalenowa (NDO), i dioksygenaza bifenyłowa (BPDO). Rekombinant szczepu *E. coli* JM109(pDTG141) z ekspresją genu NDO z *Pseudomonas sp.* NCIB 9816-4 został użyty do bioutleniania siarczków aryloalkilowych i diakilowych (Schemat 2) [3]. W wyniku takiego procesu w większości przypadków otrzymano optycznie czyste (*S*)-sulfotlenki. Siarczki aryloalkilowe **1b-d** posiadające *n*- i *izo*-alkilowe grupy z trzema lub większą liczbą atomów węgla oraz siarczki dialkilowe **1e-g** z podstawnikiem alkilowym zawierającym siedem lub większą liczbę atomów węgla zostały utlenione do enancjomerów o konfiguracji (*R*). Selektywność sulfoutleniania siarczków chlorofenylo-metylowych była uzależniona od położenia atomu chloru w pierścieniu aromatycznym. Im bliżej atomu siarki znajdował się ten podstawnik tym mniejszą wartość *ee* odnotowano, selektywność malała w szeregu 1,4->1,3->1,2-.



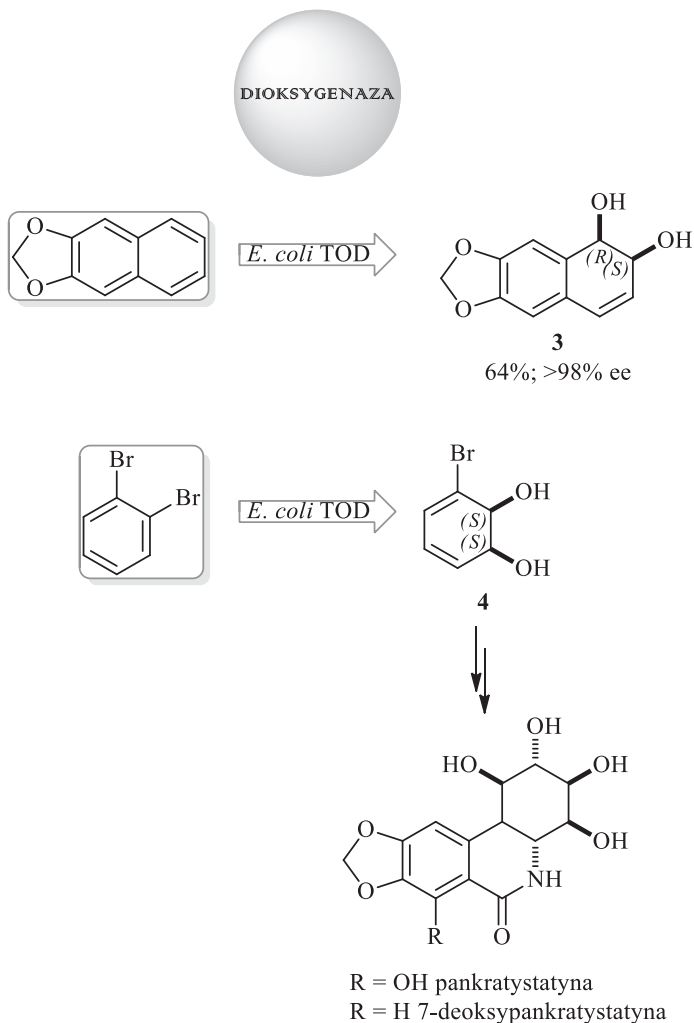
Siarczek	R1	R2	wyd. [%]	<i>ee</i> [%]	Konfig.
a	Ph	Me	98	98	<i>S</i>
b	Ph	Pr	58	76	<i>R</i>
c	Ph	iPr	69	74	<i>R</i>
d	Ph	Bu	25	97	<i>R</i>
e	Me	Hep	<5	3	<i>R</i>
f	Me	Oct	<5	4	<i>R</i>
g	Me	Nom	<5	5	<i>R</i>
h	4-Cl-Ph	Me	10	90	<i>S</i>
i	3-Cl-Ph	Me	21	75	<i>S</i>
j	2-Cl-Ph	Me	12	31	-

Schemat 2. Reakcja utleniania siarczków aryloalkilowych wobec *E. coli* JM109(pDTG141)

Scheme 2. Oxidation of aryl-alkyl sulfides by *E. coli* JM109(pDTG141)

W enzymatycznej reakcji dihydroksylacji dioksolu katalizowanej rekombinowanymi komórkami szczepu *E. coli* wykorzystującymi ekspresję genu dioksygenazy

z *Pseudomonas putida* G7 otrzymano optycznie czysty policykliczny (5*R*,6*S*)-diol z dobrą wydajnością (Schemat 3, **3**). Związek ten może mieć zastosowanie w syntezie analogów alkaloidu pankratystatyny. Dibromobenzeny (izomery 1,2-, 1,3- i 1,4-) zostały przekształcone do odpowiednich dioli *cis*-cykloheksadienowych metodą fermentacyjną całymi komórkami ze szczepu *E. coli* z nadekspresją genu TOD. Za pomocą tego szczepu w asymetrycznej syntezie uzyskano również (+)-pankratystatynę i (+)-7-deoksypankratystatynę (obiecujące środki przeciwnowotworowe). Jednym z produktów przejściowych był (1*S*,2*S*)-3-bromo-1,2-dihydroksycykloheksa-3,5-dien (Schemat 3, **4**) [4].



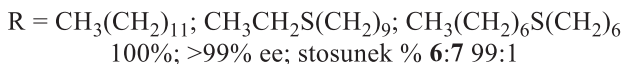
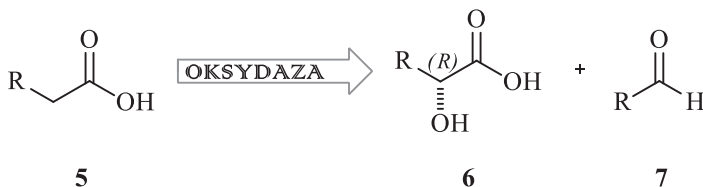
Schemat 3. Reakcje katalizowane dioksygenazami

Scheme 3. Dioxygenation catalyzed reactions

2. ZASTOSOWANIE OKSYDAZ W REAKCJACH DESYMETRYZACJI

Oksydazy (EC 1.1.3.X) biorą udział w reakcjach, w których tworzą się reaktywne formy tlenu (RFT). Należą do grupy oksydoreduktaz, w których elektrony lub atomy wodoru przenoszone są na atom tlenu. Niektóre z tych enzymów zawierają w centrum aktywnym jon metalu, inne obok jonu metalu zawierają dinukleotyd flawinoadeninowy jako koenzym. W przypadku tych pierwszych produktem jest woda, a produktem działania tych drugich nadtlenek wodoru.

Jednym z nielicznych przykładów zastosowania oksydaz w asymetrycznej syntezie organicznej jest przykład reakcji α -utlenienia różnych kwasów tłuszczowych w obecności α -oksydazy z kielkującego groszku. Jako związki pośrednie tworzą się kwasy α -hydroksonadtlenowe, które mogą ulegać dwóm konkurencyjnym reakcjom. Pierwsza to reakcja dekarboksylacji prowadząca do odpowiednich aldehydów **7** lub reakcji utleniania do (*R*)-2-hydroksykwasów **6**. W celu wyeliminowania konkurencyjnej reakcji dekarboksylacji do mieszaniny reakcyjnej dodaje się chlorek cyny(II). Utlenianie nadtlenokwasów chlorkiem cyny(II) umożliwia otrzymanie czystych enancjomerycznie hydroksykwasów z dobrą wydajnością (Schemat 4) [5].

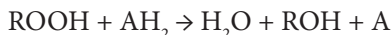


Schemat 4. α -Utlenianie pochodnych kwasów tłuszczowych

Scheme 4. α -Oxidation of fatty acid derivatives

3. PRZYKŁADY ENZYMATYCZNEJ REAKCJI DESYMETRYZACJI W OBECNOŚCI PEROKSYDAZY JAKO KATALIZATORA

Peroksydazy katalizują utlenianie różnych substratów organicznych i nieorganicznych za pomocą nadtlenu wodoru [6],

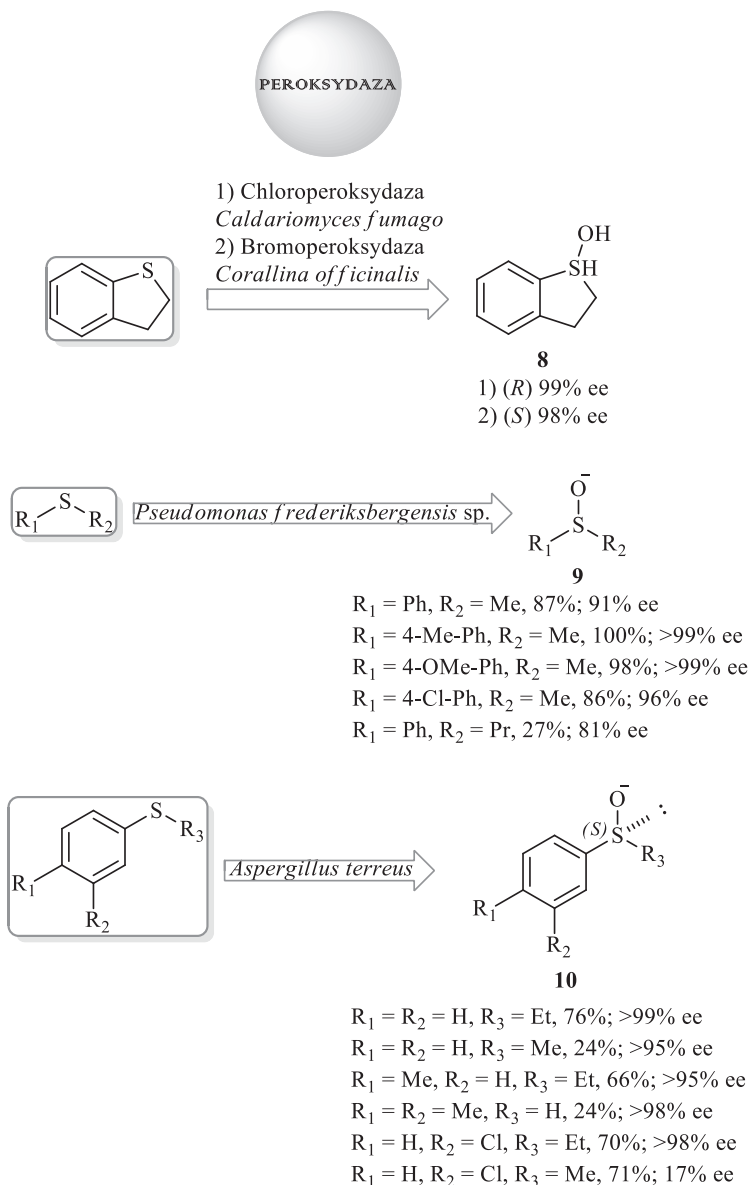


gdzie AH_2 to typowy donor wodorowy, który jest utleniany przez nadtlenek. Typowymi substratami ulegającymi działaniu peroksydaz są substraty aromatyczne, czyli związki o charakterze wodorodonorowym. Niezbędne w tej reakcji czynniki utleniające to np.: wodoronadtlenek kwasu tłuszczowego lub nadtlenek wodoru.

Peroksydazy roślinne biorą udział w rozwoju komórek roślinnych, a także pełnią funkcję enzymów o charakterze antyoksydantów pomagając w likwidowaniu reaktywnych form tlenu. Jest to istotne bo nadmierne nagromadzenie RFT w żywej komórce prowadzi do stresu „oksydacyjnego” uszkadzając białka, lipidy oraz kwasy nukleinowe [7]. Peroksydazy biorące udział w usuwaniu RFT to peroksydaza glutationowa, gwajakolowa czy askorbinianowa [8].

Peroksydazy, z uwagi na swój potencjał katalityczny są enzymami łatwo dostępnymi i szeroko stosowanymi. Źródłem peroksydaz mogą być zarówno zwierzęta, rośliny jak również mikroorganizmy. W odróżnieniu od monooksygenaz ich działanie nie wymaga dodatkowych kofaktorów, z tego powodu są wysoce atrakcyjne w biotransformacji preparatywnej.

Reakcje utleniania katalizowane peroksydazami są często stosowane w syntezie organicznej. *N*-Utlennianie amin, prowadzi do tworzenia się odpowiednich alifatycznych *N*-tlenków lub aromatycznych związków nitrozowych lub nitrowych. Z punktu widzenia syntezy preparatywnej utlenianie tioeterów jest jednak ważniejsze, gdyż zachodzi ono stereo i enancjoselektywnie. Ponadto, w zależności od źródła halo-peroksydaz, chiralne sulfotlenki można uzyskać o określonej konfiguracji. Chloroperoksydaza (CPO) z *Caldariomyces fumago* jest selektywnym katalizatorem w reakcji utleniania metylo tioeterów prowadząc do otrzymania (*R*)-sulfotlenków (Schemat 5, 8). Haloperoksydaza z alg morskich *Corallina officinalis* wykazuje przeciwną preferencję dając *S*-sulfotlenki. W celu otrzymania sulfotlenków wysokiej czystości optycznej ważne jest, aby podczas reakcji utrzymywać stałe, niskie stężenie H₂O₂ [9–12]. Enancjoselektywne sulfoutlenienie serii organicznych siarczków katalizowanych przez *Pseudomonas frederiksbergensis* sp. prowadzi do odpowiednich (*S*)-sulfotlenków z dobrą lub wysoką enancjoselektywnością (Schemat 5, 9) [13]. Zaobserwowano, że zarówno czas reakcji, pH oraz budowa substratu wpływają na wydajność i enancjoselektywność reakcji. Najlepsze wyniki uzyskano dla siarczków alkilowo-arylowych. Zauważono, że obecność podstawnika w pozycji *para*- reszty aryłowej wpływała na wzrost enancjoselektywności. Natomiast wydłużenie łańcucha alkilowego, skutkuje spadkiem zarówno wydajności jak i stereoselektywności. W reakcji desymetryzacji innych sulfidów alifatyczno-aromatycznych w obecności *Aspergillus terreus* CCT 3320 otrzymano również sulfotlenki o konfiguracji (*S*) (Schemat 5, 10) [14]. Ta biotransformacja, w większości przypadków przebiega z nadmiarem enancjomerycznym wyższym niż 95%. Selektowność reakcji w dużym stopniu zależy od czasu prowadzenia reakcji. Uzyskany nadmiar enancjomeryczny produktów był wynikiem dwuetapowej reakcji: enancjotopowej desymetryzacji i rozdziału kinetycznego. Pierwszy etap charakteryzował się umiarkowaną selektywnością dopiero etap drugi umożliwił otrzymanie wzbogaconych enancjomerycznie produktów.



Schemat 5. Enzymatyczne reakcje zachodzące przy udziale peroksydazy

Scheme 5. Enzymatic reaction of compounds with peroxidase

Zastosowanie chloroperoksydazy jako katalizatora w reakcji hydroksylowania alkinów umożliwia otrzymanie *R*-alkoholi propargilowych (Schemat 6) [15]. Reakcje przeprowadzono w obecności nadtlenu wodoru. Wydajność reakcji rosła w miarę dodawanie enzymu jak i utleniacza. Generalnie, większość otrzymanych produktów charakteryzowała się dobrą lub bardzo dobrą czystością enancjomeryczną z różną

jednak wydajnością chemiczną. Najgorsze wyniki uzyskano dla najmniejszego objętościowo substratu (pent-2-ynu).

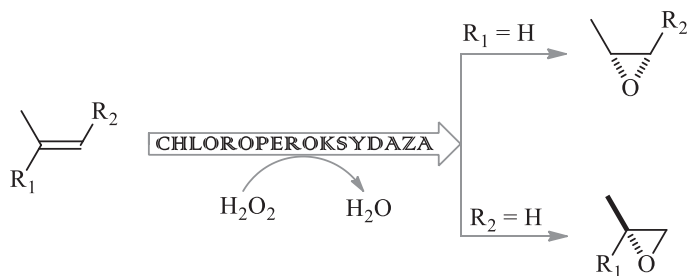


R1	R2	wydajność [%]	ee [%]
Me	Me	7	57
Et	Me	26	91
Pr	Me	30	87
Bu	Me	8	78
Ph	Me	15	86
CH ₂ OAc	Me	52	95
CH ₂ Br	Me	65	94
(CH ₂) ₂ OAc	Me	26	83
(CH ₂) ₂ Br	Me	25	94
CH ₂ OAc	Et	8	87

Schemat 6. Hydroksylowanie alkinów wobec chloroperoksydazy

Scheme 6. Hydroxylation of alkynes using chloroperoxidase

Chloroperoksydazy umożliwiają również przeprowadzenie reakcji epoksydowania związków nienasyconych. Najlepsze wyniki uzyskuje się dla niepodstawionych *cis*-alkenów i 1,1-dipodstawionych olefin, które były selektywnie utleniane za pomocą chloroperoksydazy ze znakomitą selektywnością (Schemat 7) [16–18].



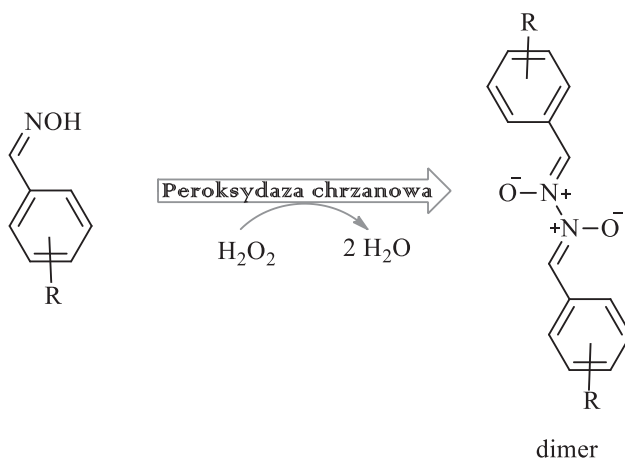
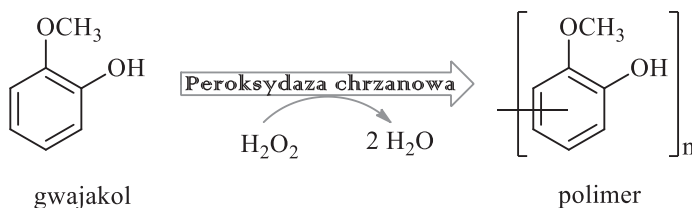
R1	R2	ee [%]
H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	96
H	(CH ₃) ₂ CH-CH ₂	94
H	Ph	96
Ph	H	89
CH ₂ -COOEt	H	93–94
(CH ₂) ₂ -Br	H	85

R1	R2	ee [%]
<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	H	95

Schemat 7. Asymetryczna reakcja epoksydowania wobec chloroperoksydazy

Scheme 7. Asymmetric epoxidation of alkenes using chloroperoxidase

Ostatnim przedstawionym przykładem zastosowania peroksydaz jest utlenienie związków aromatycznych. Reakcję tego typu zalicza się to tzw. klasycznej reakcji peroksydaz, ponieważ została ona odkryta jako pierwsza. Utlenianie fenoli (np. gwajakolu, rezorcyny) i amin aromatycznych (np. anilina, *o*-dianizydyna) w łagodnych warunkach w obecności peroksydazy chrzanowej prowadzi do utworzenia oligomerów i polimerów [19–21]. Gwajakol (2-metoksyfenol) jest utleniany przez nadtlenek wodoru w wyniku czego powstają skomplikowane związki o charakterze kompleksów o barwie czerwonej lub brązowej. Ta reakcja jest katalizowana przez peroksydazy. W celu określenia aktywności peroksydaz występujących w różnych warzywach i owocach często stosuje się powyższą reakcję. W niektórych przypadkach, uzyskano również dimery (np. aldoksyminy), biaryle (Schemat 8) [22, 23].



Schemat 8. Peroksydaza chrzanowa jako katalizator reakcji utleniania związków aromatycznych

Scheme 8. Horseradish peroxidase catalyzed oxidation reaction of aromatics

UWAGI KOŃCOWE

W przedstawionej pracy omówiono zastosowanie kolejnych klas enzymów do przeprowadzenia reakcji utleniania. Z dobrymi wydajnościami oraz nadmiarami enancjomerycznymi uzyskano produkty desymetryzacji, z wykorzystaniem dioksygenaz, oksydaz i peroksydaz.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] D.T. Gibson, R.E. Parales, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2000, **11**, 236.
- [2] C.S. Butler, J.R. Mason, *Adv. Microb. Physiol.*, 1997, **38**, 47.
- [3] A. Kerridge, A. Willetts, H. Holland, *J. Mol. Catal. B: Enzymol.*, 1999, **6**, 59.
- [4] A.N. Phung, M.T. Zannetti, G. Whited, W.-D. Fessner, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, **42**, 4821.
- [5] W. Adam, W. Boland, J. Hartmann-Schreier, H.-U. Humpf, M. Lazarus, A. Saffert, C.R. Saha-Möller, P. Schreier, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 11044.
- [6] S. Verma, R.S. Dubey, *Plant Sci.*, 2003, **164**, 645.
- [7] M. Zacchini, E. Rea, M. Tullio, M. de Agazio, *Plant Physiol. Biochem.*, 2003, **41**, 49.
- [8] H. Mehlhorn, M. Lelandais, H.G. Korth, C.H. Foyer, *FEBS Lett.*, 1996, **378**, 203.
- [9] S. Kobayashi, M. Nakano, T. Kimura, A.P. Schaap, *Biochemistry*, 1987, **26**, 5019.
- [10] M. Andersson, A. Willetts, S. Allenmark, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 8455.
- [11] S. G. Allenmark, M.A. Andersson, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1996, **7**, 1089.
- [12] M.A. Andersson, S.G. Allenmark, *Tetrahedron*, 1998, **54**, 15293.
- [13] W. Adam, F. Heckel, C.R. Saha-Möller, M. Taupp, P. Schreier, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**, 983.
- [14] A.L.M. Porto, F. Cassiola, S.L.P. Dias, I. Joekes, Y. Gushikem, J.A.R. Rodrigues, P.J.S. Moran, G.P. Manfio, A.J. Marsaioli, *J. Mol. Catal. B: Enzymol.*, 2002, **19-20**, 327.
- [15] S. Hu, L.P. Hager, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 872.
- [16] E.J. Allain, L.P. Hager, L. Deng, E.N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 4415.
- [17] A.F. Dexter, F.J. Lakner, R.A. Campbell, L.P. Hager, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 6412.
- [18] F.J. Lakner, L.P. Hager, *J. Org. Chem.*, 1996, **61**, 3923.
- [19] J.S. Dordick, *Trends Biotechnol.*, 1992, **10**, 287.
- [20] H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugihara, S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1996, **69**, 189.
- [21] S. Kobayashi, S. Shoda, H. Uyama, *Adv. Polym. Sci.*, 1995, **121**, 1.
- [22] K. Fukunishi, K. Kitada, I. Naito, *Synthesis*, 1991, 237.
- [23] M.M. Schmitt, E. Schüler, M. Braun, D. Häring, P. Schreier, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 2945.

Praca wpłynęła do Redakcji 19 czerwca 2014

**ROZDZIELENIE MIESZANIN RACEMICZNYCH
ZA POMOCĄ KRYSTALIZACJI. CZĘŚĆ I.
OPTYMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIAŁU**

**SEPARATION OF THE RACEMIC MIXTURES
BY CRYSTALLIZATION. PART I.
OPTIMIZATION OF RESOLUTION CONDITIONS**

**Renata Kołodziejska¹, Ewa Kopkowska¹,
Renata Studzińska², Aleksandra Karczmarzka-Wódzka¹,
Beata Augustyńska¹**

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

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

Abstract

Wprowadzenie

1. Rozdzielenie mieszanin racemicznych
2. Krystalizacja diastereoizomerów z fazy ciekłej
 - 2.1. Optymalizacja warunków rozdzielania mieszaniny enancjomerów – czynnik chiralny, substancja dodatkowa, struktura chemiczna racematu
 - 2.2. Optymalizacja warunków rozdzielania mieszaniny enancjomerów – rozpuszczalnik
 - 2.3. Optymalizacja warunków rozdzielania mieszaniny enancjomerów – czas krystalizacji
3. Krystalizacja diastereoizomerów bez rozpuszczalnika

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



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



Dr Ewa Kopkowska, starszy wykładowca w Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w Katedrze Biochemii. Jej zainteresowania naukowe dotyczą wpływu struktury nukleozydów pirymidynowych i ich analogów na ich własności fizykochemiczne (pKa, lipofilowość) w związku z potencjalną aktywnością biologiczną tych związków.



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



Dr Aleksandra Karczmarzka-Wódzka, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



Dr hab. n. med. Beata Augustyńska, kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują ocenę stanu oksydacyjnego z zastosowaniem enzymatycznych i nieenzymatycznych wykładników.

ABSTRACT

Methods for obtaining optically active compounds in enantiopure form are commonly classified into three categories: utilization of chiral pool starting materials (stereoselective multistep synthesis), creation of chirality from achiral precursors (asymmetric synthesis) and separation of racemates into their enantiomer constituents (crystallization, chromatography on chiral phases, kinetic resolution). The most important method for the separation of enantiomers is the crystallization. The crystallization can be carried out in the variants: direct crystallization of enantiomer mixtures (homo- and heterochiral aggregates – Scheme 2, 3) and separation of diastereoisomer mixtures (classical resolution) (Scheme 1) [1–5]. The most widely used method for the separation of enantiomers rests on the crystallization of diastereoisomers formed from a racemate and an enantiopure reagent – resolving agent (resolution via salt-formation and complex-formation).

The pair of diastereoisomers exhibit different physicochemical properties (e.g., solubility, melting point, boiling point, adsorption, phase distribution). For this reason, the crystalline material can be separated from the residue by filtration (Scheme 22) [4, 27], distillation (Scheme 23, 24) [28, 29], sublimation (Scheme 25) [4, 30], or extraction (Scheme 26) [2, 31].

The composition of crystalline diastereoisomers is influenced by resolving agent (structure (Scheme 4) [4] and amount of resolving agent (Scheme 5) [4]), structure of racemates (Scheme 10) [2, 15], the character and amount of supplementary additives (Scheme 6–9) [4, 12–15], nature of the solvent (crystallization with solvent) – Scheme 11–18 [2, 4, 16–23] and time of crystallization (Scheme 19–21) [4, 14, 25, 26].

Keywords: crystallization, resolution of racemic mixture, diastereoisomeric salts/complexes

Słowa kluczowe: krystalizacja, rozdzielanie mieszaniny racemicznej, diastereoizomeryczne sole/kompleksy

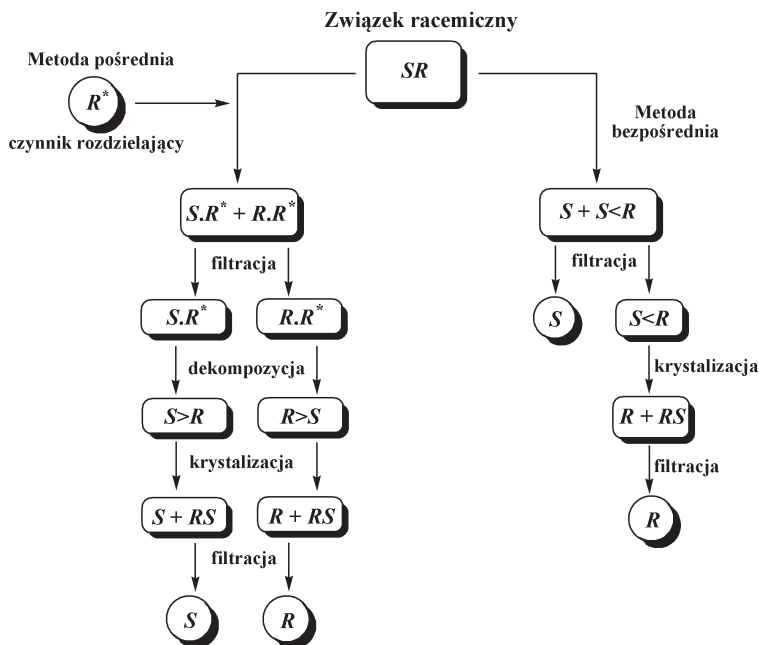
WPROWADZENIE

Otrzymanie czystych enancjomerycznie związków jest jednym z ważniejszych aspektów badań stereochemicznych. W syntezie asymetrycznej uzyskuje się ściśle określony stereoisomer, natomiast w tradycyjnej reakcji chemicznej, jeśli produkt posiada centrum stereogeniczne z reguły otrzymuje się mieszaninę enancjomerów. Równomolowa mieszanina dwóch izomerów optycznych to racemat. Rozdzielenie racematu może odbywać się na drodze rozdziału kinetycznego w obecności chiralnego katalizatora chemicznego lub enzymatycznego, jak również z zastosowaniem chiralnych faz stałych lub ciekłych. Jedną z najstarszych metod rozdzielania mieszaniny enancjomerów jest krystalizacja, która nadal pozostaje najczęstszym sposobem otrzymania czystych enancjomerycznie związków na skalę preparatywną.

Mieszaninę racemiczną można rozdzielić w sposób bezpośredni lub pośredni przeprowadzając enancjomery w odpowiednie pochodne diastereoizomeryczne. Różnica właściwości fizycznych otrzymanych diastereoizomerów takich jak temperatura topnienia, prężność par, rozpuszczalność czy współczynnik adsorpcji w wielu przypadkach wystarcza, aby diastereoizomeryczne pochodne rozdzielić na drodze krystalizacji, destylacji, sublimacji czy chromatografii [1–5].

Metoda pośrednia jest z pewnością lepszą metodą rozczepienia równomolowych mieszanin enancjomerów na drodze krystalizacji, ponieważ łatwiej jest rozdzielić rzeczywiste pochodne diastereoizomeryczne. Proces ten przeprowadza się w trzech etapach. Najpierw dodaje się czynnika chiralnego z wytworzeniem diastereoizomerów (na tym etapie dokonuje się doboru właściwego odczynnika chiralnego jak również optymalizuje się warunki rozdziału). Następnie przeprowadza się krystalizację i w ostatnim etapie dekompozycję otrzymanych diastereoizomerycznych pochodnych z uwolnieniem czystych enancjomerycznie związków optycznych. Substancja rozdzielana powinna posiadać odpowiednią grupę, która może oddziaływać z czynnikiem chiralnym. Najczęściej tworzą się diastereoizomeryczne sole, rzadziej rozdzielanie odbywa się poprzez uzyskanie diastereoizomerycznych kompleksów molekularnych lub addycyjnych [1–5].

Poniżej przedstawiono schemat rozdzielania mieszanin enancjomerów metodą bezpośrednią i pośrednią.



Schemat 1. Schemat rozdzielania mieszanin racemicznych
Scheme 1. General scheme of resolution

Efektywność rozdzielania mieszaniny enancjomerów jest mierzona parametrem F , która wyraża się następującym wzorem: $F = ee \times y$, gdzie ee – nadmiar enancjomeryczny definiowany jako stosunek różnicy zawartości poszczególnych enancjomerów do sumy ich zawartości w określonej mieszaninie wyrażony w procentach; y – wydajność chemiczna (lub $F = de \times 2 \times y$, gdzie de – nadmiar diastereoizomeryczny).

W pracy na konkretnych przykładach przedstawiono jakie czynniki wpływają na efektywność rozdzielania mieszanin racemicznych za pomocą krystalizacji, ze szczególnym uwzględnieniem metody pośredniej.

1. ROZDZIELENIE MIESZANIN RACEMICZNYCH ZA POMOCĄ KRYSZTAŁIZACJI

Krystalizacja to proces tworzenia się i wzrostu kryształu z cieczy przechłodzonej, roztworu przesyconego lub przesyconej pary (fazy gazowej). Ten proces fizyczny można najogólniej podzielić na dwa etapy: tworzenie zarodków krystalizacji (nukleacja) i wzrost kryształów.

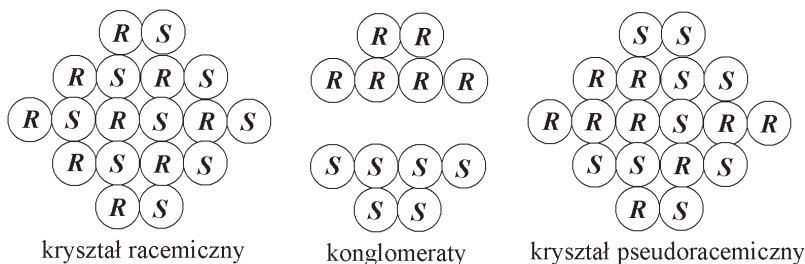
Racjonalne posługiwanie się tą metodą wyodrębniania pojedynczych składników roztworu uwarunkowane jest znajomością zależności temperatury krzepnięcia (topnienia) roztworu od jego składu. Rozważania przeprowadza się dla stałej warto-

ści ciśnienia ($p = \text{const}$), ponieważ wpływ zmian ciśnienia na warunki równowagi w układzie faz skondensowanych jest relatywnie niewielki, szczególnie w zakresie zbliżonym do ciśnienia atmosferycznego, w którym to przeważnie prowadzi się krystalizację. Równowagę w układzie ciecz-ciało stałe przedstawia się na wykresach izobary zależnością temperatury od składu roztworu, zwanych diagramami fazowymi. Przebieg procesu krystalizacji (a więc także kształt wykresu) uzależniony jest od wzajemnej mieszalności składników roztworu zarówno w fazie ciekłej, jak i w fazie stałej. Ze względu na bardzo ograniczoną dyfuzję i brak możliwości mieszania makroskopowego, mieszalność składników w fazie stałej sprowadza się w rzeczywistości do możliwości tworzenia wspólnej struktury krystalicznej. Składniki roztworu ulegającego mieszanii w fazie stałej muszą więc wykazywać duże podobieństwo zarówno pod względem struktury krystalicznej jak i własności chemicznych. Roztwory enancjomerów na ogół dobrze mieszają się w fazie ciekłej, niezależnie od składu. W fazie stałej natomiast, ze względu na obecność centrum chiralnego enancjomery mogą tworzyć roztwory o różnej mieszalności, czyli – zróżnicowanej strukturze krystalicznej.

Jeśli chiralne składniki roztworu wykazują większe powinowactwo do analogicznej struktury tego samego enancjomeru, tworzą się kryształy homochiralne zwane konglomeratami. Faza stała zawiera w takim przypadku dwie odrębne struktury czystych chiralnie produktów. Taki stan odpowiada roztworowi nie ulegającemu mieszanii w fazie stałej.

Jeśli oba enancjomery agregują razem powstają kryształy heterochiralne, przy czym wspólną sieć krystaliczną enancjomery mogą tworzyć na dwa sposoby:

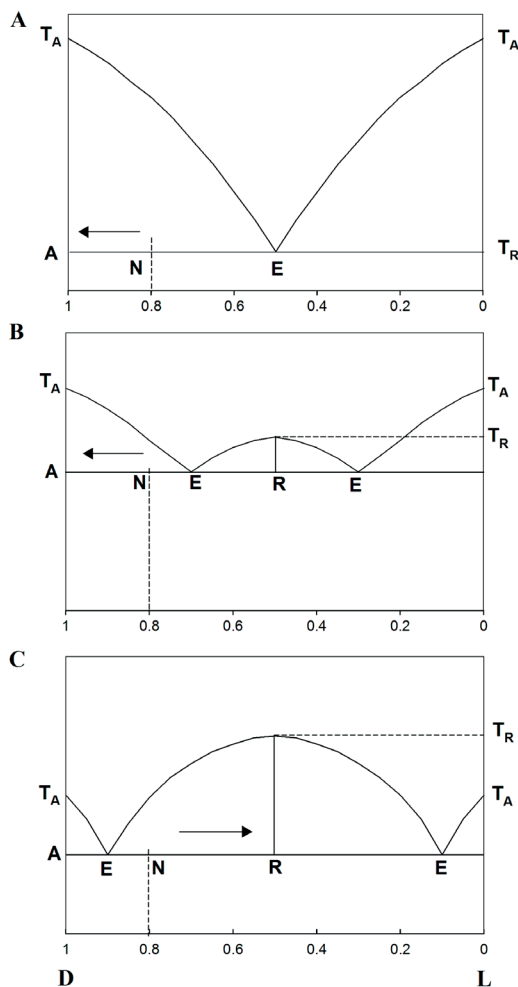
- kryształy racemiczne, czyli regularne struktury przestrzenne, które w elementarnej komórce kryształu zawierają oba składniki w stosunku 1:1,
- kryształy pseudoracemiczne – rozbudowane struktury przestrzenne o zmienionym składzie pojedynczej komórki elementarnej (stosunek liczby obu składników może być dowolny) i nieregularnej strukturze (Schemat 2).



Schemat 2. Trzy sposoby upakowania w sieci krystalicznej związków chiralnych
 Scheme 2. The three crystal packing arrangements for chiral compounds

Kryształy homo- i heterochiralne zachowują się w stosunku do siebie jak diastereoizomery, dlatego mają różne właściwości fizyczne. Kryształy racemiczne i czyste optycznie posiadają różne temperatury topnienia, tę różnicę wykorzystuje się

w określeniu czystości enancjomerycznej próbki za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Sporządza się tzw. dwuskładnikowy diagram fazowy, czyli wykres temperatur topnienia różnych frakcji molowych (od 0–1) dwóch enancjomerów (Schemat 3).



Schemat 3. A) Dwuskładnikowy diagram fazowy dla konglomeratów; B) i C) Dwuskładnikowy diagram fazowy dla kryształów racemicznych

Scheme 3. A) A binary diagram for a compound that forms conglomerates; B) and C) A binary phase diagram for a compound that forms racemic crystals

Kryształizacja bezpośrednia enancjomerycznie czystych konglomeratów z dobrą wydajnością jest możliwa w przypadku, gdy kryształy nie tworzą roztworu stałego (Schemat 3, przykład A). Fazę stałą tworzy mechaniczna mieszanina kryształów o odrębnej strukturze D i L w stosunku odpowiadającym składowi roztworu

w ułamkach molowych ($x, 1-x$). Diagram fazowy dla konglomeratów zawiera jeden punkt eutektyczny w temperaturze topnienia racematu (T_R) dla składu $x = 0,5$. Temperatura topnienia czystych enancjomerów (T_A) jest średnio o ok. 30 K wyższa od T_R . W punkcie eutektycznym krystalizują jednocześnie obie odmiany enancjomeryczne w formie kryształów D i L, w stosunku równomolowym. Natomiast krystalizacja w temperaturze wyższej od T_R może prowadzić do otrzymania homochiralnego kryształu w czystej postaci.

Krystalizacja mieszanin enancjomerów tworzących kryształy racemiczne przebiega w innych warunkach. Kryształ racemiczny stanowi odrębny składnik układu równowagowego, stąd odpowiedni diagram fazowy (Schemat 3, przykład B i C) ma zdecydowanie inny przebieg. Występują w nim dwa punkty eutektyczne w temperaturze T_E , przy czym $T_A > T_E < T_R$. Punkty eutektyczne odgraniczają obszar równowagi fazowej mieszaniny cieczy i kryształów racemicznych od obszarów równowagi roztwór i kryształy odpowiednio odmiany D (po lewej stronie wykresów B i C) i odmiany L (po prawej stronie). W tych właśnie przedziałach stężeń i temperatur może następować krystalizacja kryształów jednoskładnikowych.

Dodatkowym czynnikiem różnicującym układy racemiczne jest różnica pomiędzy T_R i T_A (średnia różnica pomiędzy T_R i T_A rzadko przekracza 20 K).

Gdy $T_R < T_A$ (Schemat 3, przykład B) punkty eutektyczne występują w zakresie „średnich” stężeń (np. $x_E = 0,3$ i $x_E = 0,7$). Krystalizacja z takiego układu pozwala na otrzymanie kryształów o określonej konfiguracji D lub L dla stężeń $0 - x_E$ i $x_E - 1$ i temperaturze wyższej od T_R .

Natomiast gdy $T_R > T_A$ punkty eutektyczne występują dla roztworów o dużej przewadze jednego ze składników (Schemat 3, przykład C, $x_E = 0,1$ i $0,9$) obszary równowagi kryształów D lub L i fazy ciekłej są tak małe, że w praktyce nie uzyskuje się kryształów homochiralnych, tylko wyłącznie kryształy racemiczne. Nawet w przedziale stężeń $0 - x_E$ i $x_E - 1$ preferowana jest krystalizacja racematu z uwagi na $T_R > T_A$.

Rekrystalizacja na przykład mieszaniny o składzie $x = 0,8$ (60% ee) może prowadzić do wzbogacenia fazy krystalicznej w jeden z enancjomerów tylko jeśli związek ma tendencję do tworzenia homochiralnych kryształów (Schemat 3, przykład A) lub gdy tworzy kryształy racemiczne o temperaturze topnienia niższej od temperatury topnienia czystych optycznie kryształów (Schemat 3, przykład B). Maksymalną wydajność enancjomeryczną wyznacza się ze stosunku odległości NE/EA. W tym konkretnym przykładzie, jeśli $x = 0,8$ to czystość optyczna kryształów w przypadku A wynosi 60% ee, a w przypadku B tylko 33% ee. Dla układu tworzącego kryształy racemiczne i $T_R > T_A$ uzyskuje się wyłącznie mieszaninę racemiczną (Schemat 3, przykład C) [5–9].

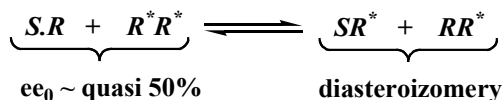
Na podstawie diagramów można stwierdzić, że tylko dla konglomeratów możliwe jest otrzymanie nadmiaru jednego z izomerów z wydajnością optyczną równą nadmiarowi enancjomerycznemu (ee) wyjściowej mieszaniny, podczas gdy w przypadku związków tworzących racematy wydajność enancjomeryczna jest zawsze

niższa niż ee_0 wyjściowej mieszaniny. Wynik krystalizacji w układzie tworzącym heterochiralne kryształy jest uzależniony od enancjomerycznego składu mieszaniny, położenia punktu eutektycznego i różnicy pomiędzy T_R i T_A . W praktyce, aby uzyskać nadmiar enancjomeryczny dla związków tworzących kryształy racemiczne należy wzbogacić wyjściową mieszaninę w jeden z izomerów tak, aby wartość ee_0 była wyższa niż w punkcie eutektycznym (ee_E).

Układy enancjomerów tworzących heterochiralne kryształy pseudoracemiczne są zupełnie nie separowalne metodą krystalizacji bezpośredniej. Tworzą one roztwory zarówno ciekłe jak i stałe o prawie doskonałej mieszalności. Niektóre izomery optyczne np. roztwór oksymów D i L kamfory, tworzą roztwory topiące się i krzepnące w takiej samej temperaturze niezależnie od składu mieszaniny. Krzywe topnienia i krzepnięcia pokrywają się tworząc jedną poziomą linię prostą.

Równomolowe roztwory obu izomerów optycznych aż w 90% mają tendencję do tworzenia kryształów racemicznych. Tylko około 5–10% z nich tworzy kryształy homochiralne (konglomeraty). Znacznie częstsze występowanie związków o strukturze racemicznej niż konglomeratów jest spowodowane ich większą stabilnością termodynamiczną, czego dowodzą odpowiednie badania równowagowych wartości potencjału Gibbsa [9]. Dlatego tak trudno jest rozdzielić racematy w sposób bezpośredni.

Do rozdzielania mieszanin racemicznych stosuje się najczęściej metodę pośrednią, przeprowadzając enancjomery w odpowiednie pochodne diastereoizomeryczne poprzez dodanie do układu czynnika chiralnego. Jeśli do racematu doda się równomolową ilość czynnika chiralnego (na przykład czynnik chiralny o konfiguracji R^*) tworzy się quasi-enancjomeryczna mieszanina:



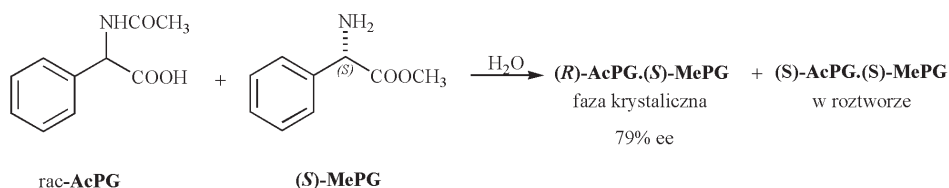
W takiej niesymetrycznej mieszaninie (ee_0 wynosi około 50%) tworzą się dwa rodzaje diastereoizomerów, które mogą wykrywać w postaci quasi-konglomeratów (RR^*) lub quasi-racematów (SR^*). Obie formy zawierają czyste enancjomery (R lub S) rozdzielanej mieszaniny racemicznej, które można w postaci wolnej otrzymać poprzez dekompozycję diastereoizomerycznych pochodnych [2, 5–9].

2. KRYSZALIZACJA DIASTEREIZOMERÓW Z FAZY CIEKŁEJ

2.1. OPTYMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA MIESZANINY ENANCJOMERÓW - CZYNNIK CHIRALNY, SUBSTANCJA DODATKOWA, STRUKTURA CHEMICZNA RACEMATÓW

Ważnym zadaniem w optymalizacji warunków rozdzielania enancjomerów jest dobór właściwego odczynnika chiralnego tak, aby otrzymane diastereoizomeryczne pochodne różniły się rozpuszczalnością i można było je rozdzielić na drodze krystalizacji. Najczęściej wyboru odpowiedniego czynnika chiralnego dokonuje się na drodze eksperymentalnej. Najważniejsza jest jego struktura oraz charakter chemiczny, a także stabilność w warunkach reakcji. Podczas dokonywania selekcji nie bez znaczenia jest również aspekt ekonomiczny. Dobrze, gdy odczynnik chiralny jest tani i powszechnie dostępny w handlu, najlepiej w postaci pary czystych optycznie enancjomerów (w innym przypadku po rozczepieniu mieszaniny racemicznej należy dokonać regeneracji czynnika chiralnego). Ponadto otrzymane sole lub kompleksy powinny dość łatwo ulegać dekompozycji, w celu uwolnienia czystych enancjomerów.

Istotne jest podobieństwo strukturalne chiralnego odczynnika do enancjomerów rozdzielanej mieszaniny. Z doświadczenia wynika, że jeśli reagenty tworzące diastereoizomery są swoimi strukturalnymi analogami w większości przypadków uzyskuje się dobrą enancjoseparację. Jest to możliwe ze względu na lepsze dopasowanie czynnika chiralnego do jednego z izomerów związku racemicznego. Na przykład *N*-acetylofenyloglicynę (AcPG) można skutecznie rozdzielić w obecności analogu strukturalnego estru metylowego (*S*)-fenyloglicyny (MePG). Z quasi-enancjomerycznej mieszaniny ($ee_0 = 50\%$) krystalizowała słabiej rozpuszczalna diastereoizomeryczna heterochiralna sól zawierająca w przewodzie (*R*)-AcPG (79% ee) [4].



Schemat 4. Rozdzielenie *rac*-AcPG z (*S*)-MePG

Scheme 4. Resolution of *rac*-AcPG with (*S*)-MePG

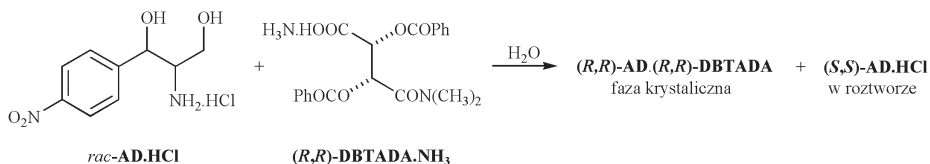
Podobnie *N*-acetylofenyloalaninę (AcPA) rozdzielono estrem metylowym (*S*)-fenyloalaniny. Selektywnie z roztworu krystalizowała sól quasi-racemiczna zawierająca również (*R*)-enancjomer o wysokiej czystości optycznej (93% ee) [4].

Podobieństwo strukturalne odczynnika chiralnego do rozdzielanej mieszaniny nie jest jednak warunkiem koniecznym do uzyskania efektywnej separacji. Stosuje się również niepodobne strukturalnie związki rozdzielające, na przykład znany

i powszechnie stosowany kwas (*R,R*)-winowy (TA) i jego pochodne. Za pomocą tego kwasu i jego analogów rozdzielono wiele racemicznych amin poprzez utworzenie krystalicznych soli [2, 10].

W procesie optymalizacji efektywności rozdzielania ważnym aspektem jest również ilość czynnika chiralnego dodanego do racematu. Na początku dodawano równomolowe ilości obu reagentów. Po raz pierwszy Pope i Peachy zmieszały mieszaninę racemiczną z chiralnym czynnikiem w stosunku 1:0,5 w obecności achiralnego odczynnika mającego podobny charakter chemiczny jak czynnik chiralny rozczepiający mieszaninę racemiczną [11].

W taki sposób rozdzielono pochodne chloramfenikolu. Do pochodnej chloramfenikolu (AD) w postaci soli dodano sól amoniową *N,N*-dimetyloamidu kwasu *O,O'*-dibenzolio- (*R,R*)-winowego ((*R,R*)-DBTADA) w stosunku molowym 1:0,5. Z roztworu krystalizowała sól diastereoizomeryczna zawierająca enancjomer o konfiguracji (*R,R*), podczas gdy enancjomer o przeciwnej konfiguracji pozostał w roztworze (Schemat 5) [4].

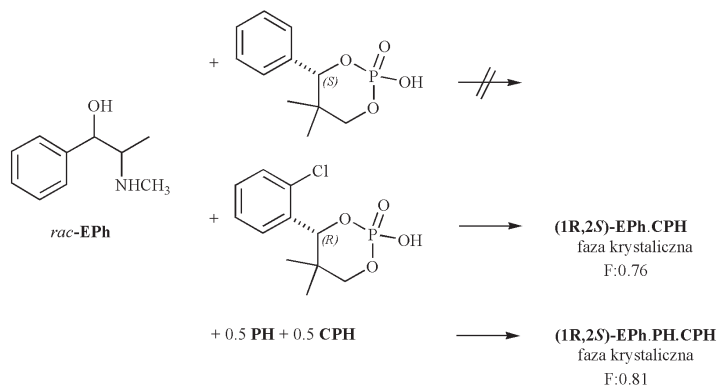


Schemat 5. Rozdzielenie *rac*-AD.HCl z (*R,R*)-DBTADA.NH₃

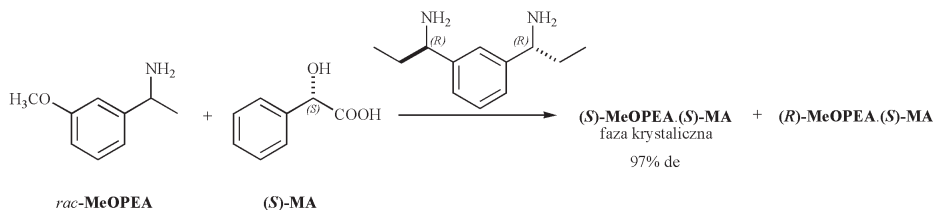
Scheme 5. Resolution of *rac*-AD.HCl with (*R,R*)-DBTADA.NH₃

W celu zwiększenia wydajności rozdzielania do mieszaniny racemicznej obok odczynnika chiralnego dodaje się inny chiralny związek strukturalnie podobny do reagenta rozczepiającego mieszaninę lub do enancjomerów w mieszaninie.

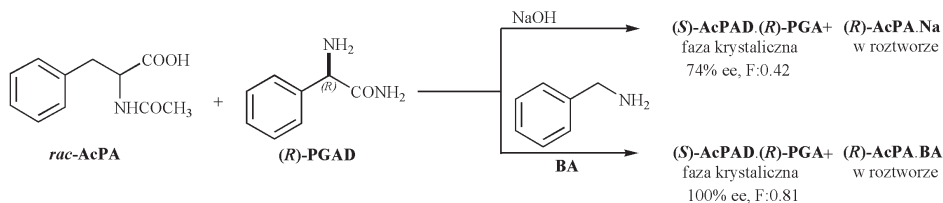
W pierwszym przypadku tzw. Dutch rozdziela część odczynnika chiralnego zastępuje się innym związkiem chiralnym o podobnej strukturze i chemicznym charakterze. Z roztworu z reguły krystalizuje diastereoizomer o wyższej czystości optycznej niż bez dodatku innego czynnika chiralnego. Przykładem rozczepienia z zastosowaniem mieszaniny czynników chiralnych jest rozdzielanie racemicznej efedryny (EPh). Część chiralnego odczynnika cyklicznego diestru 2-chlorofenylo podstawionego kwasu fosforowego(V) ((*S*)-CPH) zastąpiono jego niepodstawionym analogiem ((*S*)-PH). Preferencyjnie z roztworu krystalizował diastereoizomer zawierający trzy składowe: (1*R*,2*S*)-EPh i dwa czynniki chiralne ((*S*)-PH i (*S*)-CPH) – Schemat 6. Dodatek drugiego czynnika chiralnego wpływał na zwiększenie wydajność [12].

Schemat 6. Rozdzielenie *rac*-EPh z (S)-CPH/(S)-PHScheme 6. Resolution of *rac*-EPh with (S)-CPH/(S)-PH

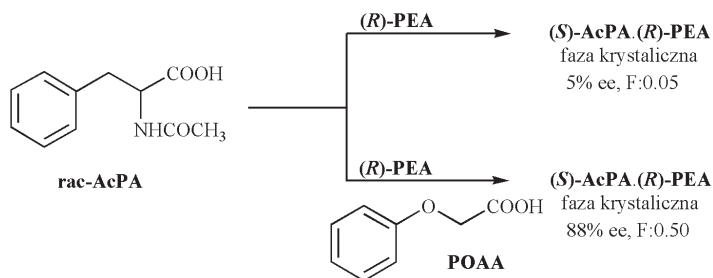
Przeprowadzono również separację racematu, do którego dodano związek będący strukturalnym analogiem składników rozdzielanej mieszaniny. Na przykład racemiczną mieszaninę 1-(3-metoksyfenylo)etyloaminy (MOPEA) rozczepiono z czynnikiem chiralnym kwasem (S)-migdałowym (MA) w obecności bis-aminy. Otrzymano diastereoizomeryczną sól z wysoką czystością optyczną (97% de) – Schemat 7. Podobnie jak w tzw. Dutch rozdziale dodatek chiralnego reagenta, w tym przypadku strukturalnie zbliżonego do rozdzielanej mieszaniny, powoduje zwiększenie efektywności rozczepienia [13].

Schemat 7. Rozdzielenie *rac*-MoPEA z (S)-MA/bis-aminaScheme 7. Resolution of *rac*-MoPEA with (S)-MA/bis-amine

Okazało się również, że diastereoizomery są lepiej rozdzielane w układzie, gdy część czynnika chiralnego lub racematu wymieni się na achiralny związek o podobnej strukturze. Na przykład, kiedy AcPA rozdzielono za pomocą amidu (R)-fenyloglicyny ((R)-PGAD) (1:0,5) w obecności wodorotlenku sodu zarówno czystość enancjomeryczna jak wydajność krystalicznej soli była niższa, niż gdy rozdzielanie odbywało się w obecności benzyloaminy (zamiast wodorotlenku sodu) – Schemat 8 [4, 14].

Schemat 8. Rozdzielenie *rac*-AcPA z (*R*)-PGA/BAScheme 8. Resolution of *rac*-AcPA with (*R*)-PGA/BA

Podobna sytuacja ma miejsce, gdy do rozczepianej mieszaniny wprowadzi się dodatkowo achiralny związek o zbliżonej strukturze do rozdzielanych enancjomerów. Mieszaniny racemicznej *rac*-AcPA z zastosowaniem (*R*)-2-fenyletyloaminy ((*R*)-PEA) nie można rozdzielić. Krystalizująca sól diastereoizomeryczna praktycznie jest równomolową mieszaniną obu izomerów. Jeśli jednak do wyjściowej mieszaniny obok (*R*)-PEA wprowadzi się achiralny analog AcPA – kwas fenoksyocytowy (POAA) – efektywność rozdziału zwiększa się. Achiralny dodatek krystalizuje z czynnikiem chiralnym szybciej, natomiast sól wzbogacona o (*S*)-AcPA wytrąca się po dłuższym czasie (Schemat 9) [4, 13].

Schemat 9. Rozdzielenie *rac*-AcPA z (*R*)-PEA/POAAScheme 9. Resolution of *rac*-AcPA with (*R*)-PEA/POAA

Bezpośrednie otoczenie centrum stereogenicznego w rozdzielanych izomerach optycznych ma wpływ na wzajemne strukturalne dopasowanie określonego enancjomeru i czynnika chiralnego. Aby odpowiedzieć na pytanie, jakie cechy powinien posiadać ligand bezpośrednio związany z centrum chiralnym rozdzielanych enancjomerów żeby efektywność *F* była jak najwyższa, przeprowadzono rozdział serii związków pochodnych fenyloglicyny (PG) tym samym czynnikiem chiralnym, kwasem (*R,R*)-TA (Schemat 10). Wzięto pod uwagę następujące parametry:

- parametr hydrofobowości p ,
- stałe σ^* charakteryzujące elektronowe właściwości ligandów bezpośrednio związanych z centrum chiralnym,
- M_R – zawadę przestrzenną,
- E_T – parametr charakteryzujący polarność rozpuszczalnika.

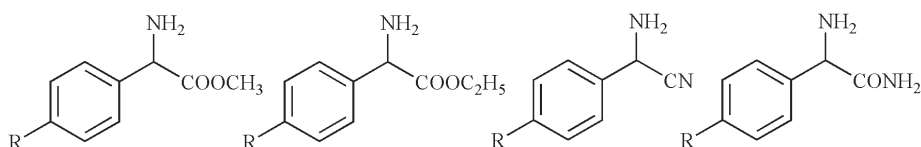
Teoretyczne korelacje pomiędzy poszczególnymi parametrami a wartością rozdziału F można przedstawić za pomocą poniższych równań:

$$F = 0,517\pi_2 + 2,28\sigma_2 - 0,015E_T - 0,001 \quad (1)$$

$$F = 0,524\pi_2 + 2,082\sigma_2 - 0,016E_T + 0,017M_{R_1} - 0,107 \quad (2)$$

$$F = 4,374\sigma_2 + 0,107M_{R_2} - 0,014E_T - 2,590 \quad (3)$$

$$F = 4,183\sigma_2^* + 0,110M_{R_2} - 0,015E_T - 0,021M_{R_2} - 2,461 \quad (4)$$



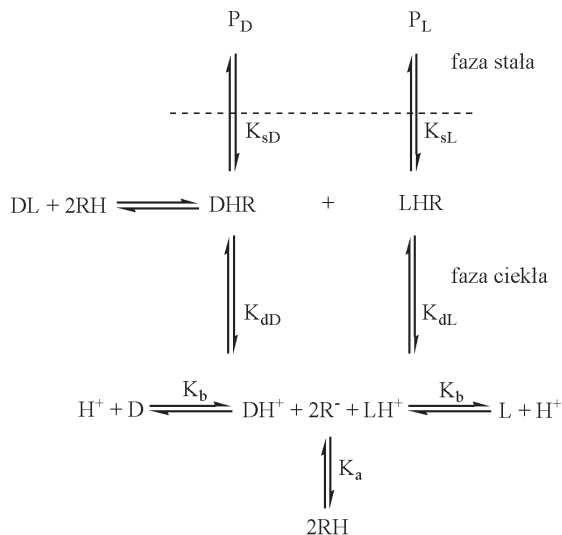
Schemat 10. Seria pochodnych fenyloglicyny
Scheme 10. A series of phenylglycine derivatives

Z rozważań tych wynika, że najważniejszymi parametrami wpływającymi na rozdzielanie racematów są: hydrofobowość oraz własności elektronowe podstawników ($-\text{COOH}$, $-\text{COOEt}$, $-\text{CN}$, $-\text{CONH}_2$) bezpośrednio związanych z centrum chiralnym. Dodatkowo można zauważyć, że wartość F ma różny znak w zależności od konfiguracji rozdzielanego enancjomeru. (R)-sól wytrącała się, gdy obliczona wartość F była dodatnia, natomiast sól o konfiguracji przeciwnej, gdy F przyjmowała wartość ujemną. Przewidywania teoretyczne zostały całkowicie potwierdzone przez badania eksperymentalne. Preferencyjnie z roztworu krystalizowała sól homochiralna (tzw. quasi-konglomerat) (R)-PG.(R,R)-TA, gdy podstawnik związany z centrum chiralnym rozdzielanych pochodnych fenyloglicyny był duży objętościowo i posiadał charakter elektronoakceptorowy ($-\text{CN}$, $-\text{COOEt}$). Natomiast, gdy podstawnik był mały, hydrofilowy o słabym charakterze elektronoakceptorowym preferencyjnie krystalizowała sól heterochiralna (tzw. quasi-racemiczna) zawierająca enancjomer o konfiguracji S (S)-PG.(R,R)-TA [2, 15].

2.2. OPTIMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA MIESZANINY ENANCJOMERÓW - ROZPUSZCZALNIK

Obok chiralnego czynnika na skuteczność rozdzielania racematów z ich mieszanin równomolowych szczególnie wpływ ma zastosowany rozpuszczalnik. Dobór rozpuszczalnika przeprowadza się głównie na drodze doświadczalnej. Najczęściej stosowanym rozpuszczalnikiem w pośredniej metodzie rozdzielania racematów jest woda, dlatego istotne podczas rozdzielania w wodzie jest pH roztworu. Wpływ pH na rozdział przez krystalizację frakcyjną diastereoizomerycznych soli przedstawia model termodynamiczny (Schemat 11). W modelowym układzie mieszaniny race-

micznej D, L z kwasowym czynnikiem chiralnym (RH) można przedstawić równowagi:



Schemat 11. Model równowagi dynamicznej tworzenia soli diastereoizomerycznych z równomolowej mieszaniny D, L i kwasowego czynnika chiralnego RH

Scheme 11. Equilibrium model of diastereomeric salt formation of a racemic base (D + L) with an acidic resolving agent (RH)

Efektywność F można wyznaczyć z równania chemicznego znając stałe termodynamiczne jak również początkowe stężenia czynnika chiralnego oraz stężenia jonów wodorowych.

$$0.5c_0F = K_{sD} - K_{sL} + \left(1 + \frac{K_b}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_a} + \frac{K_b}{K_a}\right) \times \frac{K_{sD}K_{dD} - K_{sL}K_{dL}}{[RH]_0 - 0.5c_0y - (K_{sD} + K_{sL})} \quad (5)$$

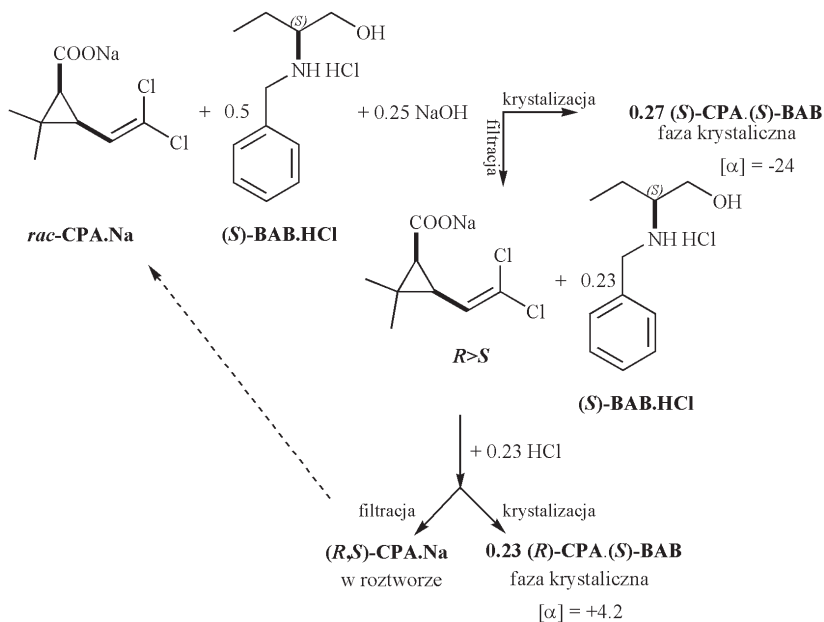
gdzie: K_{sD} , K_{sL} – stałe rozpuszczalności soli, K_{dD} , K_{dL} – stałe dysocjacji soli, K_a , K_b – stała kwasowa i zasadowa, c_0 – początkowe stężenie racematu, $[RH]_0$ – początkowe stężenie czynnika chiralnego, y – wydajność.

Efektywność rozdzielania mieszaniny racemicznej osiąga wartość minimalną gdy $[H^+] = \sqrt{K_a K_b}$. Taka sytuacja ma miejsce, jeśli jony wodorowe pochodzą z dysocjacji obojętnej soli diastereoizomerycznej. Z tego powodu ten typ rozdzielów charakteryzuje się najmniejszą wartością F. Warunkiem koniecznym do uzyskania lepszej efektywności rozdzielania jest stan, gdy stała dysocjacji soli lepiej rozpuszczalnej jest wyższa.

Efektywność F jest również uzależniona od stężenia czynnika chiralnego i osiąga wartość maksymalną ($F \rightarrow F_{\max}$) jeśli $[RH]_0 = 0.5c_0y + (K_{sL} + K_{sD})$. Gdy stała

K_{sL} i K_{sD} są relatywnie małe wtedy. Stąd wynika, że jeżeli zmiesza się o połowę ilość czynnika chiralnego w stosunku do rozdzielanego racematu to skuteczność rozdzielania będzie najwyższa [2, 4]. Te teoretyczne rozważania znalazły swoje odzwierciedlenie w praktyce, po raz pierwszy taką ilość czynnika chiralnego zastosowali Pope i Peache.

Na rozdzielanie optycznych izomerów kwasu *cis*-3-(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropanokarboksylowego (CPA) w obecności połowy ilości (*S*)-2-(benzyloamino)butanolu ((*S*)-BAB) miał istotny wpływ odczyn roztworu. Rozszczenie uzyskano, jeśli do mieszaniny wyjściowej dodano 25% nadmiar wodorotlenku sodu. Z roztworu preferencyjnie krystalizowała sól diastereoizomeryczna zawierająca czysty enancjomerycznie izomer (*S*)-CPA (Schemat 12). Po odwirowaniu osadu, roztwór zubożono dodając kwas chlorowodorowy. Po czasie z roztworu wykryształizował diastereoizomer z enancjomerem o konfiguracji przeciwnej. W roztworze pozostała mieszanina racemiczna soli sodowej CPA, którą można było zawrócić do ponownego rozdzielania [2, 16, 17].

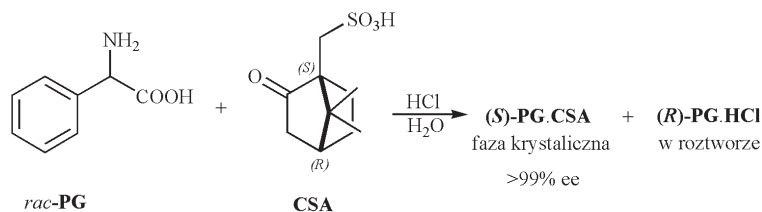


Schemat 12. Rozdzielenie *rac*-CPA.Na z (*S*)-BAB.HCl

Scheme 12. Resolution of *rac*-CPA.Na with (*S*)-BAB.HCl

Aminokwas PG w obojętnym pH z kwasem (*S*)-kamforosulfonowym ((*S*)-CSA) nie rozdziela się, tworzą się diastereoizomeryczne sole zawierające praktycznie mieszaninę racemiczną izomerów. Kiedy do wyjściowej mieszaniny obok czynnika chiralnego (1:0,5) dodano kwas chlorowodorowy (50% nadmiar kwasu w stosunku PG) z roztworu preferencyjnie krystalizowała sól zawierająca (*S*)-PG z wysoką czy-

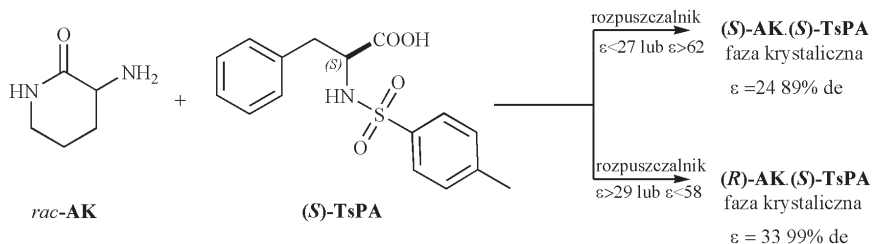
stością optyczną, podczas gdy prawie czysty enancjomer o konfiguracji (*R*) pozostał w roztworze (Schemat 13) [4].



Schemat 13. Rozdzielenie *rac*-PG z (*S*)-CSA

Scheme 13. Resolution of *rac*-PG with (*S*)-CSA

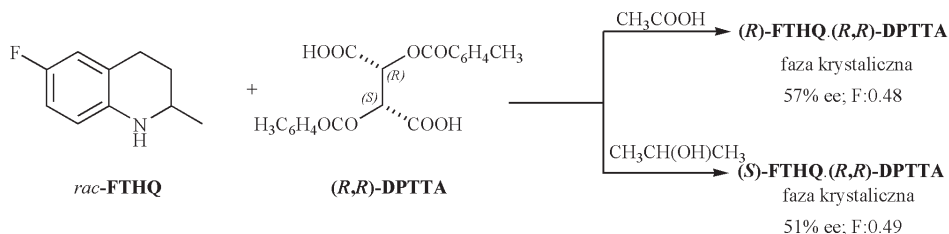
Woda jako rozpuszczalnik rozdziału racematów nie zawsze ma zastosowanie, ponieważ rozpuszczalność zarówno mieszanin racemicznych jak również chiralnego odczynnika w wodzie może być zbyt mała, aby przeprowadzić skuteczny rozdzielanie. W wielu przypadkach stosuje się rozpuszczalniki organiczne o zróżnicowanej polarności. Polarność rozpuszczalnika (charakteryzowana przez stałe dielektryczne rozpuszczalników) pełni ważną rolę w rozczepieniu diastereoizomerycznych soli. Na przykład w rozdziale α -aminokaprolaktamu (AK) w obecności (*S*)-*N*-tosylofenyloalaniny ((*S*)-TsPA) w zależności od polarności rozpuszczalnika otrzymano sól zawierającą w przewadze enancjomer o konfiguracji (*R*) lub (*S*). (*S*)-AK dominował, gdy stała dielektryczna rozpuszczalników wynosiła $\epsilon < 27$ lub $\epsilon > 62$. Natomiast sól z (*R*) enancjomerem krystalizowała z rozpuszczalników o średniej polarności $29 < \epsilon < 58$ (Schemat 14) [18–20].



Schemat 14. Rozdzielenie *rac*-AK z (*S*)-TsPA

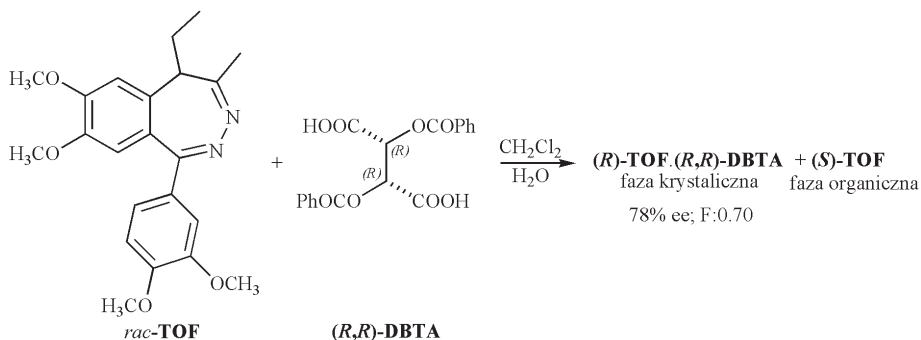
Scheme 14. Resolution of *rac*-AK with (*S*)-TsPA

Innym przykładem wpływu polarności rozpuszczalnika na rozdzielanie racematów jest rozczepienie intermediatu flumechiny (antybiotyk przeciwbakteryjny) ((FTHQ) z kwasem *O,O'*-di-*p*-toluilo-*(R,R)*-winowym ((*R,R*)-DPTTA). W obecności kwasu octowego (*R*) enancjomer krystalizował w postaci soli, natomiast z alkoholu izopropylowego krystalizowała sól zawierająca enancjomer o konfiguracji przeciwnej (Schemat 15) [21].

Schemat 15. Rozdzielenie *rac*-FTHQ z *(R,R)*-DPTTAScheme 15. Resolution of *rac*-FTHQ with *(R,R)*-DPTTA

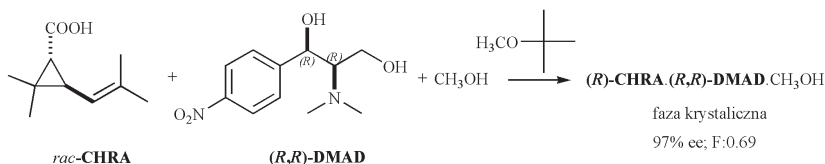
Rozdzielenie enancjomerów można również przeprowadzić w mieszaninie dwóch nie mieszających się rozpuszczalników. W takim układzie najczęściej bardziej trwała sól diastereoizomeryczna wytrąca się w postaci osadu, podczas gdy wolny enancjomer rozpuszcza się w jednej z faz (najczęściej w fazie organicznej).

W mieszaninie dichlorometan-woda rozdzielono racemiczny preparat przeciwłękowy tofisopam (TOF) z zastosowaniem *(R,R)*-DBTA jako czynnika chiralnego. Z dwufazowego układu preferencyjnie krystalizowała sól zawierająca enancjomer *(R)*, natomiast wolny enancjomer o konfiguracji *(S)* odzyskano z fazy organicznej (Schemat 16) [4, 22, 23].

Schemat 16. Rozdzielenie *rac*-TOF z *(R,R)*-DBTAScheme 16. Resolution of *rac*-TOF with *(R,R)*-DBTA

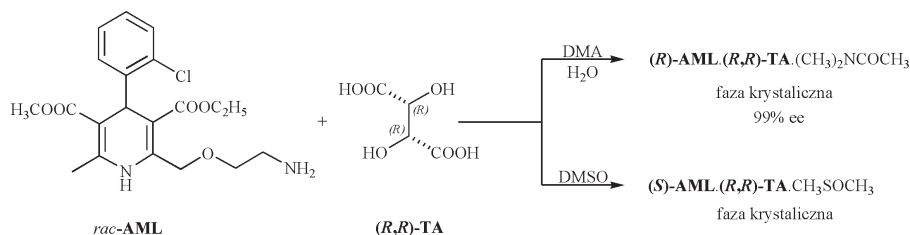
Tendencja do tworzenia solwatów diastereoizomerów z rozpuszczalnikiem może znacznie ułatwić proces rozdzielenia, a czasami jest niezbędna żeby została przeprowadzona skuteczna enancjoseparacja. Na przykład rozczepienie racematu kwasu chryzantemowego (CHRA) z *(R,R)*-1-(4-nitrofenylo)-2-*N,N*-dimetyloamino-1,3-propanodiolem (*(R,R)*-DMAD) w metanolu prowadzi do preferencyjnej krystalizacji derywatu zawierającego *trans* *(R)*-CHRA. Sól diastereoizomeryczna krystalizuje w postaci solwatu z metanolem. W innym rozpuszczalniku, na przykład w eterze *tert*-butylowo-metylowym, rozczepienie jest możliwe tylko wtedy, gdy do układu doda się metanol. Jest on konieczny do utworzenia solwatu z jednym

z diastereoizomerów, który selektywnie wytrąca się z wyjściowej mieszaniny (Schemat 17) [24].



Schemat 17. Rozdzielenie *rac*-CHRA z (*R,R*)-DMAD
Scheme 17. Resolution of *rac*-CHRA with (*R,R*)-DMAD

W niektórych przypadkach tworzą się diastereoizomeryczne solваты. Na przykład podczas rozdzielania racemicznej amlodipiny (AML) w obecności (*R,R*)-TA w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika otrzymano różne sole diastereoizomeryczne. W DMSO preferencyjnie krystalizował solwat soli zawierającej (*S*)-enancjomer. Natomiast, jeśli proces rozdzielania przeprowadzono w DMA, selektywnie krystalizował solwat soli z enancjomerem o konfiguracji (*R*) (Schemat 18) [4].

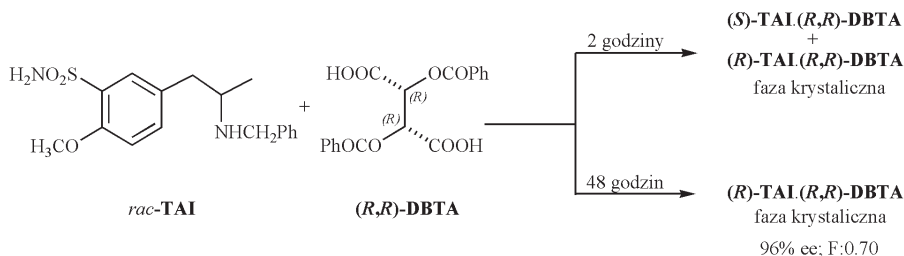


Schemat 18. Rozdzielenie *rac*-AML z (*R,R*)-TA
Scheme 18. Resolution of *rac*-AML with (*R,R*)-TA

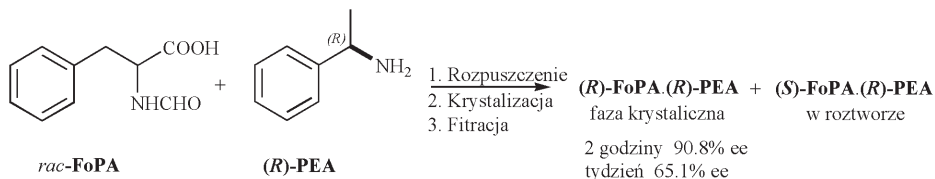
2.3. OPTYMALIZACJA WARUNKÓW ROZDZIELENIA MIESZANINY ENANCJOMERÓW – CZAS KRYSZALIZACJI

Po dodaniu odczynnika chiralnego do mieszaniny enancjomerów krystalizuje po pewnym czasie sól diastereoizomeryczna. Ogólnie przyjętą praktyką jest odsączanie otrzymanego osadu dopiero po dłuższym czasie tak, aby zapewnić kompletne strącenie diastereoizomeru. Takie podejście zakłada kontrolę termodynamiczną, z roztworu krystalizuje sól trwalsza termodynamicznie.

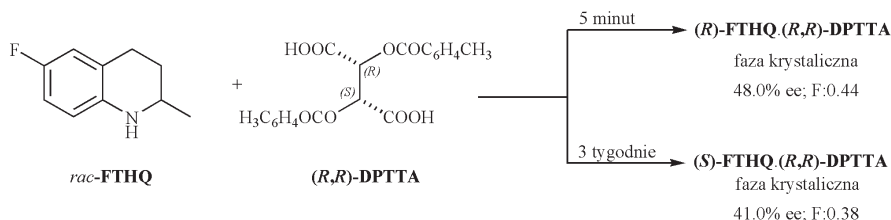
Na przykład w trakcie rozdzielania racemicznego intermediatu tamsulosyny (TAI) z użyciem (*R,R*)-DBTA jako czynnika chiralnego w mieszaninie wody i etanolu po 2 godzinach krystalizował osad, który zawierał równomolową mieszaninę obu diastereoizomerycznych soli. Natomiast po 2 dniach krystalizowała sól trwalsza termodynamicznie wzbogacona w enancjomer o konfiguracji (*R*) (Schemat 19) [4, 25].

Schemat 19. Rozdzielenie *rac*-TAI z *(R,R)*-DBTAScheme 19. Resolution of *rac*-TAI with *(R,R)*-DBTA

Generalnie zaleca się sprawdzanie czystości optycznej krystalizujących frakcji w czasie. Jeśli najpierw krystalizuje mniej stabilna sól diastereoizomeryczna (kontrola kinetyczna) to po dłuższym czasie może ulec zmianie jej czystość optyczna (jeśli krystalizuje sól trwalsza termodynamicznie). Na przykład czystość diastereoizomeryczna soli powstałej podczas rozdzielania racemicznej *N*-formylofenoalaniny (FoPA) z *(R)*-fenoetyloaminą (PEA) była funkcją czasu. Po dwóch godzinach słabiej rozpuszczalna sól diastereoizomeryczna charakteryzowała się wyższą czystością optyczną niż sól, która wykrystalizowała po tygodniu (Schemat 20) [4, 14, 26].

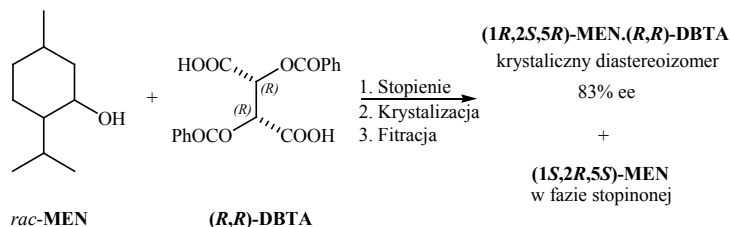
Schemat 20. Rozdzielenie *rac*-FoPA z *(R)*-PEAScheme 20. Resolution of *rac*-FoPA with *(R)*-PEA

Monitorowanie czystości optycznej uzyskanych krystalicznych frakcji w czasie może również prowadzić do otrzymania dwóch czystych optycznie diastereoizomerycznych soli. Na przykład rozczepienie FTHQ w octanie etylu za pomocą *(R,R)*-DPTTA – po 5 minutach krystalizowała mniej stabilna termodynamicznie sól zawierająca enancjomer o konfiguracji *R*. Natomiast po odwirowaniu osadu z roztworu po około 3 tygodniach preferencyjnie krystalizowała trwalsza termodynamicznie sól *(S)*-FTHQ.*(R,R)*-DPTTA (Schemat 21) [21].

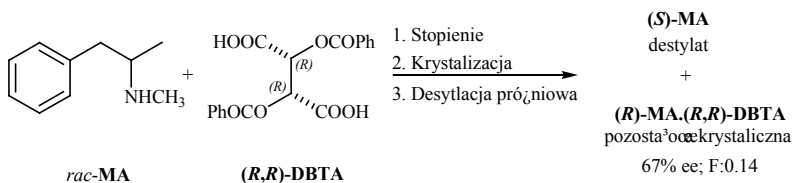
Schemat 21. Rozdzielenie *rac*-FTHQ z *(R,R)*-DPTTAScheme 21. Resolution of *rac*-FTHQ with *(R,R)*-DPTTA

3. KRYSTALIZACJA DIASTEREOIZOMERÓW BEZ ROZPUSSZCZALNIKA

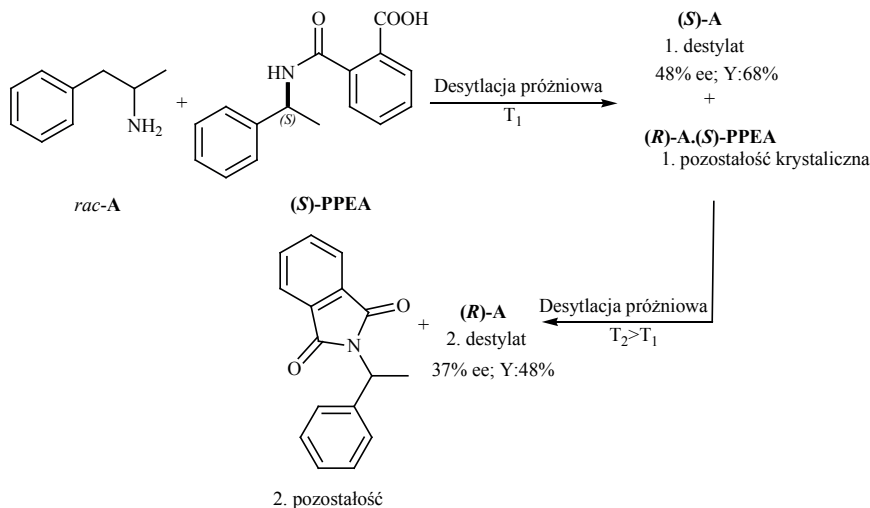
W procesie rozdzielenia mieszanin racemicznych enancjomerów w metodzie pośredniej bez rozpuszczalników najpierw ogrzewa się rozczepianą mieszaninę z czynnikiem chiralnym w celu jej stopnienia, a następnie ochładza, aby wykryształizował jeden z diastereoizomerów. Otrzymaną fazę krystaliczną można oddzielić od fazy stopionej na przykład za pomocą filtracji. Tę metodę wykorzystano do rozdzielania racemicznego mentolu (MEN) z zastosowaniem *(R,R)*-DBTA jako odczynnika rozdzielającego. Preferencyjnie krystalizował diastereoizometryczny kompleks molekularny zawierający izomer *(1R,2S,5R)*-mentolu (*L*-MEN), który za pomocą filtracji usunięto z fazy stopionej, wzbogaconej w enancjomer o konfiguracji przeciwnej (Schemat 22) [4, 27].

Schemat 22. Rozdzielenie *rac*-MEN z *(R,R)*-DBTAScheme 22. Resolution of *rac*-MEN with *(R,R)*-DBTA

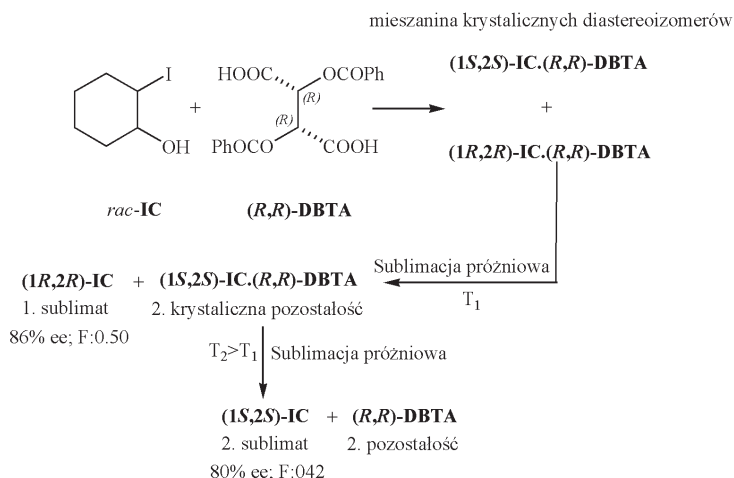
Oddzielenie krystalicznej fazy od enancjomeru znajdującego się w fazie stopionej może również zostać przeprowadzone z zastosowaniem innej metody separacji, na przykład destylacji. W taki sposób oddzielono kryształy otrzymanej pochodnej powstałej w wyniku zmieszania racemicznej mieszaniny *N*-metylofenyloizopropylaminy (MA) z *(R,R)*-DBTA w stosunku 1:0,5. Oddestylowano *(S)*-MA z nad krystalicznej diastereoizometrycznej soli *(R)*-MA.*(R,R)*-DBTA (Schemat 23) [28].

Schemat 23. Rozdzielenie *rac*-MA z (R,R)-DBTAScheme 23. Resolution of *rac*-MA with (R,R)-DBTA

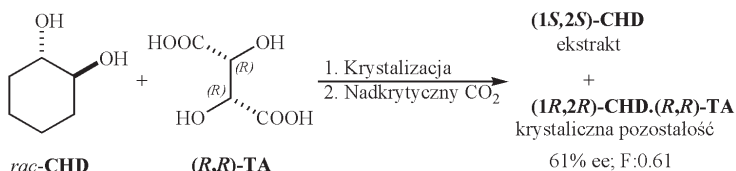
Za pomocą destylacji rozdzielono również racemiczną fenylizopropylaminę (A). Najpierw do racematu dodano czynnika chiralnego, (S)-*N*-ftalioilofenyletyloaminę (PPEA), po stopieniu i ochłodzeniu krystalizowała preferencyjnie sól zawierająca enancjomer o konfiguracji (R). (S)-A oddestylowano w niższej temperaturze z fazy krystalicznej. Po podwyższeniu temperatury diastereoizomeryczna sól ulegała dekompozycji i można było oddestylować enancjomer o konfiguracji (R) (Schemat 24) [29].

Schemat 24. Rozdzielenie *rac*-A z (S)-PPEAScheme 24. Resolution of *rac*-A with (S)-PPEA

Związek racemiczny można również rozdzielić za pomocą sublimacji. Na przykład, jeśli przeprowadzi się w fazie stałej reakcję racematu *trans*-2-jodocykloheksanolu (IC) z czynnikiem chiralnym (R,R)-DBTA otrzymuje się dwa diastereoizomeryczne kompleksy molekularne. W niższej temperaturze dekompozycji ulega kompleks (1*R*,2*R*)-IC.(R,R)-DBTA i selektywnie sublimuje czysty optycznie izomer (1*R*,2*R*)-IC. Jeśli podwyższy się temperaturę za pomocą sublimacji można otrzymać izomer o konfiguracji przeciwnej. Ta metoda pozwala nie tylko rozdzielić związek racemiczny, ale również odzyskać odczynnik chiralny (Schemat 25) [4, 30].

Schemat 25. Rozdzielenie *rac*-IC z (*R,R*)-DBTAScheme 25. Resolution of *rac*-IC with (*R,R*)-DBTA

Diastereoizomery rozdzielane w postaci soli lub kompleksów molekularnych można również odseparować poprzez ekstrakcję nadkrytycznym ditlenkiem węgla. Czyste optycznie izomery cykloheksano-1,2-diolu (CHD) z jego racemicznej mieszaniny otrzymano podczas rozczepienia z (*R,R*)-TA. Wolny izomer (*S,S*)-CHD rozpuszczał się w nadkrytycznym ditlenku węgla, natomiast diastereoizomer, kompleks molekularny (*R,R*)-CHD z (*R,R*)-TA, pozostał w fazie stałej (Schemat 26) [2, 31].

Schemat 26. Rozdzielenie *rac*-CHD z (*R,R*)-TAScheme 26. Resolution of *rac*-CHD with (*R,R*)-TA

UWAGI KOŃCOWE

Jedną z metod rozdzielania mieszanin enancjomerów jest krystalizacja. Rozczepienie izomerów optycznych może odbywać się bezpośrednio lub pośrednio przeprowadzając rozdzielaną mieszaninę w odpowiednie pochodne diastereoizomeryczne w wyniku wprowadzenia do układu czynnika chiralnego. Podstawą rozdzielania równomolowej mieszaniny enancjomerów w metodzie pośredniej są różne właściwości fizyczne otrzymanych pochodnych. Na efektywność rozdzielania racematów (F) ma wpływ struktura i charakter chemiczny odczynnika chiralnego, zastosowany rozpuszczalnik jak również czas krystalizacji. Rozdzielenie diastereoizomerycznych soli lub kompleksów poprzez krystalizację przeprowadza się z roztworu lub fazy stopionej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W.M Potapow, *Stereochemia*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1986.
- [2] F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics, J. Schindler, *Tetrahedron Asymmetry*, 2008, **19**, 519.
- [3] R. Siedlecka, *Tetrahedron Asymmetry*, 2013, **69**, 6331.
- [4] Y. Mastai, *Advances in Crystallization Processes*, Chapter 1: E. Pálovics, F. Faigl, E. Fogassy, *Separation of the Mixtures of Chiral Compounds by Crystallization*, 2012, InTech.
- [5] E. Pálovics, Z. Szelezcky, B. Földi, F. Faigla, E. Fogassy, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 21254.
- [6] H. Lorenz, F. Capla, D. Polenske, M.P. Elsner, A. Seidel-Morgenstern, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 2007, **42**, 5.
- [7] K. Sakai, N. Hirayama, R. Tamura, *Novel Optical Resolution Technologies*, Springer, Berlin, 2007
- [8] P. Anandamanoharan, "Isolation of Enantiomers via Diastereomers Crystallisation" PhD dissertation, Department of Chemical Engineering University College London, Wielka Brytania, 2010
- [9] H. Buchowski, W. Ufnalski, *Roztwory – wykłady z chemii fizycznej*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1995
- [10] L. Synoradzki, U. Bernas, P. Ruśkowski, *Organic Preparations and procedures Int.*, 2008, **40**, 163.
- [11] W.J. Pope, S.J. Peachey, *J. Chem. Soc.*, 1899, **75**, 1066.
- [12] R.M. Kellogg, J.W. Nieuwenhuijzen, K. Pouwer, T.R. Vries, Q.B. Broxterman, R.F.P. Grimbergen, B. Kaptein, R.M. La Crois, E. de Wever, K. Zwaagstra, A.C. van derLaan, *Synthesis*, 2003, 1626.
- [13] J. Dalmolen, "Synthesis and Application of New Chiral Amines in Dutch Resolution, Family Behaviour in Nucleation Inhibition", PhD dissertation, University of Groningen, Holandia, 2005.
- [14] E. Pálovics, "Structurally related compounds with common skeleton in the resolution processes", PhD dissertation, Department of Organic Chemistry and Technology, Węgry, 2008.
- [15] E. Fogassy, A. Lopata, F. Faigl, M. Ács, F. Darvas, L. Töke, *Tetrahedron Lett.*, 1980, **21**, 647.
- [16] E. Fogassy, F. Faigl, M. Ács, K. Simon, É. Kozsda, B. Podányi, M. Czugler, G. Reck, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1988, 1385. Hung. Pat. No. 188.255, 1988.
- [17] K. Simon, É. Kozsda, F. Faigl, E. Fogassy, G. Reck, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1990, 1395. Hung. Pat. No. 197.866, 1985.
- [18] K. Sakai, R. Sakurai, A. Yuzawa, N. Hirayama, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 3713.
- [19] R. Sakurai, K. Sakai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 411.
- [20] K. Sakai, R. Sakurai, N. Hirayama, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**, 1073.
- [21] J. Bálint, G. Egri, V. Kiss, A. Gajáry, Z. Juvancz, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2001, **12**, 3435.
- [22] Hung. Pat. no. 179452, *Chem. Abs.*, 1978, **97** 6331
- [23] E. Fogassy, M. Ács, G. Toth, K. Simon, T. Láng, L. Ladányi, L. Párkányi, *J. Mol. Struct.*, 1986, **147**, 143.
- [24] É. Kozsda-Kovács, G. Keserű, Z. Böcskei, J. Szilágyi, K. Simon, B. Bertók, E. Fogassy, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2000, 149.
- [25] T. Gizur, *Hun Pat.* 202963 2002, CAS 140 253341
- [26] E. Pálovics, J. Schindler, F. Faigl, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2010, **21**, 2429.
- [27] K. Simon, Z. Vincze, K. Marthi, G. Lévai, Gy. Pokol, E. Fogassy and D. Kozma, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2004, **75**, 787.
- [28] D. Kozma, Z. Madarász, Cs. Kassai, E. Fogassy, *Chirality*, 1999, **11**, 373.
- [29] M. Ács, A. Mravik, E. Fogassy, Zs. Böcskei, *Chirality*, 1994, **6**, 314.
- [30] C. Kassai, D. Kozma, E. Fogassy, *Synth. Commun.*, 2006, **36**, 1015.
- [31] P. Molnár, P. Thorey, Gy. Bánsághi, E. Székely, L. Poppe, A. Tomin, S. Kemény, E. Fogassy, B. Simándi, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 1587.

**ROZDZIELENIE MIESZANIN RACEMICZNYCH
ZA POMOCĄ KRYSTALIZACJI. CZĘŚĆ II.
ROZDZIELENIE RACEMATÓW Z UTWORZENIEM
DIASTEREOIZOMERYCZNYCH SOLI**

**SEPARATION OF THE RACEMIC MIXTURES
BY CRYSTALLIZATION. PART II.
RESOLUTION BY FORMATION
OF DIASTEREOMERIC SALTS**

**Renata Kołodziejska¹, Renata Studzińska²,
Ewa Kopkowska¹, Aleksandra Karczmarzka-Wódzka¹,
Beata Augustyńska¹**

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

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

Abstract

Wprowadzenie

1. Tworzenie diastereoizomerycznych soli
2. Rozdzielenie racemicznych amin
3. Rozdzielenie racemicznych kwasów

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane



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



Dr Ewa Kopkowska, starszy wykładowca w Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu w Katedrze Biochemii. Jej zainteresowania naukowe dotyczą wpływu struktury nukleozydów pirymidynowych i ich analogów na ich własności fizykochemiczne (pKa, lipofilowość) w związku z potencjalną aktywnością biologiczną tych związków.



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



Dr Aleksandra Karczmarzka-Wódzka, pracownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują badania nad enancjoselektywną redukcją analogów nukleozydowych.



Dr hab. n. med. Beata Augustyńska, kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Zainteresowania naukowe Autorki obejmują ocenę stanu oksydacyjnego z zastosowaniem enzymatycznych i nieenzymatycznych wykładników.

ABSTRACT

The enantioseparation of a racemate through diastereomeric salt formation with a resolving agent is one of the most attractive methods for obtaining an enantiopure compound, with advantages such as its simplicity in operation, recyclability of the chiral source, and applicability on an industrial scale.

In this method the enantiomers are converted into a diastereomeric salt pair by reaction with a single enantiomer of resolving agent. The diastereomers are then separated by crystallization taking advantage of the different solubility of the two compounds [1–3].

The formation of diastereomers, to be separated afterward, usually consists of salt formation with a resolving agent of opposite acide-base character (Scheme 1, **9**). In this process, the molecules of opposite character (amine and acid) recognize each other by various interactions on the basis of their molecular structures and functional groups [3].

Using this method can be obtained a series of enantiomerically pure amines (Scheme 2–8) [4–26] and acids (Scheme 10–17) [27–41] which may be valuable substrates for asymmetric synthesis. The conditions for enantioseparation play an important role. On the efficiency of the enantioseparation has an effect the resolving agent, nature of the solvent or just its dielectric constant and the character and amount of some supplementary additives.

Keywords: crystallization, resolution of racemic mixture, resolution of rac-amines, resolution of rac-acids, diastereoisomeric salts

Słowa kluczowe: krystalizacja, rozdzielanie racemicznych amin, rozdzielanie racemicznych kwasów, diastereoizomeryczne sole

WPROWADZENIE

Naturalne związki chemiczne występujące w organizmach żywych, o ile zawierają centrum stereogeniczne, są homochiralne, tzn. posiadają określoną konfigurację. Do tej grupy związków należą na przykład aminokwasy i cukry. Ich odbicia lustrzane mają identyczne właściwości chemiczne i fizyczne, poza skręcalnością światła spolaryzowanego. Jednak oddziaływanie z podłożem chiralnym pary izomerów optycznych nie jest identyczne. Z tego powodu chiralne związki mogą znacznie różnić się swoją aktywnością. Jeden z enancjomerów może być biologicznie czynny, podczas gdy drugi z nich być nieaktywny lub posiadać inny rodzaj pożądanej lub niepożądanej aktywności farmakologicznej. Z tego względu synteza enancjomeerycznie czystych związków chiralnych jest jednym z ważniejszych wyzwań chemii organicznej. Otrzymanie chiralnego związku o dużej czystości optycznej przeprowadza się najczęściej na drodze syntezy asymetrycznej, rozdzielania kinetycznego mieszanin racemicznych lub enancjoseparacji standardowymi metodami fizycznymi.

Jedną z najstarszych metod rozdzielenia mieszanin enancjomerów jest krystalizacja. Od czasu pierwszej enancjoseparacji przeprowadzonej przez Pasteura w 1848 roku można stwierdzić znaczny rozwój tego prostego i niekosztownego sposobu rozdzielania.

W klasycznej procedurze przeprowadza się enancjomery w diastereoizomeryczne pochodne, które rozdziela się wykorzystując ich różne właściwości fizyczne i chemiczne. Podczas optymalizacji rozdzielenia mieszaniny enancjomerów największym problemem jest wybór właściwego czynnika chiralnego oraz rozpuszczalnika. Pomimo, iż opracowano metody teoretyczne, które znacznie ułatwiają enancjoseparację to i tak w większości przypadków dobór właściwych warunków rozdzielania enancjomerów odbywa się na drodze eksperymentalnej. Z tego powodu rozdzielanie racematów jest żmudnym i długotrwałym procesem [1–3].

W pracy przedstawiono przykłady rozdzielania mieszanin racemicznych poprzez utworzenie diastereoizomerycznych soli przeprowadzonych w ciągu kilku ostatnich lat.

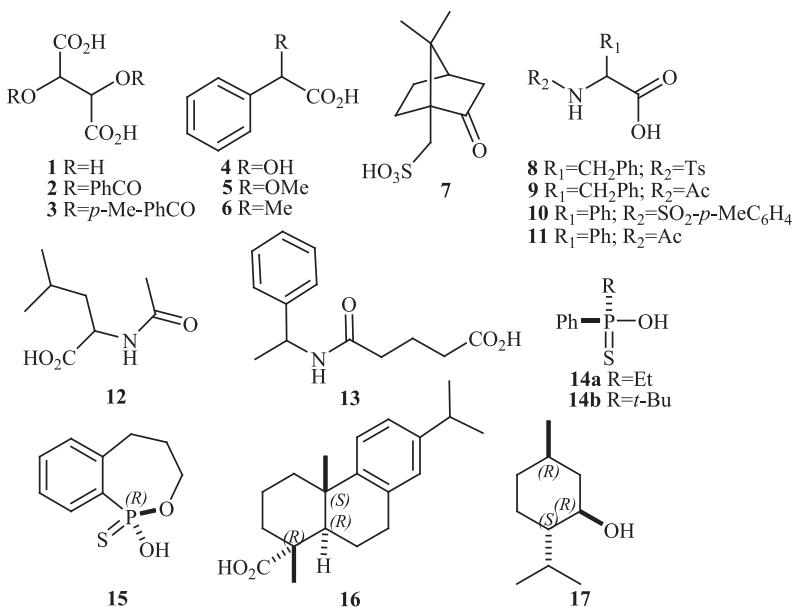
1. TWORZENIE DIASTEREOIZOMERYCZNYCH SOLI

Powstawanie diastereoizomerów jest możliwe, jeśli enancjomery rozdzielanej mieszaniny posiadają odpowiednią chemicznie czynną grupę, która może oddziaływać z czynnikiem chiralnym. Cząsteczki „rozpoznają” się wzajemnie dzięki odpowiednim interakcjom określonych grup funkcyjnych. Charakter chemiczny rozdzielanej mieszaniny powinien odpowiadać charakterowi chemicznemu odczynnika chiralnego. Na przykład do rozdzielania racemicznych amin wykorzystuje się kwasowe czynniki chiralne, podczas gdy rozdzielenie kwasów ma miejsce gdy zastosuje się czystą enancjomeerycznie aminę. Utworzone diastereoizomeryczne sole różnią się właściwościami fizycznymi w tym rozpuszczalnością. Preferencyjnie krystalizuje

mniej rozpuszczalna sól, podczas gdy druga z soli pozostaje w roztworze. Wykryształowaną sól oczyszcza się na drodze kilkukrotnej krystalizacji. Ostatecznie dekompozycja soli pozwala otrzymać z rozdzielanej mieszaniny czysty optycznie izomer [3].

2. ROZDZIELENIE RACEMICZNYCH AMIN

Kwas winowy (**1**) oraz jego diacylowe (**2** i **3**) pochodne są powszechnie wykorzystywanymi odczynnikami do rozdzielania zasadowych mieszanin racemicznych zarówno w laboratorium jak i na skalę przemysłową. Obecnie obok kwasu winowego używa się całej gamy czystych enancjomerycznych kwasów jako czynników chiralnych. Na schemacie 1 przedstawiono przykładowe związki pomocnicze stosowane w rozdzielaniu równomolowych mieszanin chiralnych amin [3].



Schemat 1. Kwasowe czynniki chiralne

Scheme 1. Acidic resolving agents

Za pomocą krystalizacji udało się rozdzielić szereg amin o różnej rzędowości.

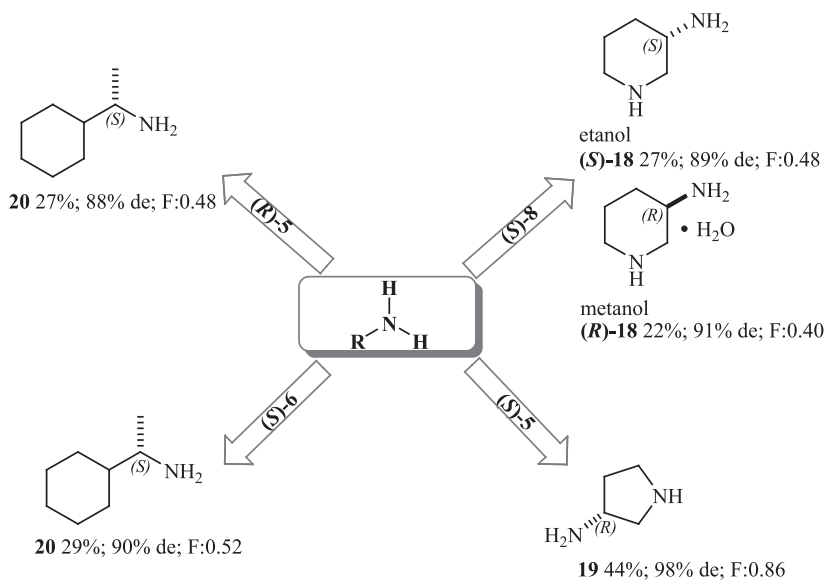
Aminy pierwszorzędowe alifatyczne, aromatyczne jak również polifunkcyjne skutecznie rozdziela się poprzez przeprowadzenie w odpowiednie diastereoizomeryczne sole.

Na przykład racemiczną 3-aminopiperdynę (**18**) rozczepiono stosując *N*-(*p*-toluenosulfonylo)-(*S*)-fenyloalaninę (**8**) jako czynnik chiralny (Schemat 2, **18**) [4]. W zależności od polarności rozpuszczalnika preferencyjnie krystalizowała sól

diastereoizomeryczna zawierająca enancjomer (*R*) lub (*S*). Na przykład w etanolu ($\epsilon = 24$) selektywnie wypadała z roztworu sól homochiralna (*S*)-**18**.(*S*)-**8**, natomiast w metanolu ($\epsilon = 33$) krystalizowała sól heterochiralna (*R*)-**18**.(*S*)-**8**. W obu przypadkach otrzymane sole charakteryzowały się wysoką czystości diastereoizomeryczną.

Kwas (*S*)-2-metoksy-2-fenyllooctowy (**5**) okazał się najlepszym czynnikiem chiralnym do rozdzielania racemicznej 3-aminopiperolidyny (**19**) [5]. Efektywność rozczepienia enancjomerów zwiększono poprzez dodatek czynnika achiralnego kwasu chlorowodorowego, który z jednym z enancjomerów tworzył bardziej rozpuszczalną sól. W zoptymalizowanych warunkach ((*R,S*)-**19**/*S*)-**5**/HCl 1:1:1) z roztworu preferencyjnie krystalizowała diastereoizomeryczna sól (*R*)-**19**.(*S*)-**5** w stosunku (1:2) (Schemat 2, **19**). W skali preparatywnej z 50 kg racemicznego chlorowodoru 3-aminopiperolidyny otrzymano 53,8 kg słabiej rozpuszczalnej soli z 98% nadmiarem diastereoizomerycznym.

(*S*)-1-cykloheksyloetanoaminę (**20**) o wysokiej czystości optycznej uzyskano podczas enancjoseparacji z jej racemicznej mieszaniny z zastosowaniem kwasów (*R*)-2-metoksy-2-fenyllooctowego (**5**) oraz (*S*)-2-fenylpropionowego (**6**) [6]. W zależności od odczynnika chiralnego z izopropanolu selektywnie krystalizowała sól homo- lub heterochiralna zawierająca enancjomer (*S*) (Schemat 2, **20**).



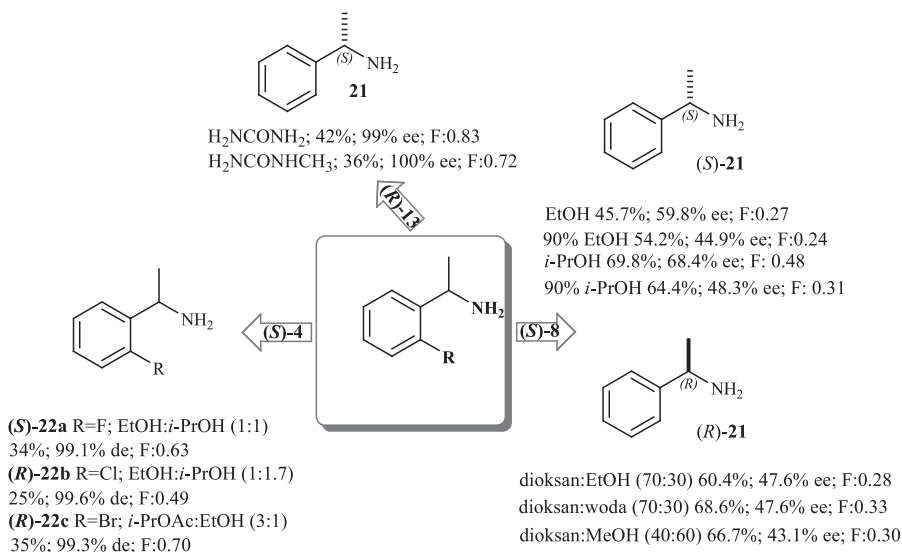
Schemat 2. Rozdzielenie racematów związków **18-20**
Scheme 2. Resolution of *rac*-**18-20**

Skutecznie rozczepia się również aminy z podstawnikami aryłowymi. Obecność podstawnika aryłowego w większości przypadków wpływa na zwiększenie stabilności mniej rozpuszczalnej soli diastereoizomerycznej. Na przykład racemiczną 1-fenylloetyloaminę (**21**) rozdzielono z (*S*)-**8** [7]. Z roztworu krystalizowała słabiej

rozpuszczalna sól diastereoizomeryczna zawierająca 1-fenyletylaminę o różnej konfiguracji absolutnej w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika. Sól (*S*)-**21**. (*S*)-**8** słabiej rozpuszczała się w alkoholach lub ich wodnych roztworach. Natomiast z mieszaniny dioksanu i alkoholu lub wody wypadł diastereoizomer zawierający enancjomer o konfiguracji przeciwnej. Ostatecznie otrzymano oba enancjomery z umiarkowanym nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 3, **21**).

Na efektywność rozdzielania 1-fenyletyloaminy (**21**) z kwasem (*R*)-*N*-(1-fenyletylo)-glutaminowym (**13**) wpływa dodatek związku achiralnego [8]. Najlepsze wyniki uzyskano w wyniku rozczepienia przeprowadzonego w obecności mocznika i *N*-metylomocznika. Efekt inhibicji tworzenia zarodków krystalizacji (nukleacji) bardziej rozpuszczalnej soli diastereoizomerycznej umożliwił preferencyjną krystalizację czystej optycznie soli heterochiralnej (Schemat 3, **21**).

Z sukcesem rozdzielono również *ortho*-halogenopodstawione pochodne fenyletyloaminy (**22**) z zastosowaniem kwasu (*S*)-migdałowego ((*S*)-**4**) jako czynnika chiralnego [9]. W przypadku 2-fluoro- (**22a**) i 2-chloroamino (**22b**) najlepszą wydajność uzyskano z mieszaniny etanolu i izopropanolu. Natomiast czystą optycznie 2-bromopochodną (**22c**) otrzymano w mieszaninie octanu izopropylu i etanolu. W przypadku *o*-chloro- i *o*-bromopochodnych fenyletyloaminy preferencyjnie krystalizowała sól heterochiralna, podczas gdy z *o*-fluoropochodną selektywnie wypadła z roztworu sól homochiralna (Schemat 3, **22a-c**).



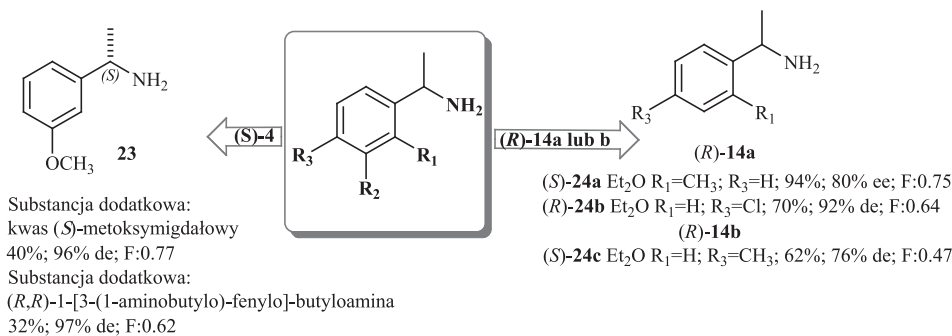
Schemat 3. Rozdzielenie racemicznych amin **21**, **22**

Scheme 3. Resolution of *rac*-amines **21**, **22**

Na wydajność rozczepienia racemicznej 3-metoksyfenyletyloaminy (**23**) z (*S*)-**4** wpływa chiralna substancja dodatkowa [10]. Dodany związek chiralny był strukturalnym analogiem czynnika rozdzielającego (tzw. Dutch rozdział) lub roz-

dzielanej mieszaniny. W pierwszym przypadku najlepsze wyniki uzyskano z kwasem (*S*)-metoksymigdałowym, w drugim jeśli zastosowano (*R,R*)-1-[3-(1-aminobutylo)-fenylo]-butyloaminę (Schemat 4, **23**). Obecność chiralnej substancji dodatkowej umożliwiła otrzymanie homochiralnej diastereoizomerycznej soli o wysokiej czystości optycznej, w porównaniu z rozdzielaniem bez chiralnego inhibitora nukleacji.

Orto- lub *para*-analogii 1-feniloetyloaminy (Schemat 4, **24a-c**) rozdzielono za pomocą czystych optycznie kwasów alkilofenylofosfotiotowych(V) (**14a i b**) [11]. Kwas (*R*)-**14a** okazał się dobrym czynnikiem chiralnym do rozczepienia racemicznej *o*-metylowej pochodnej 1-feniloetyloaminy (**24a**). W przypadku *para* analogu (**24c**) najlepsze wyniki uzyskano z zastosowaniem związku (*R*)-**14b**. W obu przypadkach krystalizowała preferencyjnie sól z enancjomerem (*S*). Natomiast 1-*p*-Cl-feniloetyloamina (**24b**) selektywnie krystalizowała w obecności związku (*R*)-**14a** w postaci homochiralnej soli diastereoizomerycznej zawierającej enancjomer (*R*).



Schemat 4. Rozdzielenie racematów związków **23** i **24**
Scheme 4. Resolution of *rac*-**23** and *rac*-**24**

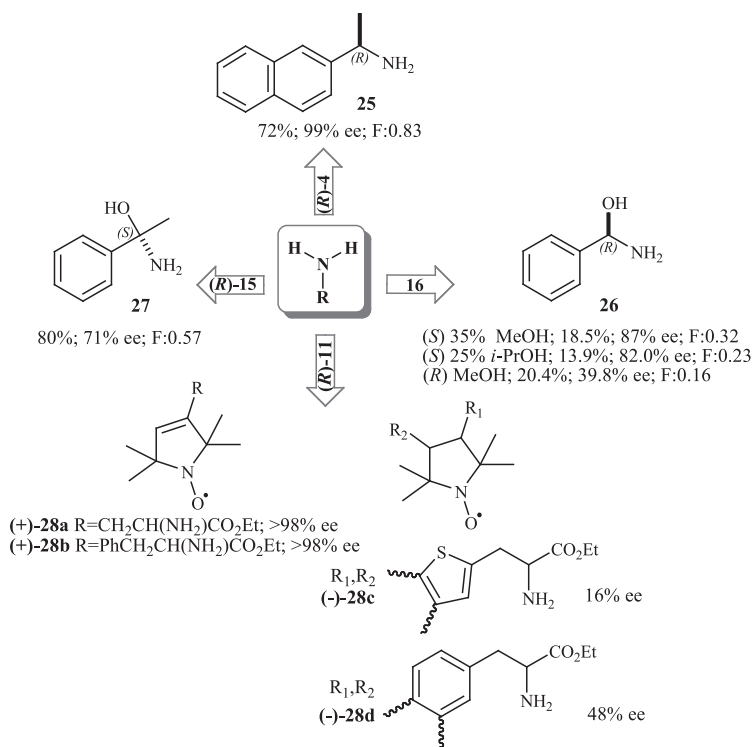
W obecności (*R*)-**4** rozdzielono mieszaninę racemiczną 1-naftyloetyloaminy (**25**) [12]. Z etanolu preferencyjnie krystalizowała czysta diastereoizomerycznie sól (*R*)-**25**. (*R*)-**4** z wysoką wydajnością (72%) (Schemat 5, **25**).

Enancjoseparację 2-amino-1-feniloetanolu (**26**) przeprowadzono z użyciem kwasu dehydroabietynowego (**16**) (kwas abietynowy – naturalny kwas znajdujący się w żywicach drzew sosnowych) [13]. (*R*) i (*S*)-aminoalkohole uzyskano stosując rozpuszczalniki lub roztwory wodne tych rozpuszczalników o różnej polarności (Schemat 5, **26**). (*S*)-enancjomer o wysokiej czystości optycznej otrzymano z wodnych roztworów metanolu i izopropanolu, dla których wartość $\epsilon > 50$. Natomiast enancjomer o konfiguracji przeciwnej uzyskano z mniej polarnych układów ($20 < \epsilon < 40$). Jednak czystość optyczna (*R*)-aminoalkoholi w mniej polarnym środowisku była zdecydowanie niższa (od 15,1 do 39,8% ee).

2-amino-2-feniloetanól (**27**) rozdzielono za pomocą kwasu *O*-alkilofenylofosfotiotowego(V) zawierającego siedmiocłonowy pierścień ((*R*)-**15**) [14]. Z mieszaniny heksan/acetone preferencyjnie krystalizowała sól heterochiralna (Sche-

mat 5, 27). Ostatecznie otrzymano (*S*)-**27** z 71% nadmiarem enanjomerycznym i 80% wydajnością (F: 0,57).

Racemiczne estry α -aminokwasów o właściwościach paramagnetycznych (Schemat 5, **28a-d**) rozdzielono z użyciem (*R*)-*N*-acetylofenyloglicyny (**11**), którą zmieszaną z racematem w stosunku 0,5:1 [15]. Otrzymano z wysoką czystością enanjomeryczną związków **28a** i **28b** (ee > 98%). Natomiast czystość optyczna związków **28c** i **28d** była zdecydowanie niższa i wynosiła odpowiednio 16% i 48% ee.



Schemat 5. Rozdzielenie racematów związków **25–28**

Scheme 5. Resolution of *rac*- **25–28**

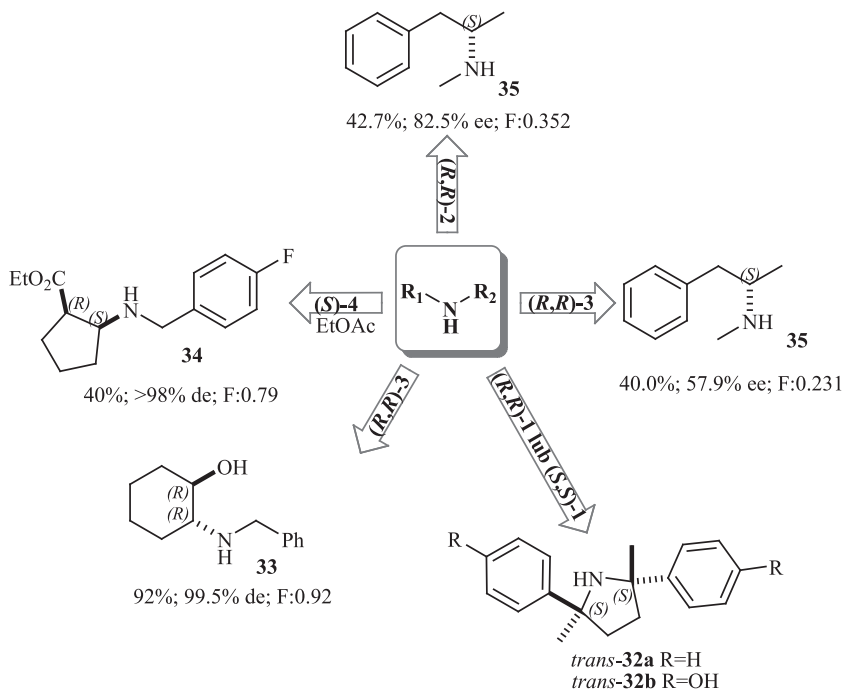
Za pomocą *N*-zabezpieczonych aminokwasów rozdzielono *rac*- α -aminoacetale (**29**) [16]. Związki **29a-d** rozczepiono z (*S*)- i (*R*)-*N*-acetylofenyloalaniną (**9**), natomiast racemiczny związek **29e** z (*S*)-*N*-acetyloleucyną (**12**) (Schemat 6, **29a-e**). Najwyższą wartość F dla prawie wszystkich α -aminoacetali uzyskano z izopropanolu lub z mieszaniny izopropanolu z acetonem. Tylko w przypadku związku **29e** najlepszą efektywność rozdzielania racematu otrzymano w mieszaninie THF i acetonu.

Inną aminę pierwszorzędową o dużej zawadzie przestrzennej, amlodypinę (**30**) rozdzielono w obecności kwasu (*R,R*)-winowego ((*R,R*)-**1**) [17]. (*S*)-amlodypina oraz jej sole należą do długo działających blokerów wapniowych. Lek ten stosowany jest w zaburzeniach sercowo-naczyniowych. Podczas rozdzielania mieszaniny *rac*-

Drugorzędową aminę pochodnej 2,5-diarylopirolidyny (**32**) rozdzielono z zastosowaniem (*R,R*)-**1** lub (*S,S*)-**1** jako czynnika chiralnego [19]. Otrzymano enancjomerycznie czyste aminy: *trans*-2,5-dimetylo-2,5-difenylopirolidynę (**32a**) oraz *trans*-2,5-dimetylo-2,5-bis(3-hydroksyfenylo)-pirolidynę (**32b**) (Schemat 7, **32a-b**).

Racemiczny *trans*-2-(benzyloamino)cycloheksanol (**33**) rozczepiono w obecności kwasu (*R,R*)-di-*p*-toluolwinowego ((*R,R*)-**3**) (Schemat 7, **33**) [20]. Czysty diastereoizomerycznie *trans*-**33** o konfiguracji (*R,R*) otrzymano w układzie z achiralną substancją dodatkową: kwasem chlorowodorowy. Optymalny stosunek molowy poszczególnych składników mieszaniny wynosił: *rac*-**33**/*(R,R)*-**3**/HCl 1,0:0,6:0,4.

Ester kwasu *cis*-2-(4'-fluorobenzylamino)cyclopentanokarboksylowego (**34**) jest intermedyatem w syntezie inhibitora polimerazy HCV NS5B [21]. Racemiczną mieszaninę tego związku rozdzielono za pomocą (*S*)-**4**. Po rozpuszczeniu racematu i czynnika chiralnego w octanie etylu preferencyjnie krystalizowała sól (1*R*,2*S*)-**34**. (*S*)-**4** o wysokiej czystości optycznej (>99% de) (Schemat 7, **34**). W celu uzyskania enancjomery o konfiguracji przeciwnej przeprowadzono rozdzielanie w obecności (*R*)-**4**. W tym przypadku wyizolowano sól zawierającą (1*S*,2*R*)-izomer z identycznym, ponad 99% nadmiarem diastereoizomerycznym (F: 0,73).

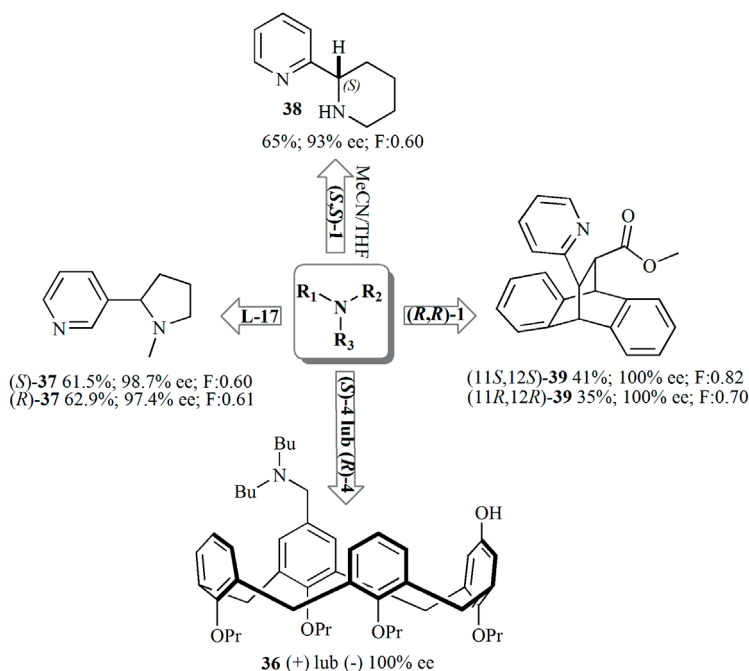


Schemat 7. Rozdzielenie racematów związków **32-35**
Scheme 7. Resolution of *rac*-**32-35**

Rozdzielenie trzeciorzędowej aminy pochodnej kaliks[4]arenu (**36**) (makrocząsteczki powstałej w wyniku kondensacji formaldehydu i pochodnych fenolu)

przeprowadzono w obecności kwasu migdałowego (Schemat 8, **36**) [23]. W zależności od konfiguracji absolutnej czynnika chiralnego otrzymano z wysoką czystością optyczną prawo- i lewoskrętne enancjomery związku **36**.

L-mentol (**17**) został użyty jako czynnik rozdzielający mieszaninę racemiczną nikotyny (**37**) [24]. Preferencyjnie z roztworu krystalizowała sól zawierająca (*S*)-nikotyne. Okazało się, że obie diastereoizomeryczne sole można było również rozdzielić i to mechanicznie po odparowaniu rozpuszczalnika, ponieważ tworzyły różne jakościowo kryształy. Sól z (*S*)-enancjomerem tworzyła duże przezroczyste kryształy, podczas gdy bardziej rozpuszczalna sól zawierająca (*R*)-enancjomer tworzyła nieprzezroczyste, białe, małe i pierzaste kryształy. Po rekrystalizacji i dekompozycji otrzymanych soli uzyskano (*S*)-**37** i (*R*)-**37** z odpowiednio 98,7% i 97,4% nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 8, **37**).



Schemat 8. Rozdzielenie racematów związków **36-39**

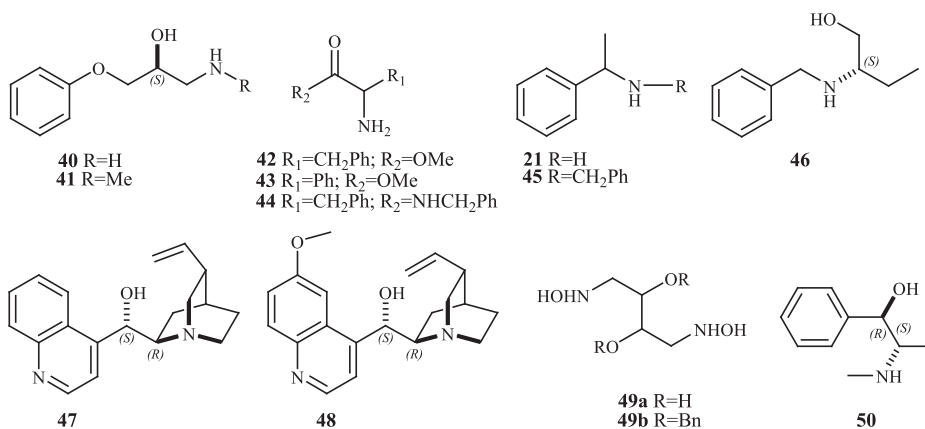
Scheme 8. Resolution of *rac*-**36-39**

2-(2'-piperydinylo)pirydyna (**38**) jest atrakcyjnym *N,N*-dwukleszczowym ligandem kompleksującym metale, chętnie stosowanym w katalizie asymetrycznej. Pochodną *N*-benzylową związku **38** rozdzielono z (*S,S*)-**1** z utworzeniem diastereoizomerycznej soli zawierającej enancjomer (*S*) [25]. Po dekompozycji i usunięciu grupy benzylowej uzyskano związek **38** o konfiguracji (*S*) z wysokim 93% nadmiarem enancjomerycznym (Schemat 8, **38**).

Konformacyjnie sztywne chiralne cząsteczki zawierające pierścień pirydynowy wykorzystuje się jako chiralne ligandy lub organokatalizatory. W wyniku dodania do racemicznej mieszaniny estru kwasu *trans*-12-(pirydyn-2-yl)-9,10-dihydro-9,10-etanoantraceno-11-karboksylowego (**39**) kwasu (*R,R*)-winowego można otrzymać oba enancjomery rozdzielanego związku z 100% czystością optyczną (Schemat 8, **39**) [26].

3. ROZDZIELENIE RACEMICZNYCH KWASÓW

Optycznie czyste aminy są ważnymi prekursorami związków biologicznie czynnych, mają zastosowanie jako chiralne katalizatory w syntezie asymetrycznej. Ponadto mogą pełnić funkcję chiralnych czynników derywatyzujących, co ma szczególne znaczenie w rozdzielaniu racemicznych kwasów. Poniżej na Schemacie 9 przedstawiono niektóre aminy stosowane w enancjoseparacji racemicznych kwasów [3].

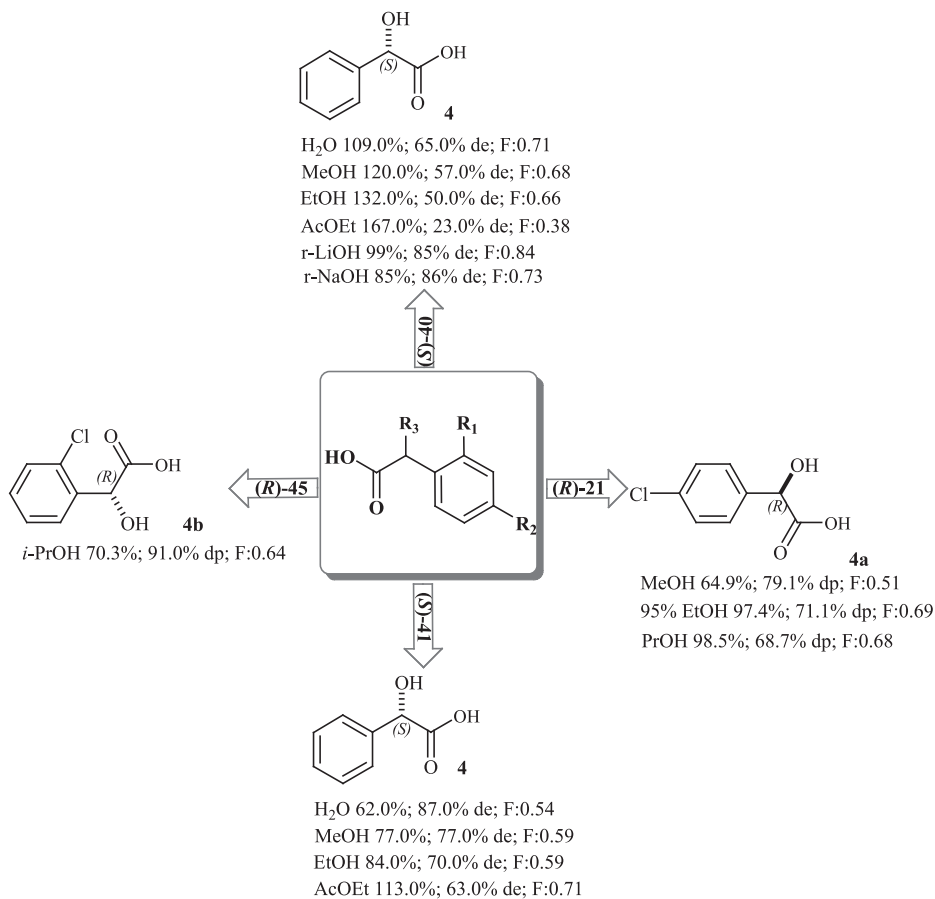


Schemat 9. Zasadowe czynniki chiralne
Scheme 9. Basic resolving agents

Enancjomerycznie czyste aryloksypropyloaminy (*S*)-**40** i (*S*)-**41** zostały użyte do rozdzielania racemicznego kwasu migdałowego (**4**) [27]. Niezależnie od rozpuszczalnika czystość diastereoizomeryczna soli była wyższa w obecności (*S*)-**41** niż (*S*)-**40**. Preferencyjnie z roztworów krystalizowała sól homochiralna zawierająca (*S*)-enancjomer. Dodanie do mieszaniny (*S*)-**40**/*rac*-**4** (4:5) achiralnego związku (LiOH lub NaOH, stosunek zasady/*rac*-**4** 1:5) o zbliżonym charakterze do odczynnika rozdzielającego wpłynęło na zwiększenie czystości optycznej uzyskanych soli diastereoizomerycznych (Schemat 10, **4**).

Czystej optycznie aminy (*R*)-**21** użyto jako chiralny związek rozdzielający do enancjoseparacji pochodnej kwasu migdałowego (**4a**). Na efektywność rozczepienia enancjomerów z mieszaniny racemicznej miał wpływ zastosowany rozpuszczalnik

oraz stosunek molowy czynnika chiralnego do racematu. Najlepsze wyniki uzyskano stosując równomolową mieszaninę obu reagentów i 95%-wego etanolu. Po dekompozycji diastereoizomerycznej soli otrzymano kwas *p*-chloromigdałowy (**4a**) o konfiguracji (*R*) z ponad 99% nadmiarem enancjomerycznym [28]. Natomiast czysty optycznie *o*-chloro analog kwasu migdałowego (**4b**) otrzymano w wyniku rozczepienia z zastosowaniem (*R*)-*N*-benzyl-1-fenyletyloaminy (**45**) [29]. W tym przypadku najlepszym środowiskiem okazał się izopropanol. Podobnie jak w rozdziale racemicznego związku **4a** preferencyjnie krystalizowała sól homochiralna (Schemat 10, **4a** i **b**).



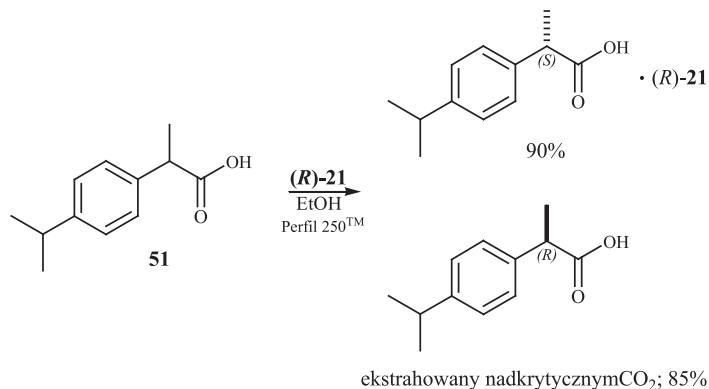
dp - czystość diastereoizomeryczna definiowana jako stosunek skręcalność otrzymanej diastereoizomerycznej soli do skręcalności czystej optycznie diastereoizomerycznej soli

Schemat 10. Rozdzielenie związku **4** i jego analogów

Scheme 10. Resolution of **4** and its analogues

Enancjoseparację racemicznego ibuprofenu (**51**) przeprowadzono w obecności (*R*)-**21** [30]. Z alkoholu etylowego selektywnie krystalizowała sól heterochiralna.

Natomiast niereaktywny enancjomer pozostający w roztworze oddzielono poprzez ekstrakcję nadkrytycznym ditlenkiem węgla (Schemat 11).

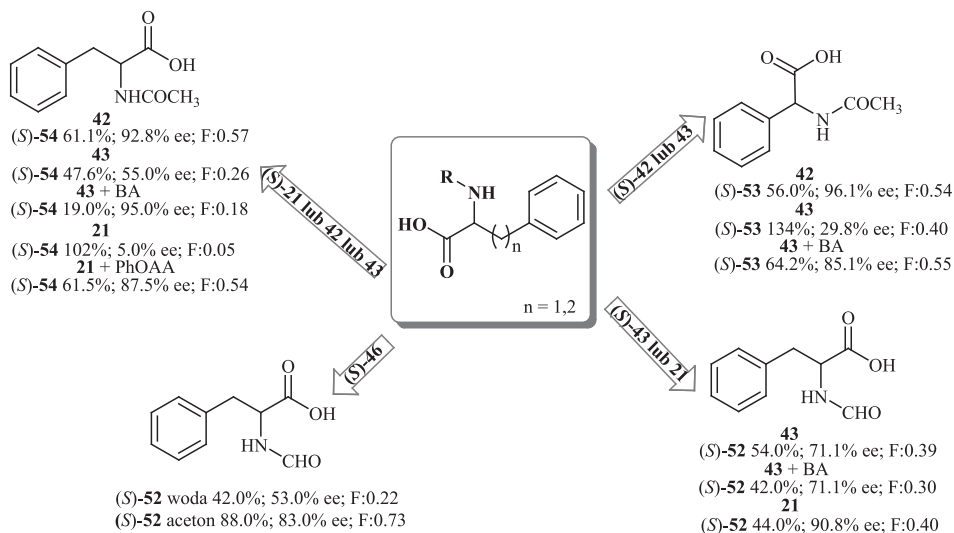


Schemat 11. Rozdział *rac*-ibuprofenu (**51**)

Scheme 11. Resolution of *rac*-ibuprofen (**51**)

Często do rozdzielania mieszanin racemicznych dodaje się czynnika chiralnego o podobnej strukturze, co zapewnia lepsze wzajemne dopasowanie odczynnika chiralnego do enancjomerów rozdzielanej mieszaniny. Na przykład serię *N*-acylowych pochodnych aminokwasów (**52-54**) rozdzielono za pomocą strukturalnych analogów: enancjomerycznie czystych estrów metylowych fenyloalaniny (**42**) i fenyloglicyny (**43**) oraz 1-fenyloetyloaminy (**21**) [31]. Wprowadzenie wraz z czynnikiem chiralnym dodatkowej substancji achiralnej (benzyloaminy (BA) lub kwasu fenoksyoctowego (PhOOA)) w niektórych przypadkach umożliwiło poprawę czystości optycznej krystalizujących soli (Schemat 12, **52-54**).

Efektywne rozczepienie *rac-N*-formyloalaniny (**52**) zostało przeprowadzone również z zastosowaniem (*S*)-2-(benzyloamino)butanolu (**46**) jako czynnika chiralnego [32]. Wartość *F* zależała od użytego rozpuszczalnika. Najlepsze wyniki uzyskano w acetonie. Z acetonem związek (*S*)-**52** tworzył *in situ* hemiaminal będący w równowadze z diastereoizomeryczną homochiralną solą, co ostatecznie miało wpływ na zwiększenie wydajności (Schemat 12, **52**).

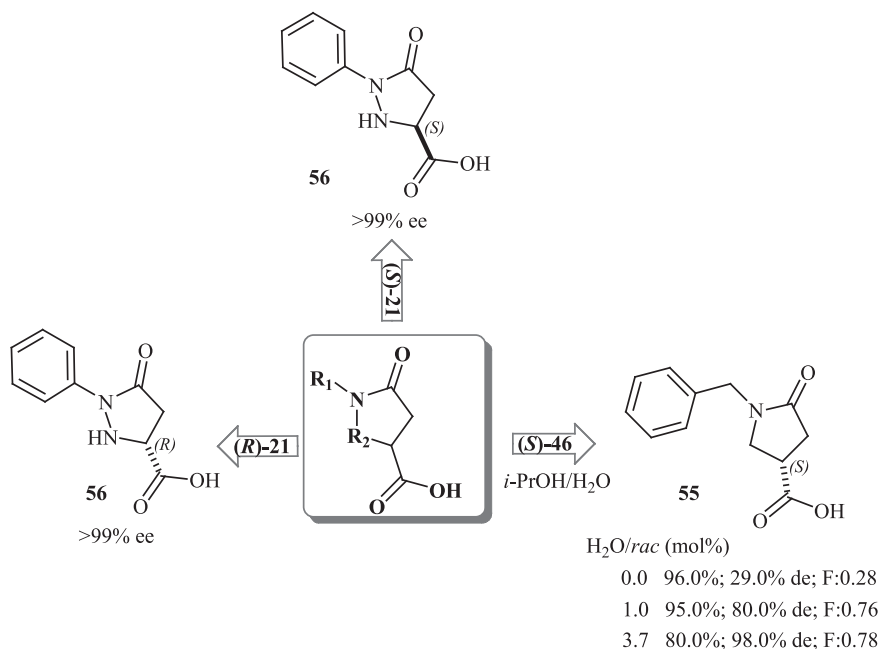


Schemat 12. Rozdzielenie związków 52-54

Scheme 12. Resolution of 52-54

Najlepszą enancjoseparację kwasu 1-benzyl-5-okso-3-pirolidynokarboksylowego (**55**), chiralnego syntonu o dużej aktywności farmakologicznej, uzyskano w obecności *N*-benzylamidu (*S*)-fenyloalaniny (**44**) [33]. W tym przypadku na efektywność rozdzielania miała wpływ niewielka ilość wody, którą dodano do rozpuszczalnika – izopropanolu (Schemat 13, **55**).

Enancjomerycznie czysty (*R*)- i (*S*)-kwas 5-okso-1-fenylpirazolidyno-3-karboksylowy (**56**) otrzymano poprzez utworzenie diastereoizomerycznych soli z (*R*)- lub (*S*)-**21** (Schemat 13, **56**) [34]. Rozdzielenie diastereoizomerów przeprowadzono w mieszaninie AcOEt:*i*-PrOH (7:3). Preferencyjnie krystalizowały sole homochiralne. Odpowiednio w obecności (*R*)-**21** tworzyła się sól z enancjomerem o konfiguracji (*R*). Natomiast stosując (*S*)-**21** selektywnie wytrącała się sól (*S*)-**21**.(*S*)-**56**.

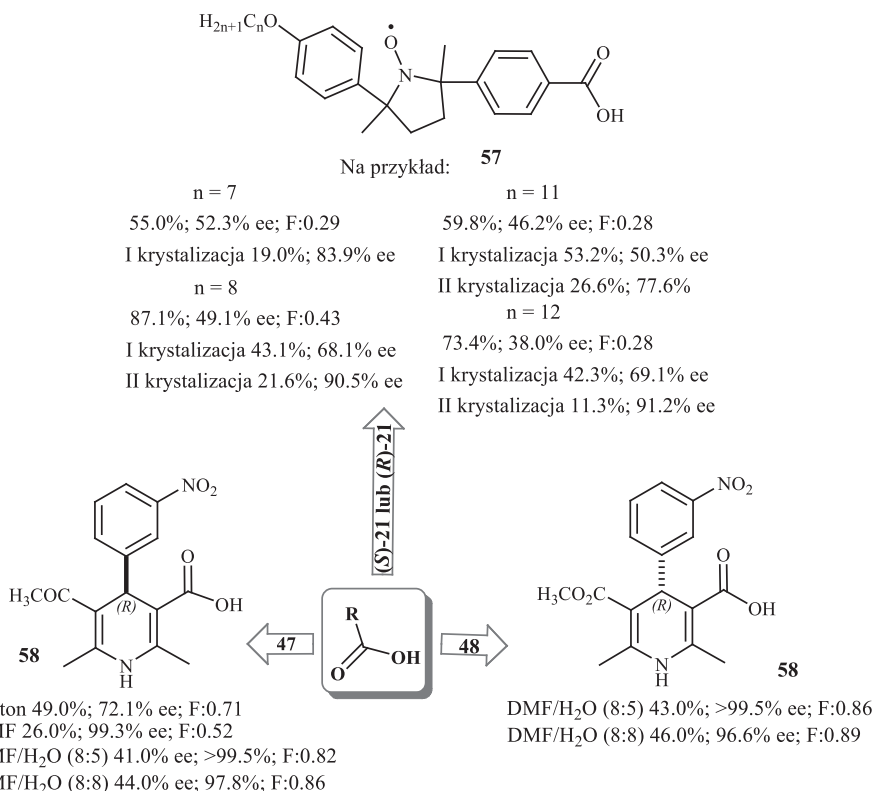


Schemat 13. Rozdzielenie związków 55, 56

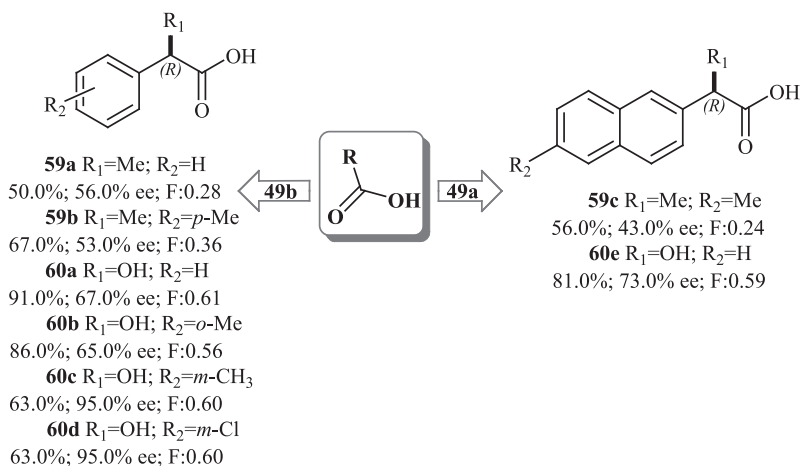
Scheme 13. Resolution of 55, 56

Serie racemicznych kwasów *trans*-4-[5-(alkoksyfenylo)-2,5-dimetylopirolidyn-1-oksyl-2-yl]benzoesowych (**57**) rozdzielono za pomocą (*R*)- lub (*S*)-**21** [35]. W zależności od konfiguracji chiralnego czynnika rozdzielającego krystalizowały preferencyjnie sole zawierające odpowiednio w przewodzie (*2R,5R*)- lub (*2S,5S*)-izomery. Po dwukrotnej rekrystalizacji otrzymano kwasy o wysokiej czystości optycznej (Schemat 14, **57**).

Kwas 3-metylo-5-pentylo-2,6-dimetylo-4-(3-nitrofenylo)-1,4-dihdropirydino-3,5-dikarboksylowy jest obiecującym analogiem 1,4-dihdropirydyny (1,4-DHPD) o potencjalnych właściwościach biologicznych. Jednym z etapów syntezy tego związku było rozdzielenie racemicznej mieszaniny kwasu 2,6-dimetylo-5-metoksykarbonylo-4-(3-nitrofenylo)-1,4-dihdropirydino-3-karboksylowego (**58**) alkaloidami z drzewa chinowego: cynchoniny (**47**) i chinidyny (**48**) [36]. Najlepsze wyniki uzyskano w mieszaninie DMF z wodą. W obecności cynchoniny otrzymano czysty optycznie (*S*)-enancjomer (>99.5%). Natomiast zastosowanie chinidyny umożliwia uzyskanie enancjomeru o konfiguracji przeciwnej z taką samą czystością optyczną (Schemat 14, **58**).

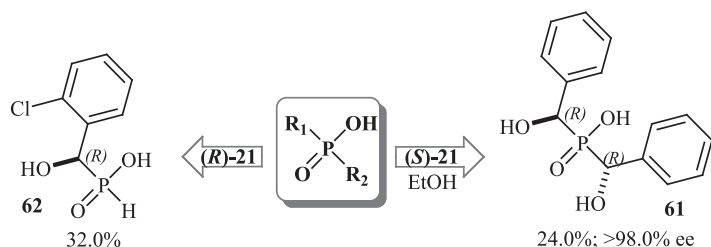
Schemat 14. Rozdzielenie związków **57**, **58**Scheme 14. Resolution of **57**, **58**

Związki (2*S*,3*S*)-2,3-dihydroksy-1,4-bis(hydroksyamino)butan (**49a**) i (2*S*,3*S*)-2,3-dibenzyloksy-1,4-bis(hydroksyamino)butan (**49b**), zsyntetyzowane z odpowiednich alkilowych pochodnych kwasu winowego, wykorzystano jako czynniki chiralne do rozdzielania racemicznych mieszanin kwasów 2-arylopropionowych (**59a-c**) oraz aryloglikolowych (**60a-e**) – Schemat 15 [37]. W przypadku kwasów 2-arylopropionowych żaden z zastosowanych czynników rozdzielających nie dał zadowalających rezultatów. Z **49b** uzyskano diastereoizomeryczne sole o umiarkowanej czystości optycznej. Natomiast z **49a** nie udało się rozdzielić racemicznych związków **60a-c**, ponieważ uzyskane pochodne niechętnie krystalizowały. Zupełnie inaczej wyglądał rozdział związków **60**, po dodaniu **49b** z układu preferencyjnie krystalizowała jedna z diastereoizomerycznych soli (sól heterochiralna). Po potraktowaniu tych soli kwasem solnym ostatecznie otrzymano kwasy aryloglikolowe z wysokimi nadmiarami enancjomerycznym.

Schemat 15. Rozdzielenie związków **59**, **60**Scheme 15. Resolution of **59**, **60**

Za pomocą krystalizacji można również rozczepiać racemiczne związki fosforu. Na przykład z etanolowego roztworu racemicznego kwasu bis(1-hydroksyfenylo-metylo)fosfinowego(V) (**61**) potraktowanego czynnikiem chiralnym (*S*)-**21** preferencyjnie krystalizowała sól diastereoizomeryczna (*R,R*)-**61**·(*S*)-**21** (Schemat 16, **61**) [38]. Po dekompozycji soli kwasem chlorowodorowym otrzymano czysty optycznie związek **61** o konfiguracji (*R,R*) (wydajność 24%, ee > 98,0%). Rozdzielenie związku **61** w tych samych warunkach w obecności (*R*)-**21** prowadzi do wytrącenia słabo rozpuszczalnej soli zawierającej enancjomer (*S,S*) z 21,6% wydajnością. Zmiana rozpuszczalnika na izopropanol wpłynęła na poprawę wydajności. Uzyskano (*S,S*)-**61** i (*R,R*)-**61** z wydajnością odpowiednio 35,3% i 31,4%.

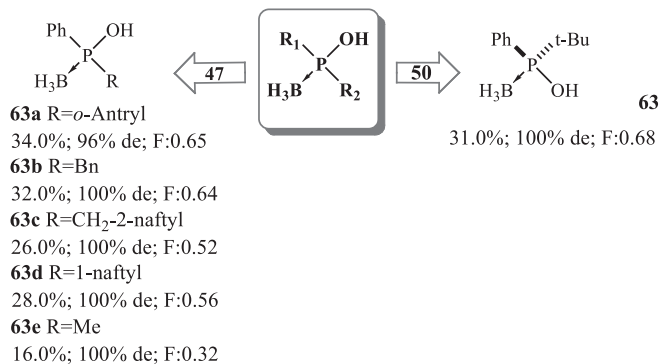
W podobny sposób rozdzielono kwas *rac*- α -hydroksy-H-fosfinowy(V) (**62**). Po dodaniu do etanolu związków *rac*-**62** i (*R*)-**21** selektywnie krystalizowała sól homochiralna (*R*)-**62**·(*R*)-**21** (Schemat 16, zw. **62**) [39]. W innym rozpuszczalniku (metanol i mieszanina metanolu z wodą) nie udało się przeprowadzić skutecznego rozczepienia, ponieważ obie sole diastereoizomeryczne zbyt dobrze się rozpuszczały.

Schemat 16. Rozdzielenie związków **61**, **62**Scheme 16. Resolution of **61**, **62**

Efedrynę (**50**) i cynchoninę (**47**) wykorzystano jako czynniki chiralne do rozczepienia racemicznego kompleksu: boranu i pochodnej kwasu fosfinowego(III) **63** (Schemat 17, **63**) [40]. Po dodaniu do heksanu równomolowej ilości racematu i efedryny (monohydrat w dichlorometanie) uzyskano diastereoizomeryczną sól zawierającą enancjomer (*S*). Dekompozycja kwasem solnym prowadziła do czystego optycznie kwasu (*S*)-**63** z 31% wydajnością. Kwas **63** o konfiguracji przeciwnej otrzymano w wyniku rozdziału z cynchoniną. Selektywnie z układu krystalizowała sól z 100% de i 34% wydajnością. Po dodaniu kwasu ostatecznie otrzymano czysty optycznie (*R*)-enancjomer związku **63**.

Rozdzielenie racemicznych kwasów pochodnych związku **63** przeprowadzono również w obecności cynchoniny [41]. Czystość optyczna uzyskanych soli diastereoizomerycznych była uzależniona od podstawników przy atomie fosforu (Schemat 17, **63a-e**).

Powyższe procedury umożliwiają otrzymanie czystych enancjomerycznie kwasów z centrum stereogenicznym na atomie fosforu.



Schemat 17. Rozdzielenie związku **63**

Scheme 17. Resolution of **63**

UWAGI KOŃCOWE

Rozdzielenie mieszanin racemicznych metodą krystalizacji pozostaje jedną z najbardziej popularnych metod otrzymania czystych optycznie enancjomerów. Pomimo matematycznych modeli teoretycznych wiążących efektywność rozdzielania racematów od parametrów fizykochemicznych separacja na drodze krystalizacji nadal wymaga podejścia eksperymentalnego. Praktycznie każdy racemat to indywidualny przypadek. Zebrane w pracy przykłady stanowią źródło informacji w jaki sposób na drodze doświadczalnej można dokonać optymalizacji warunków rozczepienia mieszanin racemicznych metodą pośrednią przeprowadzając składniki mieszaniny w odpowiednie diastereoizomeryczne sole.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W.M Potapow, *Stereochemia*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1986.
- [2] F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálóvics, J. Schindler, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 519.
- [3] R. Siedlecka, *Tetrahedron Asymmetry*, 2013, **69**, 6331.
- [4] R. Sakurai, K. Sakai, K. Kodama, M. Yamaura, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2012, **23**, 221.
- [5] R. Sakurai, A. Yuzawa, K. Sakai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 1622.
- [6] K. Sakai, R. Sakurai, M. Yokoyama, N. Hirayama, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, **17**, 1541.
- [7] T. Hirose, M. Begum, M. S. Islam, K. Taniguchi, M. Yasutake, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 1641.
- [8] J. Schindler, M. Egressy, L. Bereczki, G. Pokol, E. Fogassy, K. Marthi, *Chirality*, 2007, **19**, 239.
- [9] L.M. Klingensmith, K.A. Nadeau, G.A. Moniz, *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 4589.
- [10] M. Leeman, G. Brasile, E. Gelens, T. Vries, B. Kaptein, R. Kellog, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, **47**, 1287.
- [11] Y. Kobayashi, H. Handa, J. Maeda, K. Saigo, *Chirality*, 2008, **20**, 577.
- [12] V.T. Mathad, G.B. Shinde, S.S. Ippar, N.C. Niphade, R.K. Panchangam, P.J. Vankawala, *Synth. Commun.*, 2011, **41**, 341.
- [13] K. Taniguchi, M. Aruga, M. Yasutake, T. Hirose, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 458.
- [14] N. Ribeiro, Y. Kobayashi, J. Maeda, K. Saigo, *Chirality*, 2011, **23**, 438.
- [15] T. Kálai, J. Schindler, M. Balog, E. Fogassy, K. Hideg, *Tetrahedron*, 2008, **64**, 1094.
- [16] M. Albalat-Serradeil, G. Primazot, D. Wilhelm, J.-C. Vallejos, N. Vanthuyne, C. Roussel, *Amino Acids*, 2012, **43**, 687.
- [17] D.M. Gotrane, R.D. Deshmukh, P.V. Ranade, S.P. Sonawane, B.M. Bhawal, M.M. Gharpure, M.K. Gurjar, *Org. Process Res. Dev.*, 2010, **14**, 640.
- [18] M. Schmitt, D. Schollmeyer, S.R. Waldvogel, *Eur. J. Org. Chem.*, 2014, 1007.
- [19] Y. Uchida, Y. Nakayama, K. Suzuki, S. Oki, M. Horiguchi, H. Tsue, R. Tamura, *Heterocycles*, 2008, **76**, 875.
- [20] R. Ogawa, T. Fujino, N. Hirayama, K. Sakai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 2458.
- [21] P.S. Dragovich, D.E. Murphy, K. Dao, S.H. Kim, L.-S. Li, F. Ruebsam, Z. Sun, C.V. Tran, A.X. Xiang, Y. Zhou, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 2796.
- [22] I. Kmecc, B. Simándi, E. Székely, J. Lovász, E. Fogassy, *Chirality*, 2007, **19**, 430.
- [23] S. Shirakawa, A. Moriyama, S. Shimizu, *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, 5957.
- [24] J.B. III Paine, *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 4939.
- [25] Y.-Q. Cheng, Z. Bian, C.-Q. Kang, H.-Q. Guo, L.-X. Gao, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 1572.
- [26] E. Gnanamani, C.R. Ramanathan, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2009, **20**, 2211.
- [27] P. Wang, E. Zhang, J.-F. Niu, Q.-H. Ren, P. Zhao, H.-M. Liu, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2012, **23**, 1046.
- [28] Q. He, Y.-F. Peng, S. Rohani, *Chirality*, 2010, **22**, 16.
- [29] Y.-F. Peng, Q. He, S. Rohani, H. Jenkins, *Chirality*, 2012, **24**, 349.
- [30] P. Molnár, P. Bombicz, C. Varga, L. Bereczki, E. Székely, G. Pokol, E. Fogassy, B. Simándi, *Chirality*, 2009, **21**, 628.
- [31] E. Pálóvics, J. Schindler, F. Faigl, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2010, **21**, 2429.
- [32] E. Pálóvics, L. Bereczki, K. Marthi, G. Pokol, F. Faigl, E. Fogassy, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, **18**, 2531.
- [33] M. Morimoto, A. Yamakawa, H. Katagiri, K. Sakai, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, **18**, 2869.
- [34] R. Melgar-Fernandez, R. Gonzalez-Olvera, J. Vargas-Caporalí, R. Perez-Isidoro, E. Juaristi, *Arki- voc*, 2010, **8**, 55.

- [35] Y. Uchida, T. Uematsu, Y. Nakayama, H. Takahashi, H. Tsue, K. Tanaka, R. Tamura, *Chirality*, 2008, **20**, 282.
- [36] B. Zhang, W. He, X. Shi, M. Huan, Q. Huang, S. Zhou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, **20**, 805.
- [37] Y. Kobayashi, Y. Kokubo, T. Aisaka, K. Saigo, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 2536.
- [38] B. Kaboudin, H. Haghghat, T. Yokomatsu, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2008, **19**, 862.
- [39] B. Kaboudin, S. Alaie, T. Yokomatsu, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2011, **22**, 1813.
- [40] M. Stankevič, K.M. Pietrusiewicz, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 816.
- [41] M. Stankevič, K.A. Pietrusiewicz, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2007, **18**, 552.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 grudnia 2014

KLASYFIKACJA KLEJÓW SAMOPRZYLEPNYCH ZE WZGLĘDU NA PROCES OTRZYMYWANIA

CLASSIFICATION OF PRESSURE-SENSITIVE ADHESIVES ACCORDING TO MANUFACTURING PROCESS

Adrian Krzysztof Antosik*, Zbigniew Czech

*Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej,
ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin
e-mail: lunatyk88@interia.pl

Abstract

Wstęp

1. Kleje samoprzylepne
2. Klasyfikacja klejów samoprzylepnych ze względu na proces otrzymywania
 - 2.1. Rozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne
 - 2.2. Bezrozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne
 - 2.3. Dyspersyjne kleje samoprzylepne

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr. inż. Adrian Krzysztof Antosik w roku 2012 ukończył studia inżynierskie na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej, specjalność polimery, w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie, w 2013 ukończył studia magisterskie na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Mechatroniki, specjalność Przetwórstwo Tworzyw Sztucznych w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie. Jest doktorantem w Instytucie Technologii Chemicznej Organicznej w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie.



Prof. dr hab. inż. Zbigniew Czech jest kierownikiem Laboratorium Klejów i Materiałów Samoprzylepnych Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Jest absolwentem Politechniki Szczecińskiej, doktorat w 1981 r., habilitacja w 2004 r. Od 1981 do 2002 r. zatrudniony w Firmach: Lohmann (Niemcy), UCB (Belgia) oraz Chemitec (Niemcy). Jest autorem ponad 500 publikacji naukowych oraz 100 patentów.

ABSTRACT

An adhesive is any substance that, when applied to the surfaces of materials, binds the surfaces together and resists separation. The basic ingredients are adhesive firming agents (binder), solvents, adhesion enhancing agents (plasticizers, coalescing agents), wetting agents, modifiers and stabilizers. There are many criteria for the distribution of adhesives taking into account their characteristics and purpose, of which the basic division is made according to their chemical base and the method of curing [1].

Pressure-sensitive adhesives (PSAs) represent a system that actually dates back to the invention of the self-adhesive articles in 1935 when R. Stanton Avery produced the first coating unit using a wooden cigar box with two holes cut in the bottom. PSAs can be defined as a special category of adhesive which in dry form are permanently tacky at room temperature [2]. Pressure-sensitive adhesives require certain properties: besides a good surface adhesion, good stability against light, oxygen, moisture and plasticizers, and the adhesion characteristics is constant over a very wide temperature range. They are characterized by the excellent low constant level of peel strength and tack as well as the excellent aging performance at room or higher temperatures. The inherent tackiness of PSAs allow them to wet and adhere quickly under a low pressure on a broad variety of substrates [3].

There are many criteria for the division of PSA taking into account their characteristics and intended use, where the basic division is made according to their chemical base and a method for curing. In practice, the most commonly used criteria for the allocation of adhesives include: form (consistency), methods and fields of application, rate of binding, joint properties, quantities of ingredients, properties of the thermal adhesive layer or the production process [1]. Pressure-sensitive adhesives according to the manufacturing process can be divided into solvent-based, water-borne and solvent-free PSA (Fig. 2) [14–17].

The most commonly used high molecular compounds used in the manufacture of pressure-sensitive adhesives include natural rubber and synthetic copolymers of ethylene and acrylic acid, polysilicones, acrylics, linear polyesters, polyether, polyurethanes. The market and technology of high-performance PSAs are expanding rapidly. A growing market is the result of expansion in both current and new application areas. Self-adhesive polymers possess inherent properties due to their structure that make them unique [15]. The world market for pressure sensitive adhesives was valued at USD 22.70 billion in 2012 and is expected to reach USD 31.64 billion by 2018. The global pressure sensitive adhesives market volume was 1700.5 kilo tons in 2012 and is expected to reach 2208.2 kilotons by 2018 [18].

Keywords: pressure-sensitive adhesives, solvent-based, solvent-free, water-borne

Słowa kluczowe: kleje samoprzylepne, rozpuszczalnikowe, bezrozpuszczalnikowe, wodno-dyspersyjne

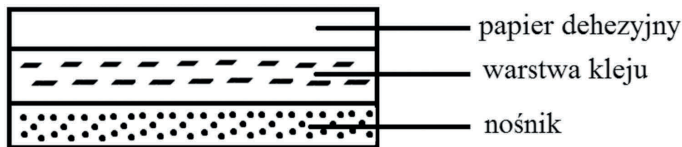
WSTĘP

Podstawowymi składnikami klejów są substancje wiążące (spoiwo, lepiszcze), środki zwiększające przyczepność (plastyfikatory, koalescenty), rozpuszczalniki, modyfikatory, stabilizatory i środki sieciujące [1]. Historia klejów samoprzylepnych (PSA) sięga wynalazku R. Stanton Avery z 1935 roku, w którym otrzymano samo-przylepny produkt wykorzystując do jego produkcji pudełko po cygarach z dwoma wyciętymi otworami [2].

Pojęcie kleje samoprzylepne charakteryzuje grupę klejów na bazie wielkocząsteczkowych polimerów cechujących się dobrą (spełniającą wymogi przemysłowe) adhezją oraz kohezją. Podstawową różnicą pomiędzy PSA a innymi rodzajami klejów są niezienne właściwości klejące w szerokim zakresie temperaturowym w czasie użytkowania, doskonała odporność na starzenie oraz stały poziom wytrzymałości na odrywanie [1–4].

1. KLEJE SAMOPRZYLEPNE

Kleje samoprzylepne mogą być zdefiniowane jako specjalna kategoria klejów zachowujących w suchej postaci stałe właściwości klejące w temperaturze pokojowej. Naniesione, w ciekłej formie przez rakiel lub walce, jako warstwa polimeru na nośnik elastyczny (tkanina, folia, papier) wykazują bardzo długą żywotność klejenia. Warstwa samoprzylepna tworzy się po odparowaniu fazy ciekłej z roztworu lub dyspersji polimerowej. W celu zabezpieczenia warstwy klejącej pokrywa się ją papierem dehezyjnym (Rys. 1) [1, 2, 5].



Rysunek 1. Schemat jednostronnej taśmy samoprzylepnej
Figure 1. Scheme of one-sided self-adhesive tape

Otrzymywanie samoprzylepnych klejów przebiega w następujących etapach:

1. Synteza kleju (rozpuszczalnikowego, bezrozpuszczalnikowego lub dyspersji).
2. Modyfikacja kleju związkami sieciującymi, plastyfikatorami oraz innymi.
3. Powlekanie kleju na nośniku.
4. Suszenie i sieciowanie filmu klejowego.
5. Zabezpieczenie filmu klejowego (np. naniesienie papieru dehezyjnego).

Samoprzylepne kleje charakteryzuje łatwość przywierania do różnego rodzaju podłoży (np. metalowych, szklanych, papierowych) pod wpływem niewielkiego nacisku zewnętrznego porównywalnego do tego, jaki można osiągnąć dociskając

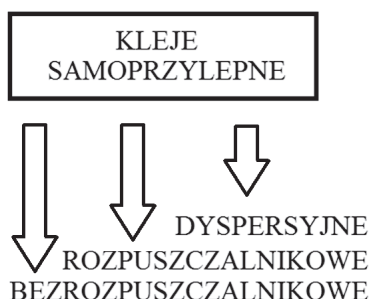
taśmę palcem lub dłonią [3]. Oprócz dobrej adhezji do powierzchni wymaganej w przemyśle, odporności na światło, tlen i wilgoć kleje samoprzylepne powinny się charakteryzować stałą adhezją w szerokim zakresie temperaturowym (badaną według normy AFERA 4001), doskonałą odpornością na starzenie zarówno w temperaturze pokojowej jak i podwyższonej oraz stałym poziomem wytrzymałości na odrywanie [4].

PSA znalazły zastosowanie przy produkcji folii ochronnych i taśm medycznych, taśm maskujących, samoprzylepnych etykiet lub notatników biurowych, folii dekoracyjnych oraz podobnych artykułów samoprzylepnych, które są wykorzystywane do przylegania na różnych podłożach, takich jak metal, papier tworzywa sztuczne, szkło, drewno oraz skóra [6].

Kleje samoprzylepne odgrywają coraz większą rolę w przemyśle stając się niezbędne w wielu dziedzinach życia, począwszy od budowy zabawek a skończywszy na budowie samolotów [7].

2. KLASYFIKACJA KLEJÓW SAMOPRZYLEPNYCH ZE WZGLĘDU NA PROCES OTRZYMYWANIA

Istnieje wiele kryteriów podziału klejów samoprzylepnych uwzględniających ich właściwości oraz przeznaczenie, gdzie zasadniczego podziału dokonuje się według ich bazy chemicznej oraz sposobu utwardzania. W praktyce najczęściej stosowane kryteria podziału klejów dotyczą: postaci (konsystencji), metody i dziedziny zastosowania, prędkości wiązania, właściwości złączy, ilości składników, właściwości cieplnych warstwy klejowej czy też ich procesu produkcyjnego [1].



Rysunek 2. Rodzaje klejów samoprzylepnych ze względu na proces otrzymywania
Figure 2. Types of pressure-sensitive adhesives according to manufacturing process

Do najczęściej używanych wielkocząsteczkowych związków stosowanych do produkcji klejów samoprzylepnych należą: kauczuk naturalny i syntetyczny, kopolimery etylenu i kwasu akrylowego, polisilokany, poliakrylany, liniowe poliestry, polietera oraz poliuretany. Ze względu na proces otrzymywania samoprzylepne kleje można podzielić na (Rys. 2):

- rozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne, gdzie warstwa samoprzylepna kleju powstaje po odparowaniu rozpuszczalnika,
- bezrozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne, gdzie powlekanie kleju odbywa się w podwyższonej temperaturze,
- dyspersyjne kleje samoprzylepne, gdzie warstwa samoprzylepna polimeru powstaje po odparowaniu wody.

2.1. ROZPUSZCZALNIKOWE KLEJE SAMOPRZYLEPNE

Kleje rozpuszczalnikowe głęboko wnikają w materiał, na który zostały naniesione powodując jego pęcznienie. Rozpuszczalnik w tych klejach służy jedynie, jako środek pomocniczy do regulacji konsystencji oraz lepkości kleju (po naniesieniu odparowuje). Do produkcji klejów rozpuszczalnikowych najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami są rozpuszczalniki organiczne takie jak aceton, toluen, ksylen. Kleje rozpuszczalnikowe są nakładane cienką warstwą na obydwie powierzchnie łączonych elementów. Podczas docisku łączonych elementów (po odparowaniu rozpuszczalnika) nie powinny zmieniać początkowego położenia względem siebie, ponieważ złącze zyskuje od razu około 70% całkowitej wytrzymałości mechanicznej. Szczególnym rodzajem klejów rozpuszczalnikowych są kleje kontaktowe występujące jako jedno- i dwuskładnikowe składających się z naturalnego lub sztucznego kauczuku (np. kauczuku polichloroprenowego) oraz utwardzacza (np. nukleofilowych amin trzeciorzędowych). Kleje jednoskładnikowe charakteryzują się tym, iż są od razu gotowe do użycia, natomiast w przypadku klejów dwuskładnikowych utwardzacz jest dodawany do kompozycji klejowej bezpośrednio przed rozpoczęciem klejenia. Stosuje się je analogicznie jak kleje rozpuszczalnikowe jednak po wyschnięciu wystarczy zastosowanie silnego, lecz krótkotrwałego docisku gdyż mocne połączenie powstaje natychmiast. Kleje rozpuszczalnikowe nadają się szczególnie do klejenia materiałów porowatych takich jak: skóra, tekstylia, papier, drewno, korek, twarde polichlorek winylu (winidur), tworzywa piankowe [1].

Rozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne są bardzo interesującą grupą polimerów o właściwościach samoprzylepnych. Dzięki niekonwencjonalnym właściwościom klejów przylepcowych na bazie rozpuszczalnikowych klejów oraz stosunkowo niskiej cenie otrzymywania są one obecnie szeroko stosowane do produkcji zarówno samoprzylepnych materiałów technicznych jak i medycznych. Właściwości klejów samoprzylepnych charakteryzuje lepkość, przyczepność, spójność oraz skurcz, które zależą od masy cząsteczkowej polimerów użytych do produkcji spoiwa, metody polimeryzacji, charakteru rozpuszczalnika oraz użytego inicjatora w procesie polimeryzacji. Ogromny wpływ na właściwości fizykochemiczne rozpuszczalnikowych klejów samoprzylepnych ma rodzaj środka sieciującego oraz technologii sieciowania (np. sieciowanie termiczne czy sieciowanie promieniowaniem UV), które w dostępnej literaturze jest przedstawione często, jako najlepszy, a tym samym

najbardziej skuteczny sposób modyfikacji właściwości klejących w celu uzyskania materiału o określonym profilu [8, 9].

2.2. BEZROZPUSZCZALNIKOWE KLEJE SAMOPRZYLEPNE

Kleje bezrozpuszczalnikowe, szczególnie bezrozpuszczalnikowe kleje na bazie poliakrylanów, otrzymuje się poprzez oddzielenie rozpuszczalnika organicznego od zsyntetyzowanego uprzednio rozpuszczalnikowego kleju samoprzylepnego na drodze oddestylowania części lotnych pod obniżonym ciśnieniem. Proces oddestylowywania rozpuszczalnika może następować bezpośrednio po procesie polimeryzacji lub po dowolnym czasie od otrzymania rozpuszczalnikowego kleju [10, 11].

Wśród bezrozpuszczalnikowych klejów samoprzylepnych wyróżniamy kleje termotopliwe tzw. hot-melty, które mogą być powlekane w temperaturze od 100 do 140°C oraz systemy o niskiej lepkości (ang. *Low Viscosity System*, LVS), które mogą być powlekane już w temperaturze pokojowej. Generalnie można stwierdzić, iż bezrozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne najlepiej otrzymuje się z rozpuszczalnikowych klejów samoprzylepnych gdzie wykorzystano jako medium aceton lub metyloetyloketon. W trakcie oddestylowywania takich klejów samoprzylepnych nie zaobserwowano żelowania kleju, a zawartość organicznego rozpuszczalnika jest śladowa [3, 12].

W przypadku klejów bezrozpuszczalnikowych warstwa samoprzylepna kleju (bezrozpuszczalnikowego polimeru) jest ciekła w temperaturze pokojowej lub podwyższonej aż do utworzenia stałej struktury po reakcji sieciowania (termicznego lub UV). Pierwszy samoprzylepny termotopliwy klej poliakrylanowy sieciowany promieniami UV został wprowadzony na rynek przez firmę BASF w 1996 roku. Prace nad nowymi bezrozpuszczalnikowymi klejami samoprzylepnymi są podyktowane zaostreniem regulacji prawych w zakresie ochrony środowiska oraz wzrostem cen rozpuszczalników organicznych [11].

Bezrozpuszczalnikowe kleje samoprzylepne są stosowane między innymi do produkcji samoprzylepnych taśm montażowych (jedno oraz dwustronnych), jak również bežnośnikowych taśm samoprzylepnych, do produkcji etykiet, folii dekoracyjnych i ochronnych. Są wykorzystywane w produktach medycznych, takich jak: plastry, elektrody samoprzylepne, plastry z substancjami aktywnymi oraz samoprzylepne hydrożele [3].

2.3. DYSPERSYJNE KLEJE SAMOPRZYLEPNE

Kleje dyspersyjne to kleje gdzie cząstki polimerowe (akrylany, kauczuki, poliuretany, polichloropreny, itd.) są zdyspergowane w wodzie. Mechanizm utwardzania kleju polega na odparowaniu wody, (które można przyspieszyć poprzez oddziaływanie ciepła i nadmuchu powietrza) lub wniknięciu wody w łączone elementy.

Najczęściej występują w kolorze białym a po utwardzeniu są przezroczyste. Elementy klejone, po naniesieniu kleju, łączą się ze sobą na mokro. Ustalenie elementów względem siebie następuje pod dociskiem, często do pozycjonowania używane są prasy. Kleje dyspersyjne są zaliczane do klejów ekologicznych, nie zawierających rozpuszczalników organicznych. Nadają się szczególnie do klejenia materiałów porowatych. Służą do klejenia skóry, papieru, drewna oraz materiałów drewnopodobnych [1].

Dyspersyjne kleje samoprzylepne w ostatnich kilku latach zaczęły cieszyć się coraz większym zainteresowaniem w przemyśle ze względu na ich wysoką wydajność [13]. Cechuje je dobra przyczepność do podłoża polarnych, odporność na starzenie oraz łatwa usuwalność z klejonych podłoży. W przemyśle są wykorzystywane przede wszystkim do produkcji jednostronnych, dwustronnych i transferowych taśm samoprzylepnych, które coraz częściej są stosowane w przemyśle papierniczym. Wiele zgłoszeń patentowych opisuje zastosowanie biodegradowalnych dyspersyjnych klejów samoprzylepnych do produkcji całkowicie dyspergowalnych w wodzie etykiet samoprzylepnych oraz produktów medycznych takich jak taśmy chirurgiczne czy biomedyczne elektrody. Charakteryzują się one znakomitymi właściwościami mechanicznymi i termicznymi [14–17].

PODSUMOWANIE

Rynek i technologia otrzymywania wysokojakościowych samoprzylepnych klejów rozwija się bardzo szybko. Rozwój ten jest wynikiem ekspansji, zarówno obecnych jak i nowych obszarów zastosowań PSA. Samoprzylepność polimerów używanych do otrzymywania klejów samoprzylepnych jest bezpośrednio związana z ich strukturą, co czyni je unikalnymi na skalę światową. Światowy rynek samoprzylepnych taśm klejących poszerza się o 5,5% rocznie [15]. W roku 2012 wyprodukowano w skali światowej około 1700,5 kiloton klejów samoprzylepnych o wartości 22,7 bilionów \$. W roku 2018 jest przewidywany wzrost produkcji światowej do około 2208,2 kiloton klejów samoprzylepnych o wartości 31,64 bilionów \$ [18]. Zarówno kleje samoprzylepne rozpuszczalnikowe, bezrozpuszczalnikowe czy dyspersyjne wydają się bardzo interesującą oraz pręźnie rozwijającą się dziedziną nauki pełną innowacji i wykazującą potencjał do dalszego rozwoju. Wśród nich kleje rozpuszczalnikowe wiodą prym w przemyśle z racji stosunkowo niskich kosztów otrzymywania, dużej wydajności produkcyjnych przy jednoczesnym zachowaniu podobnych właściwości użytkowych do innych klejów, np. bezrozpuszczalnikowych. Coraz większy nacisk na ochronę środowiska spowodowany rosnącą świadomością ekologiczną powoduje, iż podjęto próby wprowadzenia samoprzylepnych klejów rozpuszczalnych i dyspergowanych w wodzie, szczególnie w dziedzinach przemysłu najbardziej narażających środowisko na zanieczyszczenia pochodzące z klejów na bazie rozpuszczalników organicznych takich jak opakownictwo [14–17].

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Z. Mirski, T. Piwowarczyk, *Prze. Spaw.*, 2008, **8**, 12.
- [2] Z. Czech, *Europen Polym. Int.*, 2004, **40**, 2221.
- [3] A. Butwin, *Z. Czech, ABiD*, 2009, **14**, 8.
- [4] B. Pang, Ch.-M.Ryu, H.-II Kim, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2012, **129**, 276.
- [5] Z. Czech, A. Malec, *Pol. J. Chem. Tech.*, 2006, **2**, 5.
- [6] Z. Czech, *Polym. Int.*, 2003, **52**, 347.
- [7] Z. Czech, *Ekoplast*, 2000, **18**, 57.
- [8] Z. Czech., *Int. J. of Adhes. Adhes.*, 2006, **26**, 414.
- [9] Z. Czech, *Polimery*, 2000, **50**, 831.
- [10] K. Wilpiszewska, *Z. Czech, Starch*, 2014, **65**, 1.
- [11] Z. Czech, *Ekoplast*, 2003, **33**, 31.
- [12] Z. Czech., *Int. J. of Adhes. Adhes.*, 2004, **24**, 59.
- [13] Z. Czech, M. Łągiewczyk, *ABiD*, 2011, **1**, 7.
- [14] Z. Czech, R. Pelech, A. Butwin, *Czasopismo Techniczne Ch.*, 2008, **2**, 293.
- [15] Z. Czech, R. Milker, *Mater. Sci.-Pol.*, 2005, **4**, 1015.
- [16] Z. Czech, A. Kowalczyk, J. Świdarska, *Wide Spectra Qual. Control*, 2011, **17**, 310.
- [17] J. Garret, P. Lovell, A. Shea, D. Viney, *Macrom. Symp.*, 2000, **151**, 487.
- [18] *Transparency Market Research; Sealing Technology*, 2014, January, 10.

Praca wpłynęła do Redakcji 19 listopada 2014

**NOWE TECHNOLOGIE ON-LINE
W DYDAKTYCE CHEMII**

**NEW ON-LINE TECHNOLOGIES
IN TEACHING CHEMISTRY**

Justyna Lampert, Jarosław Polański*

*Institut Chemii Uniwersytetu Śląskiego
ul. Szkolna 9, 40-006 Katowice
e-mail: polanski@us.edu.pl

Abstrakt
Wprowadzenie
Dydaktyka chemii na portalu YouTube
Wykłady chemii uniwersyteckiej (YouTube)
Materiały wspomagające zajęcia laboratoryjne w chemii
Inne materiały o potencjale edukacyjnym
Polskie kanały o tematyce chemicznej
Portale edukacyjne
Podsumowanie
Piśmiennictwo cytowane



Mgr Justyna Lampert jest doktorantką w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego. Jej zainteresowania naukowe obejmują zastosowania innowacyjnych technologii informacyjnych w dydaktyce chemii. Od 2013 roku prowadzi badania dotyczące zdalnego nauczania w praktyce laboratorium chemii organicznej.



Jarosław Polański jest profesorem zwyczajnym, kierownikiem Zakładu Chemii Organicznej w Instytucie Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Studia chemiczne – Wydział Chemiczny Politechniki Śląskiej w Gliwicach (1981). Od 1984 związany z Wydziałem Matematyki Fizyki i Chemii UŚ w Katowicach, doktorat (1991). Habilitacja (1998) oraz profesura (2004) – Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej. Zainteresowania naukowe obejmują chemoinformatykę, chemię organiczną, projektowanie leków oraz syntezę i nanokatalizę. Dorobek naukowy stanowi ponad 120 publikacji, rozdziałów w książkach oraz patentów. Krótkoterminowe staże lub kontrakty w Labor für Computer Chemie, Organisch-Chemisches Institut, Technische Universität München (1993); Computer-Chemie-Centrum, Institut für Organische Chemie, Universität Erlangen-Nürnberg (1996, 1997-8), Laboratoire de Biotechnologies et Pharmacogenetique Appliquee, Ecole Normale Superieure de Cachan, France (2001–2010), Stanford University (2012, top500 innovators). Rady redakcyjne: Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening (Bentham), Letters in Drug Design & Discovery, rada naukowa cyklu konferencyjnego: Chemistry Towards Biology – Central European Conference.

ABSTRACT

The development of on-line technologies in the last years provided us with a possibility for the efficient video teaching in e- or blended- chemistry learning [1–10]. In this publication we reviewed materials which are available on the YouTube or specialist educational platforms [14–38]. The analysis indicated that on-line teaching has progressed rapidly over recent years (Fig. 1, Fig. 2). This refers also to chemistry. In particular we focused on organic chemistry. The on-line aided teaching of experimental chemistry can also support the traditional courses [9]. Our experience indicated that even in bench chemistry on-line teaching can significantly improve the performance of the students. The *e-chem* project of the educational platform, started for the chemistry students in the University of Silesia in 2005 [15], is an example of the blended chemical teaching that was partially published on the YouTube website (Tab. 2). A number of other chemistry materials are available on YouTube. Some chemistry courses are also available directly at the websites of the universities while the Inducate, Skillup or Coursea [39–42] are examples of the websites that provide further useful addresses for chemistry on-line teaching. A concept of massive open on-line courses (MOCC) [43, 44] that appeared recently inspired several projects of commercial platforms for e-learning, providing a potential bases for the global teaching. The Coursera, Udacity, EdX, Canvas Network are examples of the complex educational portals for MOCCs. At the same time the important universities are vigorously playing in this area in a way to global university. At the moment the MOCC chemistry available was reviewed (Tab. 3).

In summary, the development of the on-line technologies provides a possibility for the efficient blended learning based video-aided chemistry teaching. In our opinion this potential is currently controlled not by technical limitations but rather by psychology barrier and formal regulations in local educational law. However, these problems will certainly be solved with the increasing availability of the on-line courses that could be supported by additional real lab classes and/or certified by exams. Global university will be of course a strong competition for a traditional education. On the other hand this also means chemical on-line courses will be better and better developed on the basis on the available on-line technologies. Eventually, this competition will also improve a quality of the traditional chemical education.

Keywords: e-learning, distance learning, e-chemistry, chemistry teaching

Słowa kluczowe: e-nauczanie, edukacja na odległość, e-chemia, dydaktyka chemii

WPROWADZENIE

Jesteśmy świadkami dynamicznego rozwoju nowych mediów elektronicznych oraz technologii komunikacyjnych, w szczególności tych działających on-line [1]. Efektem są zmiany zachowań uczniów i studentów, jakie obserwujemy na co dzień w szkołach oraz uniwersytetach. Rezultaty mogą być pozytywne, kiedy media takie stanowią źródło wymiany informacji, przekazywania wiedzy [2] oraz mobilizacji społecznej lub negatywne np. tzw. agresja elektroniczna [3].

Klasycznym przykładem wykorzystania mediów elektronicznych jest koncepcja zdalnego nauczania tzw. *distance learning*. Chemia, jako nauka eksperymentalna z jednej strony wydaje się stwarzać duże trudności w nauczaniu na odległość. Konieczne jest bowiem wyposażenie studenta w specjalistyczną wiedzę i umiejętności praktyczne, które w tradycyjnej metodzie nauczania młodzi ludzie nabywają w laboratorium w systemie nadzorowanego bezpośredniego nauczania i uczenia się. Z drugiej strony kosztowność tradycyjnej metody kształcenia czyni potencjalnie nowe metody atrakcyjnym celem dydaktyki chemicznej [4–8]. Metody takie powinny łączyć ekonomię rozwiązań elektronicznych z zaletami tradycyjnego uczenia *face to face*. Od wielu lat tzw. *blended learning* stosowany jest w praktyce nauczania chemii, w tym także polskiej dydaktyki chemii [9].

Narzędzia zdalnego nauczania w połączeniu z metodami tradycyjnymi umożliwiają tworzenie atrakcyjnych platform dydaktycznych, których celem, poza obniżeniem kosztów i ułatwieniem dostępności, jest także zwiększanie popytu na nauczanie chemii na poziomie uniwersyteckim. W powszechnym odczuciu nauczanie typu e- lub b-learningowego zgrabnie uzupełnia tradycyjne kształcenie ale obecnie ani w Polsce, ani na świecie nie stanowi istotnej konkurencji dla tradycyjnego nauczania. Czy zintegrowane kursy on-line mogą stać się niedługo alternatywą dla tradycyjnego uczenia? Prace nad tego typu systemami prowadzone są obecnie na dużą skalę m.in. przez czołowe uniwersytety amerykańskie. Czy w globalnym świecie oznaczać to będzie istotną konkurencję dla tradycyjnej uczelni także polskiej? Można wyobrazić sobie taką organizację nauczania chemii, w której centralną rolę odgrywa globalna uczelnia. Finanse takiego centrum pozwalają na prowadzenie w systemie b-learning nauczania na najwyższym światowym poziomie. Nasze uczelnie mogą w takim systemie stać się jedynie lokalnymi jednostkami zajęć laboratoryjnych i certyfikacji. Wydaje się, że nie sposób jeszcze rozstrzygnąć czy jest to realne zagrożenie oraz na ile jest to konkurencja, a na ile szansa na poprawę poziomu nauczania chemii.

Obecnie kompletne kursy certyfikowane dyplomem, czy kompletne platformy nauczania nie są powszechnie dostępne. Jednak w ramach projektów unijnych w ostatnim czasie powstało przynajmniej kilka profesjonalnych i sprawnie działających platform wykorzystywanych przez wiele szkół [10], a w Internecie odnaleźć można wiele materiałów, które mogą stanowić komponenty takich platform także na poziomie szkoły wyższej. Autorzy niniejszego artykułu dokonali przeglądu materiałów potencjalnie przydatnych w dydaktyce chemii, w szczególności chemii

organicznej, zamieszczonych w serwisie internetowym YouTube oraz na innych specjalistycznych platformach o charakterze edukacyjnym.

YouTube umożliwia umieszczanie w sieci materiałów filmowych, które następnie mogą być odtwarzane przez użytkowników. Serwis ten jest obecnie tak powszechnie znany i obecny w naszym życiu codziennym, że często zapominamy, że pojawił się niecałe dziesięć lat temu. W 2005 roku opublikowano tam pierwszy materiał filmowy [11]. YouTube jest czwartą najpopularniejszą stroną w światowej sieci i piątą w Polsce [12]. Serwis ten jest postrzegany, jako atrakcyjne medium wspomaganie dydaktyki, zapewniając najszerszą bazę użytkowników, filmów oraz wysokie statystyki odwiedzin internautów [13]. „*Broadcast yourself*” to zawołanie oddające filozofię działania portalu o szerokim odbiorze społecznym [12].

1. DYDAKTYKA CHEMII NA PORTALU YOUTUBE

W Tabeli 1 przedstawiono analizę szeroko rozumianych materiałów wspomagających nauczanie chemii, które dostępne są na portalu YouTube. Przeanalizowano przy tym nie tylko ich charakter (sprofilowany poprzez dobór słów kluczowych ale także statystyki ich popularności mierzone liczbą odwiedzin. Już na pierwszy rzut oka widać, że w Polsce wykorzystanie portalu YouTube w nauczaniu chemii nie jest popularne. Znalaziono niespełna 150 plików spełniających kryteria kwerendy (przypis do Tabeli 1). Dla porównania, tylko jeden z amerykańskich uniwersytetów, Berkeley, zamieszcza ich aż 840 [14].

Na Rysunku 1 przedstawiono porównanie dostępnej skumulowanej liczby plików o treściach chemicznych w języku polskim i angielskim. Poza kompetencjami merytorycznymi oraz możliwościami finansowymi, porównanie to dobrze ilustruje asymetrię konkurencyjności języka globalnego, jakim jest angielski, z lokalnym językiem polskim.

Tabela 1. Przegląd najpopularniejszych kanałów publikujących filmy o tematyce chemicznej

Table 1. The most popular channels publishing movies on chemical topics

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
1.	Osoba prywatna	CrashCourse	264	46	130 831 125	12 438 393	270 400	1 768 484	69 416	19 maj 06	USA
2.	Stanford University	Stanford	1 050	21	76 084 499	709 255	33 774	293 002	2 954	18 wrz 06	USA
3.	Massachusetts Institute of Technology	MIT OpenCourseWare	244	244	65 343 890	4 465 299	18 300	377 327	2 324	11 paź 05	USA
4.	University of California, Berkeley	UCBerkeley	840	840	28 357 879	1 499 949	1 786	74 928	199	2 maj 06	USA
5.	Firma prywatna	Educator.com	2579	157	5 818 132	873 700	5 565	131 596	54	brak danych	USA
6.	Oregon State University	Oregon State University	630	5	4 518 586	111 537	22 307	53 344	8 730	23 maj 08	USA
7.	Osoba prywatna	Chemguy	133	129	4 450 556	4 652 347	36 065	383 378	5 608	14 cze 07	Kanada

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
8.	University of Oxford	Oxford	412	1	3 042 712	14 427	14 427	14 427	14 427	28 paź 05	Wielka Brytania
9.	University of California, Los Angeles	Uclacourses	365	27	2 031 209	72 655	2 595	16 140	1 130	31 lip 08	USA
10.	The University of Southampton	David Read	115	115	1 461 365	1 461 545	12 709	225 971	9	27 lut 08	Wielka Brytania
11.	Indian Institute of Technology Kharagpur	CollegediaIn	591	436	1 337 371	725 502	1 668	27 012	178	12 wrz 11	Indie
12.	Osoba prywatna	Franklychemistry	302	302	1 157 095	1 256 645	1 148	6 843	114	29 sie 07	USA
13.	University of California, Irvine	UCIrvineOCW	514	353	1 100 885	557 453	1 584	22 468	1	19 mar 12	USA
14.	Uniwersytet Śląski	admUniwersytet-Slaski	234	23	965 838	117 766	5 120	27 067	276	5 sty 10	Polska

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
15.	Firma prywatna	AakashiTutor	251	45	901 532	194 864	4 330	14 011	848	15 paź 12	Indie
16.	Osoba prywatna	Chang Barrick	126	25	755 274	22 645	906	6 845	74	22 mar 08	USA
17.	The University of Utah	Chuck Wight	45	41	724 087	714 950	17 438	72 016	2 456	26 lis 07	USA
18.	Osoba prywatna	AK LECTURES	1598	207	1 434 967	799 106	3 860	52 321	290	26 wrz 12	USA
19.	American University of Beirut	American University of Beirut	722	6	653 047	6 050	1 008	1 967	608	1 lut 08	Liban
20.	Firma prywatna	KhanAcademy Polski	1749	10	623 244	6 202	620	985	194	4 lis 11	Polska
21.	Firma prywatna	Copernicus Center for Interdisciplinary Studies	316	1	536 347	5 721	5 721	5 721	5 721	1 lut 10	Polska

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
22.	Firma prywatna	MaturaDlaOpornych	98	68	505 119	310 642	4 568	20852	198	5 cze 12	Polska
23.	Danmarks Tekniske Universitet	DTU broadcast	890	33	495 426	23 589	715	3 029	223	20 sie 10	Dania
24.	Ruhr-Universität Bochum	ChemieRUB	144	144	425 096	422 627	2 935	90 800	26	8 sty 12	Niemcy
25.	An-Najah National University	NajahUniv	65	41	424 476	14 419	222	1 247	43	16 sie 09	Palestyna
26.	Indian Institute of Technology Kanpur	Guruprakash Academy	4166	2 583	501 207	310 757	1 680	8 002	265	1 lut 12	Indie
27.	Osoba prywatna	Linda Hanson	578	578	321 985	329 938	573	23 871	3	10 lut 11	USA

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
28.	Uniwersytet Jagielloński	Unijagielloński	308	1	257 537	7 944	7 944	7 944	7 944	23 lut 10	Polska
29.	Osoba prywatna	Sardana tutorials	444	444	414 440	414 196	547	7 604	12	1 lip 12	Indie
30.	Utah State University	Mike Christiansen	154	154	211 113	208 553	1 320	10 342	11	3 maj 12	USA
31.	Firma prywatna	TVIATVN	672	16	210 120	2 388	149	962	8	1 mar 13	Polska
32.	North Dakota State University; Department of Chemistry and Biochemistry	DrCookNDSU	44	44	159 643	25 049	569	4 295	223	2 lip 09	USA

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
33.	Indiana University-Purdue University Indianapolis	IUPUIORGANIC CHEM	30	30	155 482	148 801	4 960	17 701	72	10 sty 10	USA
34.	Osoba prywatna	Vishwanath Maheshwary	90	90	100 814	96 633	1 074	14 205	30	8 wrz 11	Indie
35.	Osoba prywatna	Vishwanath Maheshwary	73	90	88 387	70 751	969	9 802	79	8 wrz 11	Indie
36.	Osoba prywatna	Dushyant Kumar	16	16	74 175	51 740	3 234	19 549	301	29 sty 13	Indie
37.	Firma prywatna	Olympiad EDU	218	51	68 129	17 317	333	1 812	62	19 kwi 12	USA
38.	Politechnika Gdańska	Politechnika Gdańska	105	15	33 138	7 066	471	1865	38	1 lut 13	Polska
39.	Osoba prywatna	Imad Haidar Ahmad	46	46	32 525	32 673	710	8 342	12	14 sie 12	USA

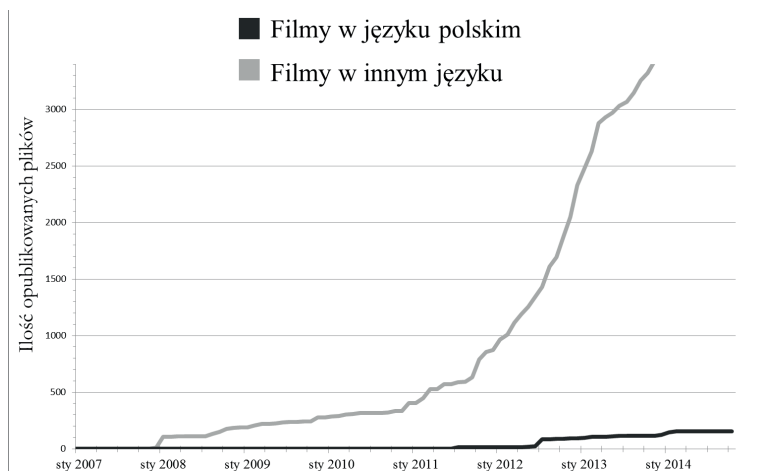
Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
40.	Osoba prywatna	Mr. Luzio	33	29	20 089	18 795	648	3 765	48	3 paź 11	USA
41.	Oakton Community College	Chad Landrie	5	4	13 303	11 808	2 952	11 363	49	27 maj 12	USA
42.	Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu	Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu	36	1	10 636	17	17	17	17	20 maj 11	Polska
43.	Osoba prywatna	Prof. Bilal R. Kaafarani	21	21	9 539	14 758	703	4 185	127	29 paź 11	Liban
44.	Osoba prywatna	OrganicChemist OnCall's channel	11	11	6 764	6 771	616	4 072	61	23 lut 12	USA
45.	Osoba prywatna	Robert Milne	38	37	9 261	9 257	258	2 959	10	21 paź 06	USA
46.	Politechnika Warszawska	SzukającEinsteina	60	20	6 055	580	29	94	5	1 gru 13	Polska

Tabela 1. Ciąg dalszy
Table 1. Continuation

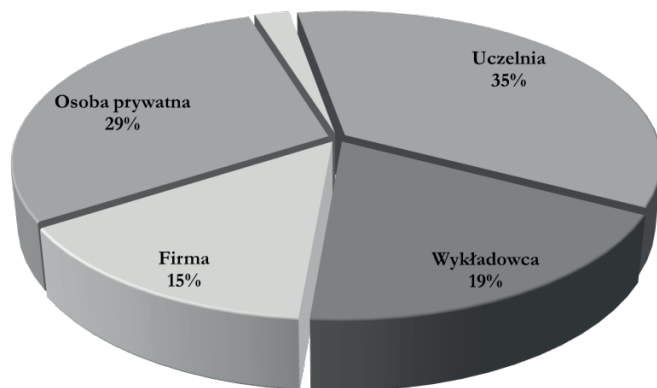
Lp.	Producent	Nazwa kanału	Całkowita liczba plików	Liczba plików o tematyce chemicznej	Całkowita liczba odsłon kanału	Całkowita liczba odsłon plików chemicznych	Średnia liczba odsłon / plik	Maksymalna liczba odsłon / plik	Minimalna liczba odsłon / plik	Data powstania kanału	Kraj
47.	Osoba prywatna	Paul Young	63	63	5 035	3 156	50	1 316	0	25 sty 08	USA
48.	Osoba prywatna	Chem Lectures	15	15	4 231	3 977	265	688	35	31 sie 12	Singapur
49.	Osoba prywatna	Dr. K's Chemistry	35	35	3 805	2 567	73	718	5	1 sie 13	USA
50.	Indian Institutes of Technology	Odia E School	80	21	2 428	394	19	72	1	brak danych	Indie

^a Na podstawie przeglądu pięćdziesięciu najpopularniejszych kanałów publikujących filmy o tematyce chemicznej. Do znalezienia odpowiednich profili użyto wyszukiwarki Youtube wpisując następujące terminy: „*chemia wykłady*”, „*chemia organiczna*”, „*chemia matura*”, „*chemia*”, „*chemistry lectures*”, „*organic chemistry*”, „*chemistry*”. Pewne wątpliwości może budzić sformułowanie słów kluczowych. Opisują one w najszerszym sensie takie materiały, w których występuje chemia. Chociaż wydaje się to omijać pewne obszary w praktyce wiele materiałów indeksowanych jest w ten sposób, nawet jeżeli formalnie w tytule nie występuje klucz chemia, także w językach innych niż angielski. Na przykład kwerenda znajduje materiały w języku niemieckim i arabskim.

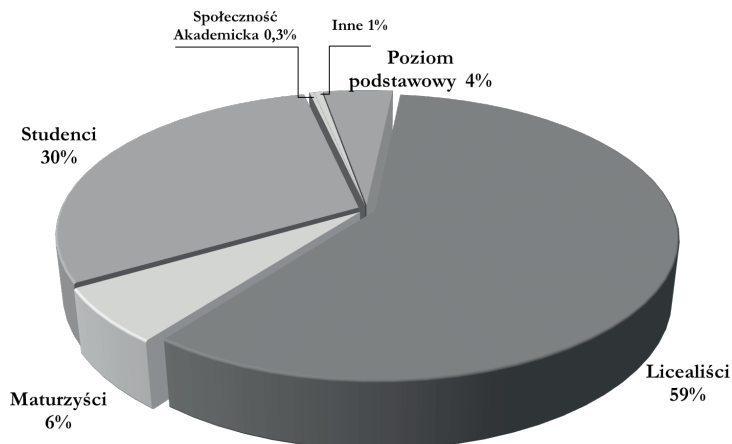


Rysunek 1. Liczba plików o tematyce chemicznej dostępnych na portalu YouTube w języku polskim oraz w innych językach. Około 94% to materiały w języku angielskim, 2% – w języku polskim
 Figure 1. A number of chemistry topics files on YouTube in polish and other languages; ca. 94% in English, 2% in Polish

Nasz ośrodek, Uniwersytet Śląski, w 2011 roku opublikował część materiałów dostępnych dla studentów chemii opracowanych w ramach projektu edukacyjnej platformy studentów instytutu chemii e-chem [15]. Listę tych materiałów oraz statystykę ich odsłon przedstawia Tabela 2.1. Dla porównania Tabela 2.2 podaje wykaz materiałów na platformie e-chem dostępnej lokalnie poza portalem Youtube.



Rysunek 2. Producenci plików o tematyce chemicznej publikowanych w serwisie YT
 Figure 2. Producers of chemistry topics movies on YouTube



Rysunek 3. Grupa docelowa plików o tematyce chemicznej publikowanych w serwisie YT
 Figure 3. Potential customers of chemistry topics files on YouTube

Ponad połowa filmów o tematyce chemicznej tworzona jest przez nauczycieli akademickich na kanałach uniwersyteckich lub osobistych; słowa kluczowe: „chemia wykłady”. Zdecydowana większość materiałów adresowana jest do licealistów, służąc jako materiał przygotowujący do egzaminów maturalnych, szczególnie jeśli w zapytaniu podamy termin: „chemia matura”. Studenci stanowią około 1/3 potencjalnych odbiorców (Rys. 2b). Warto równocześnie zauważyć, że coraz więcej osób znajduje w nauczaniu wirtualnym źródło swoich dochodów. Wiele z zamieszczonych materiałów stanowi promocję edukacyjnych usług komercyjnych. Przykładem może być polski kanał MaturaDlaOpornych [16], który reklamuje stronę z korepetycjami on-line Korkitv.tv [17]. Wśród podobnych zagranicznych serwisów można wymienić Olympiad EDU [18] ze stroną Onlineolympiad.com [19], Educator.com [20, 21].

Generalnie filmy związane z dydaktyką chemii szkoły wyższej, które umieszczono w serwisie YouTube podzielić można na kilka grup, które omawiamy w następnych rozdziałach.

2. WYKŁADY CHEMII UNIWERSYTECKIEJ

Pierwszym dosyć oczywistym przykładem wykorzystania platformy YouTube w nauczaniu chemii na poziomie szkoły wyższej są wykłady uniwersyteckie. Generalnie wykład to taka forma dydaktyczna, która preferuje jednostronną transmisję wiedzy od wykładowcy do słuchacza. O ile tradycyjny wykład *face to face* daje możliwość zmiany tej asymetrii, pozwalając zadawać pytania lub wchodzić w inne interakcje (np. dyskusje), w których to słuchacz odgrywa rolę aktywną, o tyle tradycyjny materiał wideo-dydaktyczny (YouTube) praktycznie blokuje takie działanie. Cho-

ciaż wydaje się, że Internet uniemożliwia bezpośrednią interakcję tego typu, asymetria działania nie dotyczy wszystkich materiałów on-line. Zaprojektowano specjalne narzędzia, które pozwalają obecnie na rozwiązanie tego problemu w czasie rzeczywistym. Webinarium jest przykładem interaktywnej formy, która umożliwia pełny kontakt podczas lekcji, w której połączenie internetowe wspomagane jest telefonem, a każdy słuchacz może zabrać głos lub udostępnić swoje materiały multimedialne. Przykładem oprogramowania zapewniającego takie środowisko dydaktyczne może być WebEx (CISCO) [22]. Dobrą ilustracją takiego typu szkolenia może być umieszczony w YouTube zapis seminarium zorganizowanego przez Uniwersytet Stanforda w ramach projektu Top500 Innovators [23]. Specjalistyczne oprogramowania do prowadzenia webinarium dostępne jest zarówno w wersji płatnej jak i freeware [24]. Przykład WebEx wykracza oczywiście poza obszar dostępny na platformie YouTube.

Wracając do portalu YouTube, omawiamy poniżej kilka reprezentatywnych przykładów kursów chemii organicznej dostępnych na kanałach YouTube.

Freshman Organic Chemistry with J. Michael McBride to cykl udostępniany w ramach projektu Open Yale Courses [25]. Jest to zbiór wykładów chemii organicznej sfilmowanych w obecności studentów. Został przygotowany przez profesora Michaela McBride'a jako multimedialna prezentacja Power Pointa (PP). Całość kursu, 37 jednogodzinnych filmów, to przykład w jaki sposób stymulować można interaktywność studentów podczas zajęć. Sposób przygotowania materiałów, różni się od standardowej lekcji położeniem szczególnego akcentu na zrozumienie i uczenia myślenia, a nie przyswojenie dużego przecież materiału faktograficznego. Nie można zapominać, że głównym adresatem są studenci elitarnej uczelni, zaś profesor McBride jest nie tylko wybitnym chemikiem, absolwentem Yale oraz Harvardu, lecz także laureatem nagród dydaktycznych, np. Nobel Signature Award in Graduate Education. Materiały poza wersją dostępną na YouTube odnaleźć można także na stronach Open Yale [26]. Poza zapisem wykładów znaleźć tam można również sylabusy oraz inne uzupełnienia przydatne dla potencjalnego studenta.

Innym kursem chemii organicznej jest kurs **Chemistry 3B** udostępniany przez Uniwersytet Berkeley w Kalifornii [27]. Wykładowcą jest Peter Vollhardt, autor podręczników chemii organicznej [28]. Kurs obejmujący tradycyjny wykład oparty jest na multimedialnej prezentacji PP. Pomimo tego, że prezentowanych jest wiele animacji molekularnych, minimalna aktywność słuchaczy wydaje się czynić wykład mniej atrakcyjnym niż kurs Yale.

W pełni tradycyjnym wykładem jest **Organic Chemistry 51A** [29] oraz **51B** [30] udostępniany są przez University of California Irvine. Większość materiału zaprezentowano w formie zapisu na tablicy przygotowywanego *ad hoc* w czasie wykładu (51A) lub na transparentnych foliach (51B), które wyświetlane są na ekranie.

Porównanie tych kilku kursów pozwala lepiej zrozumieć miejsce wykładu we współczesnej dydaktyce chemii. Widać znaczenie stymulowania zainteresowania słuchaczy. Ze swojego doświadczenia wykładowcy dodać można podatność na

szybkie nudzenie się multimediami. Ważny element to dobór materiału w zależności od kompetencji widowni. Już dawno doceniono ten fakt na przykład w nauczaniu języków obcych, gdzie powszechnie studentów dzieli się według zaawansowania na odpowiednie grupy (tzw. *placement tests*). Pozostaje pytaniem, czy działanie takie okazałoby się również użyteczne podczas wykładów w tak dalekiej od języków dydaktyce chemii.

Warto zastanowić się, kto jest adresatem zamieszczanych w sieci wykładów. Po pierwsze, to studenci macierzystych uczelni, którzy mogą w ten sposób dodatkowo wspomóc tradycyjną dydaktykę, uzupełniając swoje notatki lub lepiej zrozumieć wykładane treści. Materiały te są równocześnie reklamą uczelni, wykładowców, kursów, poszerzając zainteresowanie potencjalnych studentów. Stanowią tym samym doskonałe wzorce dla kadry dydaktycznej, która może porównać zalety i wady różnych modeli prowadzenia wykładu.

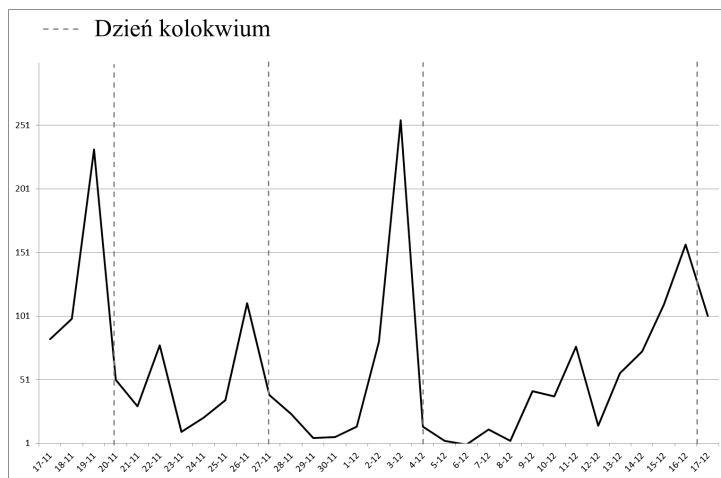
3. MATERIAŁY WSPOMAGAJĄCE ZAJĘCIA LABORATORYJNE W CHEMII

Dydaktyka chemii uległa w ostatnich latach bardzo dużym zmianom. Nauczycielami (instruktorami) w pracowniach chemicznych często są doktoranci, którzy są znacznie mniej doświadczeni niż pełniący jeszcze niedawno tę rolę długoletni pracownicy naukowci. Także studenci chemii nie zawsze wybierają ten przedmiot ze względu na swoje zainteresowania, a ich wybór nie zawsze poparty jest znajomością podstaw chemii w zakresie szkoły średniej. Powstaje pytanie, na ile wykorzystanie materiałów do zdalnego nauczania może w takiej sytuacji wspomagać dydaktykę chemii organicznej.

Kolejny problem w dydaktyce nauk technicznych związany jest z koniecznością kształtowania umiejętności manualnych, co w przypadku zdalnego nauczania wymaga specyficznego asynchronicznego łączenia materiałów *on-line* z tradycyjnymi formami zajęć, szczególnie laboratoryjnych. Taka formę zajęć, która nosi nazwę *blended learning* omawia Barbara Dębska na przykładzie Politechniki Rzeszowskiej [31].

Z naszych doświadczeń wynika, że zastosowanie takiej metody może być bardzo pomocne. W zakładzie chemii organicznej od kilku lat systematycznie wprowadzamy tego typu wspomaganie zajęć eksperymentalnych, obserwując korzystne efekty dydaktyczne. Studenci przygotowując się do laboratoriów, zapoznają się wcześniej z odpowiednimi materiałami dostępnymi na platformie edukacyjnej *e-chem*. Badając wyniki osiągane przez studentów podczas zajęć, zaobserwowaliśmy, że najlepsze efekty daje wcześniejsze nienadzorowane przeglądanie materiałów. Słabsze wyniki osiąga się, kiedy studenci przygotowują się do zajęć w sposób zorganizowany i kontrolowany. Efekt taki jest dosyć zaskakujący. Ponieważ materiały umieszczone na platformie YouTube stanowią jedynie niewielką część platformy edukacyjnej Instytutu Chemii UŚ, zajęcia prowadzono w oparciu o platformę MOODLE. Statystyki wykorzystania materiałów dowodzą, że studenci rzeczywiście

przygotowywali się do zajęć (Rys. 4). Na dzień przed zajęciami i kolokwium statystyka wykorzystania plików rosła do tego stopnia, że biorąc pod uwagę liczebność grup, każdy z uczestników średnio kilkanaście razy obejrzał materiał wideo (Rys. 5). Warto dodać, że w ten sam sposób kontrolować można wykorzystanie plików na platformie YouTube, która umożliwia nawet bardziej efektywną kontrolę nienadzorowanej pracy studenta. Oprócz standardowej liczby odsłon, ocen i komentarzy danego pliku, administrator kanału może kontrolować m.in. dane demograficzne, źródła wizyt, urządzenia, na których film został odtworzony, czy co najciekawsze, utrzymywanie uwagi odbiorców w trakcie jego trwania.



Rysunek 4. Liczba odsłon materiałów b-learning wspomagających zajęcia laboratoryjne z chemii organicznej na portalu edukacyjnym Instytutu Chemii UŚ e-chem

Figure 4. A number of views of b-learning materials supporting laboratory classes in organic chemistry in the education portal of the Institute of Chemistry University of Silesia

Materiały edukacyjne udostępniane są również od 2011 roku na kanale dydaktycznym Uniwersytetu Śląskiego w ramach portalu YouTube [15]. Istotny fragment tego kanału stanowią materiały Platformy Zdalnej Edukacji Instytutu Chemii e-chem (Tab. 2.1 i Tab. 2.2) [32].

Tabela 2.1. Wykaz plików dostępnych na platformie e-chem dla studentów chemii

Table 2.1. Files for students of chemistry available from the e-chem portal

Lp.	Cykl wykładów	Typ filmów	Liczba plików	Całkowita liczba wyświetleń	Maksymalna liczba wyświetleń / plik	Minimalna liczba wyświetleń / plik	Całkowita liczba komentarzy
1.	Wykłady z fizyki	Wykłady	8	222 212	65 032	8 890	69
2.	Chemia analityczna	Filmy instruktażowe	8	15 095	3 757	539	8

Lp.	Cykl wykładów	Typ filmów	Liczba plików	Całkowita liczba wyświetleń	Maksymalna liczba wyświetleń / plik	Minimalna liczba wyświetleń / plik	Całkowita liczba komentarzy
3.	Problemy współczesnej chemii	Wykłady	2	2 918	2 021	897	1
4.	Chemia – specjalności i specjalizacje	Wykłady	2	2 755	1 520	1 235	0
5.	Krystalografia	Filmy instruktażowe	4	2 521	1 199	276	0
6.	Wykłady z matematyki	Wykłady	10	174 219	33 602	772	70
7.	Chemia organiczna. Proste operacje laboratoryjne	Filmy instruktażowe	108	47	23	0	108
8.	Chemia organiczna. Syntezy preparatów	Filmy instruktażowe	249	73	3	0	249

Tabela 2.2. Wykaz plików z zakresu chemii organicznej dostępnych na platformie e-chem
 Table 2.2. Organic chemistry files available for students from the e-chem portal

Lp.	Grupa materiałów	Typ plików	Liczba plików
1.	Wykłady kursowe	Pliki tekstowy PDF	22
2.	Zadania do samodzielnego rozwiązania	Testy	9
3.	Sprzęt szklany	Zdjęcia z opisem	14
4.	Sprzęt metalowy i inny sprzęt laboratoryjny	Zdjęcia z opisem	5
5.	Zestawy laboratoryjne w mikroskali	Zdjęcia z opisem	7
6.	Podstawowe operacje laboratoryjne	Filmy	3
7.	Wykaz preparatów	Pliki tekstowy PDF	14
8.	Wykaz preparatów	Filmy instruktażowe	14
9.	Sprawozdania z ćwiczeń laboratoryjnych	Pliki tekstowy PDF	2
Łączna liczba plików:			90
Ilość plików z materiałami wideo:			17

4. INNE MATERIAŁY O POTENCJALE EDUKACYJNYM

Obok wykładów firmowanych przez uniwersytety na portalu Youtube pojawiają się też materiały publikowane przez osoby prywatne. Rekordzistą w zakresie dydaktyki chemii jest Guru Prakash z Indyjskiego Instytutu Technologii w Kanpur. Na kanale Guruprakash Academy [33] znajduje się ponad 2,5 tys. plików o tematyce chemicznej. Filmy publikowane są w języku angielskim, a wykłady prowadzone są najczęściej z wykorzystaniem prezentacji multimedialnej, programu komputerowego lub kartki papieru i długopisu. Dotyczą zagadnień z różnych dziedzin chemii na poziomie szkoły średniej lub studiów. Są posortowane według odpowiednich 44 kategorii tematycznych (playlisty), zawierających od kilku do kilkuset plików.

Michael A. Christiansen z Wydziału Chemicznego Uniwersytetu Stanowego w Utah na swoim kanale Youtube [34] udostępnia filmy dotyczące wyłącznie zagadnień chemicznych – łącznie prawie 130 plików. Materiały te, adresowane są do studentów kierunków chemicznych. Autor wykorzystuje prezentacje multimedialne w połączeniu z miniaturą obrazu z kamery. Kilkunasto- do kilkudziesięciminutowe wykłady cieszą się dużą popularnością. Rekordową oglądalność uzyskał wykład dotyczący nazewnictwa oraz orbitali molekularnych – ponad 13 tys. wyświetleń i 70 pozytywnych komentarzy (tzw. lików) w okresie 2 lat [35].

5. POLSKIE KANAŁY O TEMATYCE CHEMICZNEJ

Zdecydowanie mniej kanałów o tematyce chemicznej można znaleźć na polskich stronach YouTube. Po gruntownej analizie wielu haseł znaleziono zaledwie 143 pliki zawierające materiały poświęcone nauczaniu chemii.

Do najpopularniejszych kanałów należy **MaturaDlaOpornych** [16]. Zawiera on problemy maturalne z matematyki, fizyki i chemii. Z niecałych 100 plików większość poświęcona jest chemii. Wykłady są nagrywane profesjonalnie, w sali lekcyjnej z dostępem do tablicy i kredy. Bardziej skomplikowane animacje zostały wmontowane w nagranie. Wszystkie wykłady z chemii prowadzi anonimowy młody mężczyzna. Kursy cieszą się bardzo dużą popularnością wśród maturzystów, pomimo, że nie są kompletne. Na przykład można znaleźć wykład „Chemia organiczna część 1” oraz „Chemia organiczna część 3”, natomiast nie ma na stronie środkowej części podanej lekcji. Czytając komentarze pod filmami, można natknąć się na takie, w których użytkownicy skarżą się na braki lub zwracają uwagę na poważne błędy popełniane podczas wykładu. Naszym zdaniem pokazuje to tylko jak bardzo brakuje wysokiej jakości materiałów tego typu. O tym jak duże jest zapotrzebowanie świadczy zarówno liczba wyświetleń (sięgająca nawet 35 tys. [36]), jak i komentarzy materiałów, których jakość jest często niezadowalająca.

Świadczy o tym zarówno liczba wyświetleń (sięgająca nawet 35 tys. [36]), jak i komentarze. Ponad 70% filmów zostało skomentowanych, dla 15% to ponad 10 komentarzy.

Również polskie uczelnie mają swoje kanały w serwisie Youtube, przy czym dla wielu stanowią one jedynie miejsce zamieszczania materiałów informacyjnych o uczelni. Poniżej wymieniamy kilka, które publikują najwięcej materiałów poświęconych tematyce chemicznej. **Politechnika Warszawska** [37] udostępnia 60 plików, w tym 20 o tematyce chemicznej, filmy dotyczące zagadnień z matematyki, fizyki i chemii są na poziomie szkoły średniej. **Politechnika Gdańska** posiada 120 plików, w tym 15 o tematyce chemicznej [38], natomiast **Uniwersytet Śląski** 252 plików, w tym 52 o tematyce chemicznej [15].

6. PORTALE EDUKACYJNE

Z racji szczególnie łatwej dostępności i popularności w naszym artykule skupiliśmy głównie na portalu YouTube. Nie jest to jednak jedyne dostępne źródło materiałów dydaktycznych. Poniżej omówiono kilka innych miejsc gdzie poszukiwać można materiałów dydaktycznych.

Iducate to portal internetowy oferujący informacje na temat dostępnych kursów on-line [39, 40]. Podobnym portalem jest **Skilledup** [41]. Kursy dostępne są też często bezpośrednio na stronach uczelni.

Nowym projektem rozwijającym technologie edukacyjne on-line jest **Coursera** [42]. W zamyśle jest to komercyjna platforma e-learningowa obejmująca kompleksowe kursy on line (tzw. *massive open online course*, MOOC) [43] Oprócz tradycyjnych wykładów i materiałów wideo, oferuje także zadania do samodzielnego rozwiązywania oraz forum dyskusyjne. Dostęp do oferty jest bezpłatny. Student płaci natomiast za certyfikaty. Typowy kurs trwa od sześciu do dziesięciu tygodni i kończy się może egzaminem. We wrześniu 2013 roku firma ogłosiła, że uzyskała pierwszy milion dolarów dochodu. Coursera założona w Mountain View to typowy wytwór innowacyjnej Doliny Krzemowej. Firma rozpoczęła swoją działalność w 2012 roku w partnerstwie z Uniwersytetami Stanforda, Princeton, Michigan oraz Pensylwania. Już w tym samym roku konsorcjum powiększyło się o kolejne: California Institute of Technology; Duke University; the Georgia Institute of Technology; Johns Hopkins University; Rice University; the University of California, San Francisco; the University of Illinois, Urbana-Champaign; the University of Washington; and the University of Virginia oraz University of Edinburgh w Szkocji, University of Toronto and EPF Lozannie (Szwajcaria) [44]. W chwili obecnej 10 milionów użytkowników korzysta z 839 kursów przygotowanych przez 114 instytucji. Te liczby ilustrują jak szybki jest rozwój technologii w tym zakresie. Pokazują także, że z technicznego punktu widzenia nie ma dzisiaj już żadnych przeszkód w globalnej edukacji on-line. To raczej kwestie organizacyjne, regulacja szkolnictwa oraz bariery psychologiczne decydują o możliwościach rozwoju.

Innymi platformami MOOC są EdX, Udacity czy Canvas Network. Podstawowe informacje na ich temat dostępne są bezpośrednio na stronach internetowych

odpowiednich firm, które zajmują się rozwijaniem tych systemów lub na stronie Wikipedii. Tabela 3 przedstawia kursy chemiczne dostępne na tych platformach.

Tabela 3. Kompleksowe kursy chemii dostępne na platformach edukacyjnych
Table 3. Complex chemistry courses available from education portals

Uniwersytet	Kurs	Platforma
Rutgers University	Preparation for General Chemistry	Coursera
Arizona State University	Introductory Organic Chemistry – Part 2	Coursera
University of Illinois at Urbana-Champaign	Introductory Organic Chemistry – Part 2	Coursera
Arizona State University	Introductory Organic Chemistry – Part 1	Coursera
University of Illinois at Urbana-Champaign	Introductory Organic Chemistry – Part 1	Coursera
Duke University	Introduction to Chemistry	Coursera
UC Santa Cruz	ID:001: Chemistry of Life	edX
McHenry County College	Exploring Chemistry	Canvas Network
Scottsdale Community College	Exploring Chemistry	Canvas Network
Rice University	Chemistry: Concept Development and Application Part II	Coursera
Rice University	Chemistry: Concept Development and Application	Coursera
University of Florida	Chemistry: Concept Development and Application	Coursera
Johns Hopkins University	Chemicals and Health	Coursera
University of Florida	Analytical Chemistry / Instrumental Analysis	Coursera
Rice University	Analytical Chemistry	Coursera
University of Kentucky	Advanced Chemistry	Coursera
Massachusetts Institute of Technology	3.091x: Introduction to Solid State Chemistry	edX
Davidson College	001x: Medicinal Chemistry: The Molecular Basis of Drug Discovery	edX

PODSUMOWANIE

Obserwowany w ostatnich latach rozwój technologii edukacyjnych on-line daje możliwość efektywnego wykorzystania materiałów wideo w nauczaniu chemii metodami e- lub blended-learning. W ramach publikacji dokonano przeglądu materiałów edukacyjnych dostępnych na platformie YouTube oraz innych specjalistycznych portalach edukacyjnych. Wykorzystanie materiałów wideo w nauczaniu, pomimo wielu niepodważalnych zalet, stawia nowe wyzwania zarówno przed studentami jak i nauczycielami akademickimi. Studenci chcąc korzystać z nowatorskich rozwiązań, muszą przezwyciężyć swoje największe słabości jakimi są m.in. brak samodyscypliny, prokrastynacja czy przekładanie odpowiedzialności za tok uczenia na prowadzącego [45]. Jednocześnie wykładowcy decydujący się na taki sposób nauczania, ponoszą dużą odpowiedzialność za motywowanie swoich uczniów do pracy. W dzisiejszych czasach, gdy dostęp do wiedzy jest łatwy i powszechny, szczególnie w środowisku internetowym, rola nauczyciela zmieniała się z mistrza przekazującego wiedzę, na przewodnika, który pomaga ją usystematyzować [45]. Autorzy wideo lekcji powinni wobec tego szczególnie wystrzegać się szablonowych rozwiązań, by maksymalnie podtrzymać zainteresowanie słuchaczy [46]. Trzeba równocześnie pamiętać, że produkcja filmu edukacyjnego to za mało, jeśli mowa o wirtualnym nauczaniu. Serwis Youtube udostępnia wiele narzędzi, z których uczymy się dopiero korzystać. Jednym z najważniejszych jest możliwość pisania komentarzy, która pozwala na komunikację obustronną [47].

Przedstawiona analiza wykazuje, że dokonał się istotny postęp w zakresie dostępności i koncepcji wykorzystania materiałów on-line, w tym także w nauczaniu chemii. Aktywność w tym zakresie wykazuje wiele czołowych uczelni świata, zmierzając do globalizacji edukacji. Dostępne technologie on-line umożliwiają tworzenie coraz lepszych kursów chemii. Czy jesteśmy świadkami powstawania globalnego uniwersytetu? Wydaje się, że na obecnym etapie głównym problemem nie są już zagadnienia techniczne lecz ustawowe regulacje oraz dylematy psychologiczne dydaktyki on-line.

Czy w tym zakresie możemy spodziewać się efektów globalizacji, w tym także takich, które obejmą nasze uczelnie. Na obecnym etapie internetowe platformy zawierające materiały wideo stanowić mogą ciekawe uzupełnienie dydaktyki chemii, szczególnie w metodach blended-learning.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] P. Wojciechowski, *Wiad. Chem.*, 2012, **66**, 342.
- [2] W. Cellary, *Przekazywanie wiedzy drogami elektronicznymi*, [online], Materiały z konferencji: Media a edukacja, Poznań, 2012, [Dostęp: 2015-01-14]. Dostępny w Internecie: http://edunet.amu.edu.pl/mae2012/06_Cellary_2012.pdf

- [3] J. Pyżalski, *Polscy nauczyciele i uczniowie a agresja elektroniczna – zarys teoretyczny i najnowsze wyniki badań*, [w:] M. Jędrzejko, D. Sarzała (red.), *Człowiek i uzależnienia*, Pułtusk-Warszawa. Akademia Humanistyczna im. Aleksandra Gieysztora, Oficyna Wydawnicza ASPRA-JR, 2010.
- [4] D. Sessoms, *Journal of Technology in Teaching and Learning*, 2008, 4(2), 86.
- [5] P. Pietikäinen, K. Vilonen, *J. Sci. Edu. Technol.*, 17(1), 100.
- [6] C. Castro, A. Andrade, *Teaching chemistry in a social learning environment: facing drivers and barriers*, Proceedings of ICERI2011 Conference, Madrid, 2011.
- [7] J. Ballesta-Claver, I. de Orbe-Payá, F. Quintanal Pérez, L.F. Capitán-Vallvey, *Using web 2.0 tools to support university teaching in chemistry: the new way*, Proceedings of ICERI2011 Conference, Madrid, 2011.
- [8] J. Waycott, G. Kennedy, *Mobile and Web 2.0 technologies in undergraduate science: Situating learning in everyday experience*, Proceedings of Conference: Same places, different spaces. Proceedings ascilite Auckland 2009: Full paper: Waycott and Kennedy.
- [9] B. Dębska, *Wykorzystanie technologii informatycznych w akademickiej dydaktyce chemii*, Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, 2007, 17-23.
- [10] Informacja przekazana przez anonimowego recenzenta pracy.
- [11] <http://pl.wikipedia.org/wiki/YouTube>
- [12] *Internetowe serwisy społecznościowe – z czym to się je?*, [online], <http://www.gazetalubuska.pl/>, [Dostęp: 2014-03-22]. Dostępny w Internecie: <http://www.gazetalubuska.pl/apps/pbcs.dll/article?AID=/20100104/SWIAT/9342789>
- [13] P. Szlagor, *Wiededydaktyka 2.0. Serwis społecznościowy Youtube*, [online], III Konferencja Studentów KN, Wrocław 2010, [Dostęp: 2014-05-05].
- [14] Dostępny w Internecie: <https://www.youtube.com/watch?v=SrkDiF8PH50>
- [15] <https://www.youtube.com/user/UCBerkeley/>: Stan na dzień 10.05.2014
- [16] <https://www.youtube.com/user/admUniwersytetSlaski>
- [17] <https://www.youtube.com/user/MaturaDlaOpornych>
- [18] <http://www.korkitv.tv/>
- [19] <http://www.youtube.com/user/olympiadedu>
- [20] <http://onlineolympiad.com/>
- [21] <https://www.youtube.com/user/EducatorVids>
- [22] <http://www.educator.com>
- [23] <http://www.webex.com/>
- [24] M. Schar, J. Sabol, *How to Help Stimulate Innovation in Poland*, [materiał multimedialny], Youtube.com, [Dostęp: 2015-01-10]. Dostępny w Internecie: <https://www.youtube.com/watch?v=6WjA-ZXXtrOc&feature=youtu.be>
- [25] <http://webinar-services-review.toptenreviews.com/>
- [26] J.M. McBride, *Freshman Organic Chemistry with J. Michael McBride*, [materiały multimedialne], Youtube.com, [Dostęp: 2014-08-15].
- [27] Dostępne w Internecie: <https://www.youtube.com/playlist?list=PL3F629F73640F831D>
- [28] J.M. McBride, Chem125A: J.M. McBride, *Freshman Organic Chemistry I*, [materiały multimedialne], oyc.yale.edu/, [Dostęp: 2014-08-15].
- [29] Dostępny w Internecie: <http://oyc.yale.edu/chemistry/chem-125a>
- [30] K.P. Vollhardt, *Chemistry 3B, 002 - Fall 2010*, [materiały multimedialne], Youtube.com, [Dostęp: 2014-08-15].
- [31] Dostępny w Internecie: <https://www.youtube.com/playlist?list=PLE4C98CD0D8E52A2A>
- [32] K.P. Vollhardt, N.E. Schore, *Organic Chemistry, Structure and function*, Freeman and Company, New York, 2010.

- [33] J. Nowick, *Chemistry 51A Organic Chemistry*, [materiały multimedialne], Youtube.com, [Dostęp: 2014-08-15].
- [34] Dostępne w Internecie: <https://www.youtube.com/playlist?list=PL6539BAED55972D64>
- [35] V. Vranken, *Chemistry 51B: Organic Chemistry*, [materiały multimedialne], Youtube.com, [Dostęp: 2014-08-15]. Dostępne w Internecie:
- [36] https://www.youtube.com/playlist?list=PLqOZ6FD_RQ7nA65lnGXFFTvsmGIRtutQ
- [37] B. Dębska, B. Guzowska-Świder, K. Hęćlik, Edu@kcja. Magazyn edukacji elektronicznej, 2012, **2(4)**, 89.
- [38] <https://www.youtube.com/playlist?list=PLlhOYvtSn-fvVZQjkVELf0tS9ZNhMzkuV>
- [39] <https://www.youtube.com/user/gprakash66>
- [40] https://www.youtube.com/channel/UCpUkAZfpeUBMmA_zAAERyZw
- [41] M. Christiansen, Free O-Chem Lectures for MCAT, DAT, PCAT, and GRE prep - Video 1 - IUPAC & Orbitals, [materiał multimedialny], Youtube.com, [Dostęp: 2014-10-06].
- [42] Dostępny w Internecie: <https://www.youtube.com/watch?v=psJ89ZUqLkY>
- [43] Wiązanie jonowe, [materiał multimedialny], Youtube.com, [Dostęp: 2015-01-10]. Dostępny w Internecie: https://www.youtube.com/watch?v=fdaCNfaSH_c&list=PL14360471C9864195&index=1
- [44] <https://www.youtube.com/channel/UCfjsFnI8a-yJhC4t9Amy8bQ>
- [45] <https://www.youtube.com/user/PolitechnikaGdanska>
- [46] <http://ieducate.org>
- [47] <http://ieducate.org/free-online-course/top/for/that-are-available-on-youtube/chemistry-classes/offered-by-yale-university>
- [48] <http://www.skilledup.com/learn/openup/learn-chemistry-online-free/>
- [49] <https://www.coursera.org/>
- [50] http://en.wikipedia.org/wiki/Massive_open_online_course
- [51] <http://en.wikipedia.org/wiki/Coursera>
- [52] A. Rawa-Kochanowska, *Motywowanie w e-nauczaniu – z doświadczeń praktyka*, [online], E-mentor, 4 (46), 2012 [dostęp: 2012-11-19]. Dostępny w Internecie: <http://www.e-mentor.edu.pl/artukul/index/numer/46/id/950>
- [53] J. Kulasa, *Kompetencje informatyczne nauczyciela w zakresie e-learningu*, [online], SCENO, Świętokrzyskie Centrum Edukacji na Odległość, Zeszyty naukowe 2/2006 [dostęp: 2012-11-28]. Dostępny w Internecie: http://www.sceno.edu.pl/konferencja/8_24.pdf
- [54] G. Penkowska, *Polski e-learning w opiniach ekspertów (cz. II)*, [online], E-mentor, 4 (21), 2007, [dostęp: 2012-11-28]. Dostępny w Internecie: <http://www.e-mentor.edu.pl/artukul/index/numer/21/id/457>

Praca wpłynęła do Redakcji 25 listopada 2014

INFORMACJE

INFORMACJE REDAKCJI „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

CENY PRENUMERATY NA ROK 2015

Redakcja miesięcznika PTChem „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2015 r. wynosi **220 zł + 5% VAT** dla instytucji i niezrzeszonych prenumeratorów indywidualnych. Dla członków PTChem **20 zł**. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

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

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

- prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2015 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi **70 zł** (składka – 50 zł, prenumerata – 20 zł);
- emeryci, doktoranci oraz studenci płacą **35 zł** (składka – 15 zł, prenumerata – 20 zł); a nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą **40 zł** (składka – 20 zł, prenumerata – 20 zł).

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

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

PODZIĘKOWANIA

Komitet Redakcyjny „Wiadomości Chemicznych” pragnie złożyć słowa podziękowania za okazaną pomoc i wsparcie finansowe w roku 2014:

- Panu prof. dr hab. Adamowi Jezierskiemu, Prorektorowi Uniwersytetu Wrocławskiego,
- Panu prof. dr hab. Henrykowi Koroniakowi, Dziekanowi Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu,
- Pani prof. dr hab. Annie M. Trzeciak, Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego,
- Firmie Farmaceutycznej Merck Sp. z o.o.

Kierujemy również bardzo serdeczne słowa podziękowania dla wszystkich Recenzentów i Autorów, którzy współpracowali z nami w roku 2014. To właśnie dzięki ich pracy możliwe było utrzymanie wysokiego poziomu naukowego czasopisma.

prof. dr hab. Zdzisław Latajka
Redaktor Naczelny

WYRÓŻNIONE PRACE DOKTORSKIE LUB HABILITACYJNE

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

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

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

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

**LISTA RECENZENTÓW WSPÓŁPRACUJACYCH
Z REDAKCJĄ „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH” W LATACH 2012-14**

prof. dr hab. inż. Marek Adamczak

Katedra Biotechnologii Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

prof. dr hab. inż. Ryszard Andruszkiewicz

Politechnika Gdańska, Wydział Chemii, Katedra Technologii Leków i Biochemii

prof. dr hab. inż. Barbara Becker

Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny

dr Agata Białońska

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

prof. dr hab. inż. Grzegorz Bujacz

Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biochemii Technicznej

prof. zw. dr hab. inż. Stanisław Błażewicz

Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie; Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki; Katedra Biomateriałów

dr hab. inż. Katarzyna Borowska

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich
w Bydgoszczy

dr Anna Bodzoń-Kułakowska

Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie; Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

prof. dr hab. Stanisław Boryczka

Śląski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Chemii Organicznej

prof. dr hab. Jerzy Boryski

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN

prof. zw. dr hab. Wanda Brzyska

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej; Wydział Chemii; Zakład Chemii Ogólnej i Koordynacyjnej

prof. zw. dr hab. inż. Bogdan Burczyk

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Technologii Organicznej i Farmaceutycznej

prof. zw. dr hab. Bogusław Buszewski

Wydział Chemii UMK, Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky

dr Marek Cebrat

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

dr hab. Lech Celewicz

Uniwersytet A. Mickiewicza Wydział Chemii Pracownia Chemii Nukleozydów i Nukleotydów

prof. zw. dr hab. inż. Jerzy Feliks Choma

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach; Wydział Matematyczno-Przyrodniczy; Instytut Chemii

dr Grażyna Chwatko

Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii; Katedra Chemii Środowiska

prof. dr hab. Leszek Zbigniew Ciunik

Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

prof. dr hab. inż. Stanisław Cudziło

Wojskowa Akademia Techniczna im. Jarosława Dąbrowskiego; Wydział Nowych Technologii i Chemii; Instytut Chemii

prof. dr hab. Leszek Adam Czepirski

Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie; Wydział Energetyki i Paliw, Katedra Chemii Węgla i Nauk o Środowisku

prof. dr hab. Jerzy Datka

Uniwersytet Jagielloński; Wydział Chemii; Zakład Chemii Nieorganicznej

prof. dr hab. Zbigniew Dobrzański

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt; Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt

prof. dr hab. Barbara Dębska

Politechnika Rzeszowska im. Ignacego Łukasiewicza, Wydział Chemiczny

dr Krzysztof Drabent

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

dr hab. inż. Krystyna Jolanta Dzierzbicka

Politechnika Gdańska; Wydział Chemiczny; Katedra Chemii Organicznej

dr hab. Krzysztof Ejsmont

Uniwersytet Opolski, Wydział Chemii

dr inż. Mateusz Fijałkowski

Technicka Unverzita w Liberci, Institute for Nanomaterials, Advanced Technology and Innovation

prof. dr hab. Aleksander Filarowski

Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

prof. dr hab. Jolanta Floryszak-Wieczorek

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu; Katedra Fizjologii Roślin

prof. dr hab. Renata Gadzała-Kopciuch

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Chemii, Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky

dr hab. Inż. Barbara Gawdzik

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach; Wydział Matematyczno-Przyrodniczy; Instytut Chemii

prof. dr hab. Andrzej Wincenty Gamian

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu; Wydział Lekarski; Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej

prof. dr hab. inż. Roman Gancarz

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Technologii Organicznej i Farmaceutycznej

prof. dr hab. Maria Gdaniec

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Krytalografii

prof. zw. dr hab. Jacek Gliński

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Jolanta Gromadzińska

Instytut Medycyny Pracy im. Prof. J. Nofera, Zakład Toksykologii i Kancerogenezy

prof. dr hab. Grzegorz Gryniewicz

Instytut Farmaceutyczny, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa

prof. dr hab. Hanna Maria Gulińska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Dydaktyki Chemii

prof. dr hab. Jerzy Kazimierz Hanuza

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu; Wydział Inżynieryjno-Ekonomiczny; Instytut Chemii i Technologii Żywności

dr hab. inż. Andrzej Huczko

Uniwersytet Warszawski; Wydział Chemii

prof. dr hab. inż. Stefan Jankowski

Politechnika Łódzka; Wydział Chemiczny; Instytut Chemii Organicznej

prof. dr hab. Bronisław Jańczuk

Katedra Chemii Fizycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

dr hab. Inż. Janina Kabatc

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy; Wydział Technologii i Inżynierii

prof. dr hab. Piotr Kachlicki

Instytut Genetyki Roślin PAN

prof. zw. dr hab. inż. Paweł Kazimierz Kafarski

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Chemii Bioorganicznej

dr hab. Małgorzata Karolus

Uniwersytet Śląski, Wydział Informatyki i Nauki o Materiałach, Instytut Nauki o Materiałach

prof. dr hab. Franciszek Kasprkowski

Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański

dr hab. inż. Aleksandra Kołodziejczyk

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Medycznej

prof. dr hab. inż. Aleksander Kołodziejczyk

Politechnika Gdańska; Wydział Chemiczny; Katedra Chemii Organicznej

prof. dr hab. Marek Kojdecki

Wojskowa Akademia Techniczna im. Jarosława Dąbrowskiego; Wydział Cybernetyki; Instytut Matematyki i Kryptologii

dr Edyta Kostrzewa-Susłow

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu; Wydział Nauk o Żywności; Katedra Chemii

prof. dr hab. inż. Małgorzata Kotulska

Politechnika Wrocławska, Instytut Inżynierii medycznej i Pomiarowej

prof. dr hab. Teresa Kowalik-Jankowska

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. Zygmunt Kowalski

Instytut Chemii i Technologii Nieorganicznej, Politechnika Krakowska

prof. dr hab. Anna Kozioł

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej; Wydział Chemii; Zakład Krystalografii

prof. dr hab. czł. koresp. PAN Henryk Kozłowski

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Stanisław Krompiec

Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii

prof. dr hab. Bogusław Kryczka

Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii; Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej

prof. zw. dr hab. Tadeusz M. Krygowski

Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii

dr Małgorzata Krasodomska

Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, Zakład Chemii Organicznej

prof. dr hab. Czł. Koresp. PAN Włodzimierz Krzyżosiak

Polska Akademia Nauk; Wydziały PAN; Wydział II Nauk Biologicznych i Rolniczych

prof. dr hab. Andrzej Książczak

Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Zakład Materiałów Wysokoenergetycznych

dr hab. Maciej Kubicki

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Krystalografii

prof. dr hab. Przemysław Kubisa

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN

prof. dr hab. Stanisław Lamparski

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Chemii Fizycznej

prof. zw. dr hab. Zdzisław Latajka

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Stanisław Leśniak

Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej

prof. dr hab. Zbigniew Leśnikowski

Instytutu Biologii Medycznej PAN

prof. dr hab. Jarosław Lewkowski

Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii

prof. dr hab. Beata Liberek

Uniwersytet Gdański; Wydział Chemii; Katedra Chemii Organicznej

prof. dr hab. Teodozja Lipińska

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Instytut Chemii

prof. dr hab. Stefan Lis

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii

prof. dr hab. Jerzy Lisowski

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

prof. dr hab. Wiesław Łasocha

Uniwersytet Jagielloński; Wydział Chemii; Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki

prof. dr hab. Eugeniusz Antoni Łągiewka

Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Informatyki i Nauki o Materiałach

dr hab. Bogusława Maria Łęska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Chemii; Zakład Chemii Supramolekularnej

prof. dr hab. inż. Maria Madej-Lachowska

Polska Akademia Nauk, Instytut Inżynierii Chemicznej

prof. dr hab. inż. czł. koresp. PAN Bogusław Major

Instytut Metalurgii i Inżynierii Materiałowej PAN, Kraków

prof. zw. dr hab. inż. Andrzej Wiktor Maranda

Wojskowa Akademia Techniczna im. Jarosława Dąbrowskiego; Wydział Nowych Technologii i Chemii

dr hab. Katarzyna Małolepsza-Jarmołowska

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku

dr Agata Markowska-Szczupak

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie; Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej; Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska

dr Agnieszka Masajada

Politechnika Wrocławska, Instytut Fizyki

dr hab. inż. Witold Zygmunt Mielcarek

Instytut Elektrotechniki

prof. dr hab. Roman Mieczysław Mierzecki

Polska Akademia Nauk; Wydział I Nauk Humanistycznych i Społecznych; Komitet Historii Nauki i Techniki

dr hab. inż. Karol Mińkowski

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waława Dąbrowskiej

prof. dr hab. Konrad Misiura

Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

prof. dr hab. Andrzej Molski

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii; Pracownia Dynamiki Procesów Fizykochemicznych

prof. dr hab. inż. Jan Mosio-Mosiewski

Instytut Ciężkiej Syntezy Organicznej

prof. dr hab. inż. Jacek Młochowski

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny

prof. dr hab. Krystyna Nowińska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii, Zakład Katalizy Heterogenicznej

prof. dr hab. Agnieszka Olejniczak

Instytutu Biologii Medycznej PAN

prof. dr hab. inż. Aleksandra Barbara Olma

Politechnika Łódzka; Wydział Chemiczny; Instytut Chemii Organicznej

dr Marcina Olszewski

Politechnika Gdańska, Katedra Mikrobiologii

dr inż. Joanna Ortyl

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki; Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej; Katedra Biotechnologii i Chemii Fizycznej

prof. dr hab. Kazimierz Orzechowski

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

prof. dr hab. Bogdan Pałosz

Instytut Wysokich Ciśnień PAN

prof. dr hab. czł. koresp. PAN Stanisław Penczek
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN

prof. dr hab. Anna Pieleśz
Instytut Inżynierii Tekstyliów i Materiałów Polimerowych, Wydział Nauk o Materiałach i Środowisku, Akademia Techniczno-Humanistyczna, Bielsko-Biała

prof. dr hab. Marek Pietraszkiewicz
Polska Akademia Nauk w Warszawie, Instytut Chemii Fizycznej

prof. dr hab. Adam Andrzej Pietraszko
Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. Włodzimierza Trzebiatowskiego PAN

prof. dr hab. inż. Jacek Pięłowski
Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Inżynierii i Technologii Polimerów

dr hab. Piotr Piszczek
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Chemii

prof. dr hab. inż. Wioletta Anna Podgórska
Politechnika Warszawska; Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

prof. dr hab. Florian Paweł Pruchnik
Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. inż. Janusz Rachoń
Politechnika Gdańska; Wydział Chemiczny; Katedra Chemii Organicznej

dr hab. Michał Rachwański
Uniwersytet Łódzki; Wydział Chemii; Katedra Chemii Organicznej i Stosowanej

prof. dr hab. inż. Gabriel Rokicki
Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Katedra Chemii i Technologii

prof. dr hab. Krzysztof Rolka
Uniwersytet Gdański; Wydział Chemii; Katedra Chemii Bioorganicznej

dr Grzegorz Rusek
Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

prof. dr hab. inż. Wojciech Sas

Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Zakład Chemii Organicznej

prof. dr hab. Grzegorz Schroeder

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza; Wydział Chemii; Zakład Chemii Supramolekularnej

prof. dr hab. Ignacy Zenon Siemion

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

dr hab. inż. Renata Siedlecka

Politechnika Wroclawska; Wydział Chemiczny; Zakład Chemii Organicznej

prof. dr hab. Wiesława Sikora

Katedra Fizyki Materii Skondensowanej, Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH

prof. dr hab. inż. Jacek Mikołaj Skarżewski

Politechnika Wroclawska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Chemii Organicznej

prof. dr hab. inż. Wincenty Antoni Skupiński

Politechnika Warszawska; Wydział Chemiczny; Zakład Materiałów Wysokoenergetycznych

dr hab. Krzysztof Sobczak

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; Wydział Biologii; Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii

prof. dr hab. Jadwiga Sołoducho

Politechnika Wroclawska; Wydział Chemiczny; Wydziałowy Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii

prof. dr hab. Stanisław Kazimierz Sobiak

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu; Wydział Farmaceutyczny; Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych

prof. dr hab. Mirosław Soszyński

Uniwersytet Łódzki; Wydział Biologii i Ochrony Środowiska; Katedra Biofizyki Molekularnej

prof. dr hab. Katarzyna Marta Stadnicka

Uniwersytet Jagielloński; Wydział Chemii; Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki

prof. dr hab. Janusz Wojciech Stafiej

Instytut Chemii Fizycznej PAN

prof. dr hab. Jacek Antoni Stawiński

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN

dr hab. Piotr Tadeusz Stefanowicz

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Maciej Stobiecki

Instytut Chemii Bioorganicznej PAN

prof. dr hab. Wiesław Stanisław Stręć

Polska Akademia Nauk, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

dr hab. Przemysław Marek Starynowicz

Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii

prof. zw. dr hab. Zbigniew Szewczuk

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Maciej Szmitkowski

Zakład Diagnostyki Biochemicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

prof. dr hab. Anna Szmyrka-Grzebyk

Polska Akademia Nauk, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

prof. dr hab. Artur Terzyk

Uniwersytet Mikołaja Kopernika; Wydział Chemii

prof. dr hab. Marek Tkacz

Instytut Chemii Fizycznej PAN, Zakład Fizykochemii Ciała Stałego

prof. dr hab. Vinh Hung Tran

Polska Akademia Nauk, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

prof. zw. dr hab. inż. Janusz Tadeusz Trawczyński

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Zakład Chemii i Technologii Paliw

prof. zw. dr hab. inż. Andrzej Witold Trochimczuk

Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Wydziałowy Zakład Materiałów Polimerowych i Węglowych

dr hab. Lilianna Trynda-Lemiesz

Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej; Katedra i Zakład Chemii Analitycznej

prof. zw. dr hab. Anna Maria Trzeciak

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Tadeusz Trziszka

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności

prof. dr hab. Ilona Turowska-Tyrk

Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny

dr inż. Maria Tynek

Politechnika Gdańska; Wydział Chemiczny; Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności

dr Katarzyna Elżbieta Wajda-Hermanowicz

Uniwersytet Wrocławski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Monika Ewa Waksmundzka-Hajnos

Uniwersytet Medyczny w Lublinie; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej; Katedra Chemii

prof. dr hab. Maciej Wiśniewski

Politechnika Poznańska; Wydział Technologii Chemicznej; Instytut Technologii i Inżynierii Chemiczne

Prof. dr hab. Ewa Witek

Uniwersytet Jagielloński; Wydział Chemii; Zakład Technologii Chemicznej

prof. dr hab. Krzysztof Wozniak

Uniwersytet Warszawski; Wydział Chemii

prof. dr hab. Zbigniew Krzysztof Wróbel

Polska Akademia Nauk, Instytut Chemii Organicznej

prof. dr hab. Monika Wujec

Uniwersytet Medyczny w Lublinie; Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Analityki Medycznej; Katedra i Zakład Chemii

dr hab. inż. Paweł Zagrodzki

Uniwersytet Jagielloński; Collegium Medicum; Wydział Farmaceutyczny;
Zakład Bromatologii

prof. dr hab. inż. Jan Zawadiak

Politechnika Śląska, Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii

prof. zw. dr hab. inż. Janusz Tadeusz Trawczyński

Politechnika Wrocławska; Wydział Chemiczny; Zakład Chemii i Technologii
Paliw

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

1. Informacje ogólne

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

Dodatkową ofertę Wydawnictwa stanowią dwie odrębne serie, „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz seria „Habilitacje”. W serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” publikowane są dłuższe artykuły przeglądowe lub monografie poświęcone ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii, w ramach serii wydawniczej pod nazwą „Habilitacje” mogą być publikowane prace habilitacyjne z obszaru chemii. Zważywszy, że zgodnie z ustawą, dopuszczalne jest przedstawianie rozpraw habilitacyjnych albo w formie monografii, albo w formie pliku powiązanych publikacji, poprzedzonych omówieniem w języku polskim (tzw. autoreferatem), Redakcja przewiduje drukowanie obydwu tych wariantów. Autorzy, którzy chcieliby takie prace napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją, a następnie przesłać wstępnie przygotowaną publikację (redagowaną na wzór artykułów w czasopiśmie „Wiadomości Chemicznych”) lub informację na temat przygotowywanej pracy – tytuł przygotowywanej publikacji, przybliżoną liczbę stron, tabel, rysunków. W chwili obecnej Redakcja nie posiada środków na finansowanie prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych” oraz serii „Habilitacje”. W zależności od sytuacji finansowej Wydawnictwa, Redakcja zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

„Wiadomości Chemiczne” znajdują się na liście czasopism punktowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Zawartość czasopisma dostępna jest zarówno w formie drukowanej jak i elektronicznej. Elektroniczny dostęp do pełnych tekstów prac jest możliwy poprzez stronę Dolnośląskiej Biblioteki Cyfrowej, <http://www.dbc.wroc.pl/>.

Anglojęzyczne streszczenia wszystkich opublikowanych prac są dostępne na stronie internetowej „Wiadomości Chemicznych”, <http://old.pages.wchuwr.pl/wiadchem.html>.

Czasopismo od wielu lat jest indeksowane/abstraktowane w dwóch bazach danych (Chemical Abstracts oraz AGRO), a od roku 2012 zostały umieszczone w bazie Polskiej Bibliografii Naukowej, <https://pbn.nauka.gov.pl/journals/24384>.

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

- Prace nie były wcześniej publikowane, ani nie są złożone w redakcji innego czasopisma.
- Autorzy prac stosują się do wymagań praw autorskich tzn. w przypadku zamieszczania rysunków, tabel itp., pochodzących z opracowań opublikowanych w innych czasopismach lub publikacjach zwartych, posiadają pisemną zgodę na ich przedruk.
- Opublikowana raz praca bez zgody Redakcji, nie może być wydawana gdzie indziej.
- Autorzy przysyłający prace po raz pierwszy powinni podać swój numer telefonu oraz adresy poczty tradycyjnej i elektronicznej. Jest to niezbędny warunek sprawnego przebiegu opracowania redakcyjnego tekstu.
- Autorzy zobowiązani są do wykonania korekty tekstu. W pracach przyjętych do druku Redakcja ma prawo dokonywania niezbędnej korekty.
- Jeżeli autorzy nie zastrzegą inaczej w momencie zgłoszenia pracy, wydawca nabywa ogólnych praw autorskich do wydrukowanych prac (w tym prawo wydawania na nośnikach elektronicznych oraz w Internecie). Tytułem powyższego wykorzystania utworów autorom nie są wypłacane honoraria.
- Wszystkie nadsyłane prace są poddawane wstępnej ocenie, która określa czy odpowiadają randze i profilowi „Wiadomości Chemicznych” oraz czy zostały przygotowane zgodnie z formalnymi wymogami MNiSW oraz Redakcji.
- Po uzyskaniu pozytywnej wstępnej oceny wszystkie prace są recenzowane przez co najmniej dwóch niezależnych recenzentów, zgodnie ze wskazówkami zawartymi w broszurze informacyjnej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user_upload/ministerstwo/Publikacje/201110216_MNISW_broszura_210x210.pdf.
- O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny.
- Prace, które Komitet Redakcyjny na podstawie uzyskanych recenzji stwierdził, że nie należy przyjąć do druku w czasopiśmie, po uwzględnieniu sugestii recenzentów mogą być powtórnie przesłane do czaso-

pisma. W takim przypadku praca traktowana jest jako nowy tekst i ponownie przechodzi pełną procedurę recenzowania.

- Ponadto Komitet Redakcyjny informuje, że tzw. „ghostwiting” (ktoś wniósł znaczący wkład w powstanie publikacji, a nie został przedstawiony jako współautor lub też nie został wymieniony w podziękowaniu zamieszczonym w publikacji) lub „guest authorship” (udział autora jest znikomy lub też w ogóle nie miał miejsca, a mimo to jest współautorem publikacji) są przejawem nierzetelności naukowej. Wszelkie przejawy nierzetelności naukowej, łamanie i naruszanie zasad etyki obowiązującej w nauce będą ujawniane, włącznie z powiadomieniem jednostek zatrudniających autorów.
- Autorzy mają prawo do zaproponowania co najmniej trzech niezależnych recenzentów, jednak ostateczny wybór anonimowych recenzentów dokonuje Redakcja.

3. Koszty

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

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

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

4. Informacje szczegółowe dotyczące przygotowania maszynopisu do druku

4.1. Wymagania merytoryczne

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

4.2. Wymagania techniczne składu tekstu

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

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Tytuł rozdziału

1.1. Tytuł podrozdziału itp.

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

• **Kolejne strony pracy powinny zawierać:**

- **notki o autorach** pracy wraz z tytułami naukowymi (można dołączyć osobno pliki z fotografiami autorów (zob. **Pliki jakie należy przekazać do Redakcji**),
- **obszerne streszczenie pracy w języku angielskim** (od 1800 do 2700 znaków ze spacjami) z uwzględnieniem cytowanego piśmiennictwa oraz odsyłaczami do tabel, rysunków zamieszczonych w tekście (Rys. 1, Tab. 1-2, Schemat 1) oraz **słowa kluczowe** – nie więcej niż 6, uzyskane najlepiej z bazy hasel przedmiotowych podawane w języku angielskim i polskim,
- **wykaz stosowanych skrótów** – w przypadku niewielkiej liczby skrótów lub akronimów nie jest konieczne zamieszczanie tej pozycji, wówczas, skróty wyjaśniamy w tekście przy pierwszym użyciu. Angielskie skróty należy podać i wyjaśnić wg poniżej podanego wzoru lub w oparciu o inne prace zamieszczone w „Wiadomościach Chemicznych”. Przykład: dla skrótu SSRI – selektywne inhibitory zwrotnego wychwyty serotoniny (ang. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*),
- **dalszy tekst pracy zgodny z podawanym wcześniej spisem treści.**

• **Tabele, rysunki, fotografie**

Jeżeli tabele i rysunki zostały wykonane w edytorze Word, zaleca się, aby były zamieszczone w tekście artykułu, w innym przypadku wymagane jest dołączenie oryginalnych plików.

Tabele i rysunki powinny być przejrzyste, zawierać informacje niezbędne do zrozumienia treści, bez konieczności poszukiwania objaśnień w tekście pracy, należy je numerować cyframi arabskimi oraz podać tytuł (polski/angielski, nad tabelą, pod rysunkiem, Times New Roman, 10 p).

Wszystkie fotografie – należy przesłać w postaci plików zapisanych w formacie tif, jpg lub podobnym, każdą zapisać w oddzielnym pliku o rozdzielczości co najmniej 300 dpi.

• **Piśmiennictwo cytowane**

Piśmiennictwo należy zestawić numerycznie według kolejności cytowania w tekście, należy cytować wyłącznie pozycje istotne dla treści pracy w sposób precyzyjny.

W przypadku **artykułów z czasopism tradycyjnych**, opis powinien zawierać kolejno następujące elementy: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, **numer wolumenu zaznaczony pogrubioną czcionką**, numer pierwszej strony cytowanej pracy, np.

[1] J. Kowalski, Wiad.Chem., 2007, **61**, 473.

[2] W. Kowalski, A. Nowak, Przem. Spoż. 2010, **51**, 3.

W przypadku **książek** najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł książki, nazwę wydawcy, miejsce wydania, rok wydania, np.

[1] J. Malinowski, Tytuł książki, PWN, Warszawa, 2004.

[2] W. Kowalski, Tytuł książki, Volumed, Wrocław, 1999

W przypadku zasobów Internetowych najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł (artykułu) dokumentu online, [dostęp], wydawca, [data dostępu]. Warunki dostępu, np.

[7] J. Kowalski, Tytuł artykułu. [online], wydawca, [dostęp: 2010-05-20]. Dostępny w Internecie:

<http://www.....>

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

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

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

- 1 plik tekstu zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji;
- 1 plik zawierający krótkie notki biograficzne o autorach nadesłanej pracy (każda notka do 150 wyrazów powinna zawierać: tytuł naukowy, miejsce pracy oraz inne ważne informacje o autorze);

- pliki zawierające zdjęcia portretowe autorów, w nazwie powinny wskazywać autora, którego zdjęcie dotyczy (dobrowolne, przesłanie plików jest jednoznaczne ze zgodą na jego opublikowanie);
- 1 plik zawierający: stronę tytułową, streszczenie (abstrakt), słowa kluczowe, podpisy pod rysunki, tabele, schematy (wszystko w obu wersjach językowych); jeśli zachodzi potrzeba to również oddzielne pliki z rysunkami, schematami, tabelami (zob. Tabele, rysunki, fotografie).

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

Na etapie przygotowania szczytki, w przypadku przesyłania prac z kolorowymi stronami prosimy o zaznaczenie, stron które w formie druku mają być czarno-białe. Brak tej czynności może **skutkować wystawieniem faktury za wydruk kolorowych stron**. W przypadku zmian kolorowych rysunków na czarno białe prosimy również o zasygnalizowanie, że w postaci elektronicznej, życzą sobie Państwo wersję w kolorze.

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

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

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

SPIS TREŚCI

Wspomnienie o profesorze Andrzeju Tramerze (1930–2014)	1
Marcin T. KAWCZYŃSKI, Joanna KRECZKO, Zbigniew MAĆKIEWICZ: Peptydy penetrujące – rodzaje i mechanizmy przenikania przez błony komórkowe	9
Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Renata KOŁODZIEJSKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata STUDZIŃSKA, Marcin WRÓBLEWSKI, Beata AUGUSTYŃSKA: Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Reakcje utleniania. Część I.	35
Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Renata KOŁODZIEJSKA, Agnieszka TAFELSKA-KACZMAREK, Renata Studzińska, Marcin Wróblewski, Beata Augustyńska: Enancjoselektywna enzymatyczna desymetryzacja katalizowana oksydoreduktazami. Reakcje utleniania. Część II.	53
Renata KOŁODZIEJSKA, Ewa KOPKOWSKA, Renata STUDZIŃSKA, Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Beata AUGUSTYŃSKA: Rozdzielenie mieszanin racemicznych za pomocą krystalizacji. Część I. Optymalizacja warunków rozdziału	65
Renata KOŁODZIEJSKA, Renata STUDZIŃSKA, Ewa KOPKOWSKA, Aleksandra KARCZMARSKA-WÓDZKA, Beata AUGUSTYŃSKA: Rozdzielenie mieszanin racemicznych za pomocą krystalizacji. Część II. Rozdzielenie racematów z utworzeniem diastereoizomerycznych soli	89
Adrian Krzysztof ANTOSIK, Zbigniew CZECH: Klasyfikacja klejów samoprzylepnych ze względu na proces otrzymywania	111
Justyna LAMPERT, Jarosław POLAŃSKI: Nowe technologie on-line w dydaktyce e-chemii	121
Informacje	147

W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAŻĄ SIĘ:

- Jan KRAJCZEWSKI, Andrzej KUDELSKI: Fotochemiczna synteza nanocząstek srebra i złota
Paweł KUBALCZYK: Zastosowanie elektroforezy kapilarnej do oznaczania aminokwasów tiolowych w próbkach biologicznych
Bartosz SETNER: Znaczniki stosowane w relatywnej i absolutnej kwantyfikacji biocząsteczek metodami spektrometrii mas
Marta MALINOWSKA, Agnieszka HRYNIEWICKA: Karbeny *n*-heterocykliczne – synteza i zastosowanie
Magdalena GRABKOWSKA-DRUŻYC, Dorota G. Piotrowska: C-nukleozydy – synteza i aktywność biologiczna