

Vážení čtenáři,

vedoucí redaktor *Chemických listů* se nedávno na mne obrátil se zajímavou myšlenkou bližší spolupráce mezi našimi časopisy. Proto se v tomto úvodníku na vás obrací reprezentant tzv. fyzikální obce. Hned na začátku bych se ale rád zamyslel nad tím, zda je třeba vést dělicí čáru mezi jednotlivými obory snažícími se pochopit děje v přírodě a smysl jejich fungování? Tradiční dělení přírodních věd na matematiku, fyziku, chemii, biologii se v dnešní době stále více stírá a pomalu se stává jen umělou klasifikací. V základech chemie stojí kvantová fyzika, fyzikové se stále více zajímají o složité struktury a biologické systémy a materiály, znalosti chemie jsou nezbytné v moderních technologiích. Zvláště je tento trend vidět v nanotechnologiích, jejichž význam se odráží také v mimořádné podpoře všech významných grantových agentur po celém světě. Studium vlastností a technologie přípravy materiálů, jejichž prostorová struktura je kontrolována s přesností řádu nanometrů, si bez důkladných znalostí chemie a fyziky nedokážeme představit. Přitom se v tomto oboru před námi vynořily nové otázky, které v tradiční fyzice neexistovaly. To bylo dáno rychlým rozvojem technologie přípravy nanostruktur, která je velmi náročná na dokonalost systémů v malém měřítku, doslova vyžaduje manipulaci s klastry atomů a molekul, či dokonce se samotnými atomy. Otevřely se před námi možnosti experimentální fyziky studovat vlastnosti struktur na atomární úrovni a s rozvojem možností výpočetní techniky i možnosti teoretického studia nových materiálů. Nanostruktury jsou příliš malé na aplikaci metod známých ze studia pevných látek, na druhé straně jsou příliš velké pro uplatnění znalostí z atomární fyziky. Právě takové rozměry struktur na mezoskopické úrovni přináší unikátní fyzikální i chemické vlastnosti a nanotechnologie tak poskytují nové magnetické materiály, elektronické a optoelektronické prvky, nové přístroje, které jsou, vzhledem ke svým molekulárním rozměrům, schopny pracovat např. v živých tkáních. Nanostruktury, jako kvantové jámy, supermřížky, kvantové tečky a kvanto-

vé dráty již našly uplatnění v řadě aplikací, např. laserových diodách, vysokofrekvenčních tranzistorech, detektorech infračerveného záření, ultrarychlých senzorech ap. Podněty k rozvoji nanotechnologií přicházely hlavně z elektrotechnického průmyslu, kde menší rozměr součástek znamená větší rychlost, větší paměť počítačů a menší spotřebu energie. Dosavadní fyzikální technologie však nejsou schopny kontrolovat s přesností nanometrů design součástek ve velkých sériích, s dobrou reprodukcí procesů a stálostí struktur. Na druhé straně existuje ale metoda umožňující vytvářet obrovské množství objektů s atomární přesností. Takovou metodou je chemická syntéza. V oblasti nanotechnologií existují tak dva základní přístupy, tzv. metoda „bottom-up“, charakteristická výlučně pro chemické postupy a metoda „top-down“, typická pro fyzikální přístup. S rozvojem technologií se postupně tyto metody začínají překrývat a spolupráce chemiků, fyziků i biologů je nezbytná.

Zmínil jsem se zde hlavně o spolupráci vědců z různých oblastí přírodních věd v moderním oboru nanotechnologií. Existuje ale samozřejmě daleko více oblastí, kde tato spolupráce je nezbytná a přirozeně probíhá dlouhou dobu. Díky nárůstu výpočetních možností se teoretičtí fyzikové začaly zabývat například složitými látkami a biologickými materiály, či jejich funkcemi. Rychlé počítače umožnily rozvoj nového oboru zvaného modeling materiálů, kdy se modelují materiály požadovaných vlastností. Zajímavé je studium samoregulačních procesů, které vedou na předem zadané struktury. Tím se opět otevřela cesta k materiálům unikátních vlastností a k pochopení funkcí živé hmoty.

Věřím, že započatá spolupráce fyziků a chemiků bude úspěšně pokračovat, nejen na poli vědy, kde je samozřejmá, ale i mezi našimi časopisy.

Zdeněk Chvoj
vedoucí redaktor
Československého časopisu pro fyziku

BIOSYNTÉZA, SEKRECE A DEGRADACE INSULINU

LENKA ŽÁKOVÁ a JIŘÍ JIRÁČEK

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
jiracek@uochb.cas.cz

Došlo 31.3.05, přijato 2.5.05.

Klíčová slova : insulin, biosyntéza, regulace, degradace

Obsah

1. Úvod
2. Biosyntéza insulinu
3. Genová regulace
4. Regulace sekrece
5. Degradace insulinu
6. Závěr

1. Úvod

Insulin je globulární protein o relativní molekulové hmotnosti cca 6000 Da, který se skládá ze dvou polypeptidových řetězců A a B stabilizovaných dvěma interchinárními disulfidickými můstky. Třetí intrachinární disulfidický můstek je v řetězci A. Interchinární disulfidické můstky se nacházejí mezi cysteiny A7 a B7 a mezi A20 a B19, intrachinární disulfidický můstek spojuje cysteiny A6 a A11 (obr. 1). Řetězec A má spíše kyselý charakter a je tvořen 21 aminokyselinami, řetězec B je naopak spíše bazický a tvoří jej 30 aminokyselin. Insulin produkovaný β -buňkami pankreatu je jedním z klíčových hormonů organismu a ovlivňuje řadu důležitých metabolických pochodů, přičemž mezi nejdůležitější patří regulace vstupu molekul glukosy do buňky. Porucha insulinové sekrece či působení insulinu je spojeno se závažnými klinickými projevy – nejčastěji s onemocněním diabetes mellitus 1. a 2. typu.

Primární struktura byla vyřešena v první polovině 50. let (cit.^{1,2}), sekundární a terciární struktura byla určena na konci šedesátých let^{3,4}. Charakteristická, evolučně velmi konzervovaná terciární struktura insulinu, vytvořená během biosyntézy a formování molekuly, je klíčová pro jeho biologickou aktivitu. Při studiu biosyntézy se zjistilo, že insulin vzniká z jednořetězcového prekurzoru, ve kterém se vysoce efektivním způsobem vytváří správné propojení disulfidických můstků, a tím i pozdější terciární struktura hormonu⁵. Později bylo prokázáno, že model jednořetězcového prekurzoru je společný i pro mnoho dalších peptidových hormonů a neuropeptidů⁶. Příkladem může být proopiomelanokortin (POMC), ze kterého vzniká několik biologicky aktivních peptidů⁷.

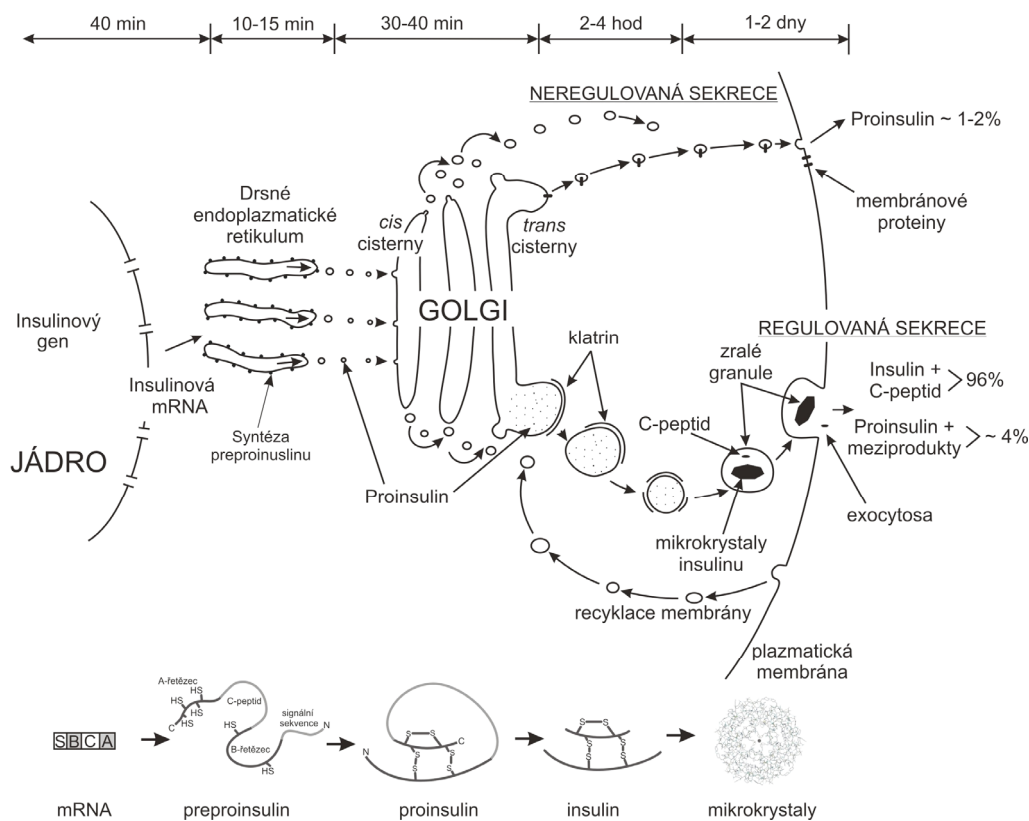
2. Biosyntéza insulinu

Insulin je syntetizován v β -buňkách Langerhansových ostrůvků pankreatu. β -Buňky, stejně jako všechny buňky secernující proteiny, obsahují drsné endoplasmatické retikulum a tvoří vezikuly (váčky) určené pro skladování proteinů. β -Buňky mají ještě jeden důležitý rys – u téměř všech živočichů jsou tyto buňky velice bohaté na zinek a vápník.

Biosyntéza insulinu (obr. 2) začíná na ribozomech drsného endoplasmatického retikula (RER), kde dochází k translaci preproinsulinu. Preproinsulin je prvotním prekurzorem insulinu, je to 12 kDa velká jednořetězcová molekula, která se skládá z 9 kDa proinsulinu, kterému na *N*-konci předchází 24 aminokyselin dlouhá tzv. signální sekvence⁸ (obr. 1). Signální sekvence usnadňuje transfer vznikajícího peptidu přes dvojvrstvou membránu do lumen endoplasmatického retikula. V signální sekvenci je množství hydrofobních aminokyselin, které jsou zapojeny do řady molekulárních interakcí nutných k této translokaci. Během translokace nebo těsně po ní dochází k odštěpení signální sekvence signální peptidasou, specifickou membránovou proteasou umístěnou na vnitřní straně RER (cit.⁹). Signální sekvence je následně v RER rychle degradována. Vzniklý proinsulin je pro další zpracování transportován v membránových váčcích, které protein chrání před cytoplasmatickým prostředím buňky směrem k cisternám Golgiho aparátu (GA).

Proinsulin se skládá ze tří částí; *N*-terminální část začíná *N*-koncem B-řetězce insulinu, následuje tzv. C-peptid obsahující 26–31 aminokyselin a molekula končí A-řetězcem insulinu. Savčí proinsulin má od 78 (psi) do 86 (lidský, koňský, potkaní) aminokyselin. Rozdíl ve velikosti je vždy způsoben délkou vmezeřeného C-peptidu¹⁰. Teoreticky není nutné, aby délka vmezeřeného C-peptidu byla 26–31 aminokyselin. Z výzkumů vyplývá, že pro správnou terciární strukturu proinsulinu a tudíž i insulinu je zapotřebí minimální délka spojovacího peptidu 5–8 aminokyselin¹¹. C-Peptid, který je společně s insulinem vylučován do krevního řečiště v ekvivalentním množství, má na rozdíl od obou dosti konzervovaných řetězců insulinu velkou variabilitu v aminokyselinovém složení. To naznačuje, že C-peptid nemá pravděpodobně žádnou fyziologickou funkci vně pankreatu, i když se o této otázce stále vedou diskuze¹².

Po translokaci a odštěpení signálního peptidu se molekula proinsulinu spontánně rychle složí do správné konformace a vytvoří disulfidické můstky, a tak se utvoří správná terciární struktura molekuly, která je transportována do GA pro další zpracování. Proinsulin je transportován v malých membránových váčcích z *cis* cistern do *trans* cistern GA, kde se proinsulin koncentruje v sekrečních granulích pučících z GA. Golgiho aparát hraje nezbytnou



Obr. 2. Biosyntéza a sekrece insulinu v β -buňkách pankreatu; v horní části obrázku je znázorněna časová závislost a v dolní části schéma biosyntézy od mRNA po mikrokrystaly hexamerního insulinu (upraveno podle^{33,85})

snaha o úplnou konverzi hexamerního proinsulinu v insulin. Hotový insulin na rozdíl od proinsulinu krystalizuje, a to pomáhá výborné efektivitě konverze, která je až 95 % (cit.¹⁹). Tato teorie ovšem nebyla zatím ověřena²⁶.

Všechny známé proinsuliny mají pár bazických aminokyselin spojujících C-peptid s řetězcem insulinu²⁷. C-Konec B-řetězce a N-konec C-peptidu spojuje nejčastěji dipeptid Arg-Arg a C-konec C-peptidu s N-koncem A-řetězce spojuje dipeptid Lys-Arg. K vyštěpení C-peptidu a konečné konverzi proinsulinu na insulin je zapotřebí dvou enzymů²⁸. Jedním z nich je endopeptidasa se specifitou podobnou trypsinu, tzv. „trypsin-like“ enzym, který štěpí proinsulin za páry bazických aminokyselin, tj. u lidského proinsulinu za Arg32 a za Arg65 (obr. 1). Druhým enzymem je exopeptidasa se specifitou podobnou karboxypeptidase B, tzv. „karboxypeptidase B-like“ enzym, která odstraňuje z C-konce B-řetězce a C-konce C-peptidu dvě bazické aminokyseliny, v případě konverze lidského proinsulinu aminokyseliny Arg31, Arg32 a Lys64, Arg65 (cit.²⁵). Tato exopeptidasa byla původně objevena v několika neuroendokrinních tkáních, a proto může nést i označení karboxypeptidasa H²⁹, enkefalin konvertasa, či více užívané karboxypeptidasa E (CPE)³⁰.

Během konverze proinsulinu na insulin se vytvářejí dva meziproducty, a to proinsulin s vyštěpeným aminoky-

selinami Arg31 a Arg32 (des-31,32-proinsulin) nebo proinsulin s vyštěpenými aminokyselinami Lys64 a Arg65 (des-64,65-proinsulin) (obr. 1), přičemž poměr obou meziproductů je 60–70 % des-64,65-proinsulinu a 30–40 % des-31,32-proinsulinu³¹. K transportu proinsulinu z RER, přes GA až do sekrečních granulí je zapotřebí energie, ale vlastní proteolytická konverze proinsulinu na insulin je děj nezávislý na dodané energii³².

V prostředí sekrečních granulí jsou hexamery insulinu velice stálé. Jestliže jsou ale vyplaveny do krevního řečiště, musí insulin přejít z pH okolo 5,5 (sekreční granule) do pH 7,4 (krev). V hexameru je šest glutamových kyselin v pozici B13 koordinováno okolo centra hexameru a pomáhají vzájemnými interakcemi udržovat jeho stabilitu, která je největší okolo pH 6. V krvi jsou tyto interakce nestabilní, protože dochází k deprotonaci karboxylu, a tím k ztrátě koordinace okolo zinečnatých iontů. To způsobí rozpad krystalů v krevním séru¹⁹.

Insulin je secernován z β -buňek pankreatu exocytosou. Při tomto procesu zralé granule migrují k vnější membráně podél mikrotubulární sítě uvnitř buněk. V blízkosti buněčné membrány se mikrotubuly spojují s mikrofilamenty, jež bezprostředně přiléhají k buněčné membráně. Jakmile sekreční granule doputují k buněčné membráně, dojde k splynutí jejich membrán a dojde k vylití obsa-

hu granulí ven z buňky. Exocytosa je děj závislý na energii a je řízena zejména hladinou glukosy v krvi.

Malé množství proinsulinu, okolo 1–2 %, je uvolněno z β -buněk tzv. neregulovanou sekrecí, tj. proinsulin uvolňovaný v malých váčcích vytvořených v různých částech Golgiho aparátu (obr. 2).

Ačkoliv insulin i jeho prekurzor proinsulin mají různé veliké molekuly, jsou si podobné v mnoha vlastnostech, jako jsou schopnost agregace, isoelektrický bod, rozpustnost či schopnost reakce s protilátkami proti insulinu³³. Biologický poločas proinsulinu je okolo 20 min, insulinu okolo 5 min (cit.³⁴). Přes podobné vlastnosti je biologická aktivita proinsulinu velice nízká, 3–5 % biologické aktivity insulinu. Takto nízká aktivita je způsobena tím, že vmezeřený C-peptid zabráňuje insulinu přejít do své aktivní konformace, která vyžaduje vysokou flexibilitu C-konce B-řetězce a jeho oddálení od N-konce A-řetězce³⁵. N-Konec A-řetězce, který je v proinsulinu vzdálen od C-konce B-řetězce pouze 8 Å tak nemá možnost reagovat s insulinovým receptorem a spustit tak kaskádu signalizačních dějů vedoucích ke vstupu molekul glukosy do nitra insulinsensitivní buňky. Přehledný článek o problematice interakce insulinu s jeho receptorem jsme publikovali v tomto časopise v roce 2002 (cit.³⁶).

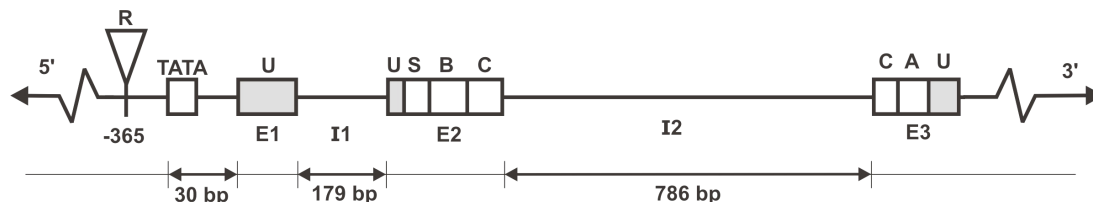
3. Genová regulace

Transkripce insulinového genu v β -buněk pankreatu je regulována specifickými variabilními sekvencemi DNA lokalizovanými na 5' konci genu. Rozpoznáním těchto specifických DNA úseků proteinovými faktory přítomnými pouze v β -buněk pankreatu se spustí selektivní transkripce genu.

Insulinový gen byl poprvé charakterizován v roce 1977 (cit.³⁷). Od té doby byly charakterizovány insulinové geny různých živočišných druhů. Většina živočišných druhů má pouze jednu kopii genu pro insulin^{37,38}, obsahující 3 exony oddělené 2 introny (obr. 3). Potkani a myši mají dva různé geny pro insulin, jež jsou si, vyjma chybějícího druhého intronu u jednoho z nich, podobné. U myši jsou oba geny lokalizované na dvou chromosomech, kdežto potkan má oba geny na jednom chromosome vzdálené od sebe přibližně 100 000 kb (cit.³⁹). Lidský insulinový gen je

umístěn na krátkém raménku chromozomu 11 v regionu p15 (cit.⁴⁰), je veliký asi 19 kb a obsahuje 1430 párů bází (bp). Genu pro insulin na chromosome předchází gen kódující tyrosinhydroxylasu ve vzdálenosti 2,7 kb a za ním ve vzdálenosti 1,6 kb následuje gen kódující insulin-like growth faktor II (IGF-II)⁴¹.

Sekvenční porovnání mezi různými geny kódujícími insulin u obratlovců ukazuje, že mutace vedoucí k aminokyselinové substituci jsou mnohem méně časté u oblastí kódujících A a B řetězec než u oblastí kódující C-peptid a signální sekvenci. Ačkoliv introny, které obsahuje insulinový gen, mají různou sekvenci a délku, která může být od 119 bp (morče a potkan – intron 1) až po více než 3500 bp (kuře – intron 2), umístění obou intronů je vysoce konzervováno. Intron 1 je umístěn v 5' ne-translatované části a intron 2 rozděluje sekvenci kódující aminokyseliny 6 a 7 v C-peptidu. Sekvence promotoru je lokalizovaná 22–24 bp před transkripčním startem a terminační signál je umístěn 20 nukleotidů před poly(A)-koncem mRNA. Gen pro lidský insulin má několik vlastností, které insulinové geny ostatních živočichů nemají. Jednou z těchto vlastností je unikátní repetitivní sekvence umístěná na 5' konci v pozici –365 sestávající se z různého počtu opakování 14–15 bp, které sice nemají vliv na expresi genu, ale mohou být užitečným ukazatelem pro genetické analýzy⁴². Dřívější studie porovnávaly přítomnost většího (třída 3) nebo menšího počtu (třídy 1 a 2) těchto opakování v souvislosti s výskytem diabetu a aterosklerózy. Ukázalo se, že lidé s alelami třídy 1 mají mnohem větší sklon k onemocnění diabetem typu I, a proto může tento úsek být důležitým genetickým příznakem u rizikových pacientů⁴³. V průběhu let bylo identifikováno několik genetických mutací lidského genu pro insulin. Jedná se o neaktivní insuliny, které byly vždy nazvány podle místa nálezu těchto mutantů, a to insulin Los Angeles, insulin Chicago a insulin Wakayama⁴⁴. Jedná se vždy o záměnu jedné aminokyseliny, v případě insulinu Chicago je to záměna PheB25 → LeuB25, v případě insulinu Los Angeles PheB24 → SerB24 a v případě insulinu Wakayama je to záměna ValA3 za LeuA3. Nízká biologická aktivita těchto mutantů je způsobena tím, že všechny substituce jsou v pozicích, které jsou přímo zodpovědné za vazbu insulinu na jeho receptor.



Obr. 3. **Struktura lidského insulinového genu** (upraveno podle⁴⁴); gen obsahuje 3 exony E1–E3 a dva introny I1 a I2. Trojúhelníkem s označením R je na 5' konci označeno umístění unikátní repetitivní sekvence 14–15 opakování. U je označení pro ne-translatovanou část genu, S označuje sekvenci kódující signální sekvenci, B a A části kódující insulinové řetězce a C část kódující C-peptid

4. Regulace sekrece

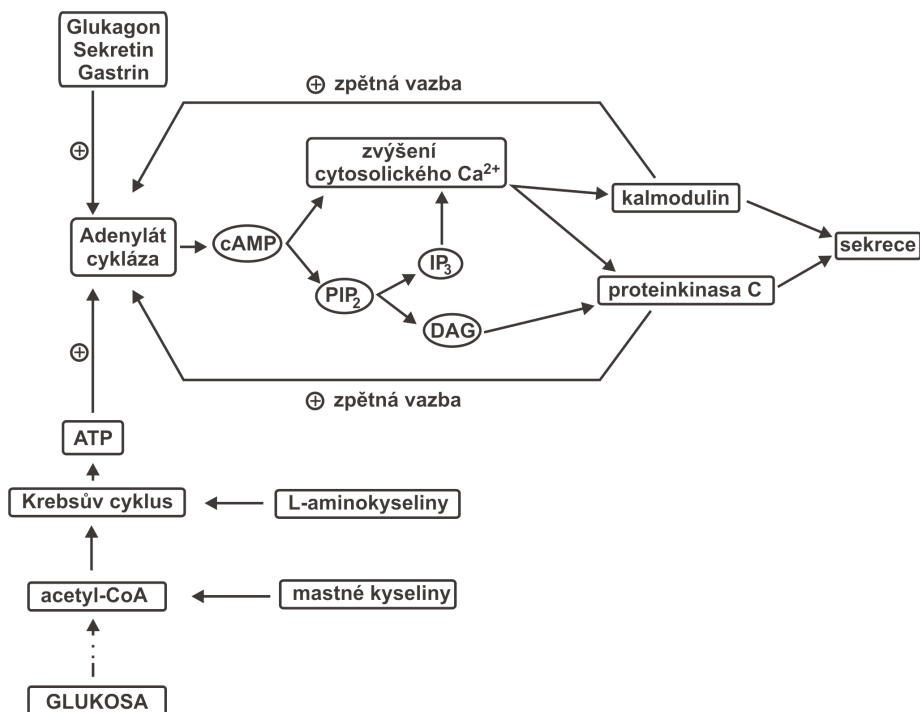
Regulace skladování a sekrece insulinu v β -buňkách pankreatu je velice důležitá pro zachování normální homeostasy v organismu. Sekrece insulinu je regulována hlavně koncentrací D-glukosy v intestinální tekutině obklopující buňky Langerhansových ostrůvků. Nejen hladina glukosy v krvi ovšem kontroluje celé hospodaření organismu s insulinem. Jde o spletitý mechanismus, ve kterém mají významnou roli i jiné živiny přijaté potravou a také některé hormony a neurotransmitery⁴⁵.

Aktivátorem pro biosyntézu insulinu je nejen glukosa, ale i některé L-aminokyseliny, mastné kyseliny a ketonové látky. Všechny tyto látky ovšem podněcují sekreci pouze v přítomnosti glukosy. Typickou odpovědí na maximální fyziologický podnět je sekrece insulinu ve dvou fázích. První fáze sekrece nastupuje během 4–6 min, je silná a rychle opadá. Za touto fází nastupuje druhá fáze, kde sekrece insulinu pomalu roste a trvá i několik desítek minut do doby, než se ustálí hladina glukosy v krvi⁴⁶.

Na fyziologický stimul reagují β -buňky složitým mechanismem, při kterém hrají významnou roli vápenaté ionty, cyklické AMP a řada vnitrobuněčných proteinů (obr. 4). Normální koncentrace glukosy v krvi je okolo 5 mmol l^{-1} . Na zvýšenou hladinu glukosy nebo jiný fyziologický podnět reagují β -buňky zvýšením koncentrace vápenatých iontů v cytosolu. To je jeden z klíčových kroků pro následné uvolnění insulinu⁴⁷. Bez přítomnosti ex-

tracelulárního Ca^{2+} není sekrece insulinu z β -buněk možná. Zvýšení koncentrace vnitrobuněčných Ca^{2+} iontů jejich transportem z extracelulárního prostoru dovnitř buňky vyvolává zvýšení poměru ATP/ADP uvnitř buňky. Toto zvýšení poměru ATP/ADP podnítl uzavření membránových K^+ kanálů závislých na ATP a to následně sníží odtok K^+ iontů z buňky. To způsobí depolarizaci plasmatické membrány, která vede k otevření kanálů pro Ca^{2+} . Zvýšení koncentrace Ca^{2+} iontů v cytosolu vede přes aktivace různých proteinkinasy ke kontrakcím mikrotubulární a mikrofilamentové buněčné soustavy, která mechanismem podobným svalové kontrakci traslokuje sekreční granule k místům exocytózy na buněčné membráně⁴⁸. Nastolení původního stavu je docíleno jednak ATPasou citlivou na kalmodulin a jednak působením transportního systému Na^+ - Ca^{2+} iontů. Aktivita cytosolického Ca^{2+} může také přímo nebo prostřednictvím kalmodulinu participovat na aktivaci dalších buněčných systémů, jako Ca-ATPasy, adenylátcyklasy, fosfodiesterasy, proteinkinasy C a fosfolipasy C.

S hospodařením s Ca^{2+} uvnitř buňky úzce souvisí systém jiného druhého posla, a to cAMP. Cyklické AMP hraje v regulaci sekrece insulinu důležitou roli, nicméně jeho hladina není v tomto mechanismu klíčovým faktorem. Bylo prokázáno, že cAMP působí na uvolňování insulinu do krve, ale pouze v přítomnosti vyšších koncentrací krevní glukosy. Jiné látky zvyšující hladinu cAMP, jako jsou např. forskolin, kofein nebo theofylin nejsou bez přítomnosti vyšší hladiny krevní glukosy schopny ovlivnit uvolnění insulinu⁴⁹.



Obr. 4. Schématické znázornění nejdůležitějších regulačních drah insulinové sekrece

Mechanismus, jakým cAMP působí, byl dlouho nejasný, ale nakonec se prokázalo, že cAMP ovlivňuje hlavně tok vápenatých iontů. Zvýšená hladina cAMP zvýší vtok Ca^{2+} iontů dovnitř buňky a také cAMP ovlivňuje distribuci Ca^{2+} iontů uvnitř buňky ve prospěch jejich akumulace v cytosolu. Vtok vápenatých iontů do buněk iniciuje jednak fosforylaci proteinů a jednak přímo ovlivňuje K^+ kanály, což vede k depolarizaci membrány, jak bylo diskutováno výše. Role cAMP je tedy hlavně v ovlivňování koncentrace vápenatých iontů uvnitř buňky tak, aby tyto ionty umožnily sekreci insulinu do krevního řečiště.

Hladina cAMP je regulována enzymy adenylátcyklasou a fosfodiesterasou. Adenylátcyklasa, lokalizovaná na plasmatické membráně, je aktivována některými hormony, mezi jinými také antagonistou insulinu glukagonem. Je také aktivována kalmodulinem, který v tomto mechanismu hraje pozitivní zpětnou vazbu po aktivaci Ca^{2+} ionty (obr. 4). Při velmi vysokých koncentracích Ca^{2+} iontů kalmodulin naopak zvyšuje aktivitu fosfodiesterasy, která inhibuje cAMP. Vápenaté ionty tedy ovlivňují hladinu cAMP, kdy jejich vyšší koncentrace prostřednictvím kalmodulinu zvyšují hladinu cAMP a naopak velmi vysoké koncentrace hladinu cAMP snižují⁴⁵.

Adenylátcyklásový systém je úzce spjat s fosfoinositolovou kaskádou. Je již dobře známo, že některé složky potravy jsou schopny aktivovat fosfolipasu C, membránový enzym, který hydrolyzuje fosfoinositol-4,5-bisfosfát (PIP_2) na fosfoinositol-1,4,5-trifosfát (IP_3) a diacylglycerol (DAG). Ve vodě rozpustný IP_3 , jako druhý posel difunduje k ER, z něhož uvolní do cytoplazmy Ca^{2+} . Méně polární DAG, který zůstane v plasmatické membráně, působí jako druhý posel na proteinkinasu C, která fosforyluje celou řadu různých proteinů, a tím mění jejich aktivitu⁴⁵. Uvažuje se, že zatímco systém Ca^{2+} iontů jako spouštěčů insulinové sekrece je zodpovědný za první fázi insulinové sekrece, tak fosfoinositolový systém ovlivňuje její druhou fázi⁴⁵. Jakákoliv porucha v jednotlivých kaskádách těchto kontrolních mechanismů se může podílet na vzniku diabetu či jiného závažného onemocnění.

Během glykolýzy a Krebsova cyklu mohou do děje vstupovat a zvyšovat tvorbu ATP i mastné kyseliny a L-aminokyseliny (např. leucin), a tím následně cestou aktivace adenylátcyklasy ovlivňovat vzestup intracelulárního Ca^{2+} (cit.⁵⁰) (obr. 4).

Glukosa také mimo jiné přímo stimuluje biosyntézu insulinu podněcením translace mRNA⁵¹. Insulinová mRNA je normálně velmi stabilní, s biologickým poločasem okolo 30 h. Zvýšení hladiny krevní glukosy zvyšuje její poločas přibližně třikrát, a to společně s vystupňováním transkripce má za následek zvýšení hladiny mRNA na dobu 48–72 h. Tento mechanismus vysoce navýší produkci insulinu⁵² a je schopen reagovat na zvýšenou hladinu glukosy v rozmezí minut, přičemž důsledky této stimulace trvají několik hodin.

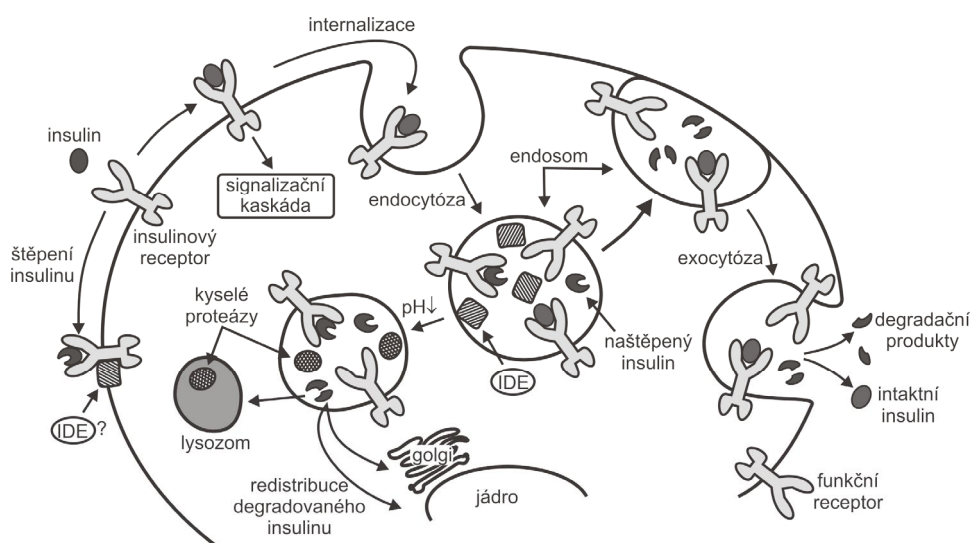
5. Degradace insulinu

Degradace insulinu je velmi složitý proces. Insulin, jak už bylo řečeno, má v krevní plazmě velmi krátký biologický poločas, který se pohybuje mezi 4–6 minutami. Takto krátký biologický poločas je důležitý pro velmi pohotovou regulaci hladiny krevní glukosy.

Asi před 50 lety bylo poukázáno na existenci enzymu s vysokou specifitou k degradaci insulinu. Byl nazván insulinasa⁵³. Později byla ale existence insulinasy zpochybněna a prokázalo se, že jde o směs různých proteolytických enzymů. Později se ukázalo, že za majoritní degradaci insulinu je pravděpodobně zodpovědná pouze jediná proteasa, která může insulin štěpit bez nutnosti rozštěpení disulfidických můstků. Tento enzym se vyskytuje v mnoha tkáních⁵⁴ a za léta výzkumu v různých laboratořích dostal mnoho názvů od insulinasy, přes insulysin až po insulin proteasu (IP)^{55,56}. Na konci 80. let se název ustálil na insulin degradujícím enzymu, se zkratkou IDE. Jedná se o metaloproteasu se Zn^{2+} v aktivním místě⁵⁷. Insulin je substrát IDE s nejvyšší afinitou ($K_m \sim 20$ nM), IDE ale může štěpit i mnoho jiných peptidů a proteinů, jako např. glukagon⁵⁸, ANP (atrial natriuretic peptide)⁵⁹ a IGF-II (insulin-like growth factor II)⁶⁰. IDE štěpí široké spektrum proteinů podobné velikosti a pro proteolýzu nevyžaduje specifickou aminokyselinovou sekvenci⁵⁸. Předpokládá se, že IDE rozeznává specifickou terciární strukturu proteinů, tzn. že váže a degraduje pouze proteiny s vhodným prostorovým uspořádáním aminokyselin^{61,62}. Plocha kontaktu IDE se substrátem je poměrně velká a zahrnuje značné množství interakcí. Tento enzym váže také IGF-I (insulin-like growth factor I), proinsulin, EGF (epidermal growth factor) s relativně vysokou afinitou, ale má velice nízkou schopnost tyto proteiny štěpit⁶³. IDE byl identifikován v peroxisomech, v cytosolu⁶³, v endosomech a částečně i na plasmatické membráně buněk⁶⁴.

Druhým enzymem, který pravděpodobně hraje důležitou roli v insulinové degradaci je glutathion insulin transhydrogenasa (GIT)⁶⁵, dnes nazývaná proteinová disulfidová isomerasa (PDI)⁶⁶. Uplatnění tohoto enzymu v degradaci insulinu je stále diskutabilní⁶⁷. Primární role PDI je při syntéze proteinů obsahujících disulfidové vazby. V endoplasmatickém retikulu PDI jako chaperon pomáhá těmto proteinům vytvořit správné disulfidové můstky a tím zaujmout správnou terciární strukturu⁶⁸. V případě insulinu se naopak předpokládá, že PDI redukuje disulfidické můstky částečně proteolyticky štěpeného insulinu.

Primární místo insulinové degradace je v játrech, kde se metabolizuje přibližně 80 % cirkulujícího insulinu. Množství metabolizovaného insulinu je variabilní na aktuálních fyziologických či patofyziologických podmínkách. Druhé nejvýznamnější místo insulinové degradace jsou ledviny. Ty odbourávají téměř 50 % insulinu cirkulujícího v periferním oběhu. Nadto ledviny odbourávají okolo 50 % cirkulujícího proinsulinu a 70 % C-peptidu mechanismem



Obr. 5. Schéma degradace insulínu

glomerulární filtrace⁶⁹. Třetí nejdůležitější tkáň pro vazbu a odbourávání je sval. K degradaci insulínu dochází i v adipocytech, fibroblastech nebo lymfocytech^{70–72}. Některé tkáňe mají schopnost nejen vázat a degradovat insulín, ale i uvolňovat ho intaktní zpět do cirkulace⁷³.

Prvním krokem degradace insulínu je vazba hormonu na insulínový receptor umístěný na buněčné membráně⁷⁴ (obr. 5). Tato vazba spustí buněčnou odpověď, kterou je kaskáda signálních dějů, jejichž hlavním důsledkem je vstup molekul glukózy do nitra buňky. Tato vazba také spustí degrační proces insulínu. Insulínový receptor sám o sobě insulín nedegraduje, ale vystavuje ho působení IDE. Insulín se degraduje v naprosté většině případů navázaný na receptor. Podstatná část insulínu se degraduje po internalizaci insulínového receptoru s navázaným insulínem intracelulárně v endosomech. Ještě před internalizací se malá část navázaného insulínu zcela nebo částečně degraduje přímo na plasmatické membráně pravděpodobně také za přispění IDE, pro kterou je insulín navázaný na receptor výborným substrátem⁷⁵. Určitá část insulínu se i z vnitřku buňky vrací nedotčená nebo částečně degradovaná zpět do krevního oběhu. Takovýto insulín se může znovu vázat na svůj receptor a ovlivňovat metabolismus glukózy⁷⁶.

Po internalizaci insulínového receptoru s navázaným hormonem začíná degradace insulínu v endosomech. Internalizace je jednou z vlastností insulínového receptoru. Ten má v blízkosti membrány oblast nazvanou NPEY podle aminokyselinové sekvence, která je součástí všech internalizujících se receptorů. Přes přítomnost uvedené sekvence je hlavním požadavkem pro internalizaci fosforylace tyrosinových zbytků v intracelulární části receptoru⁷⁷. Ačkoliv se dříve předpokládalo, že se internalizovaný insulín začíná degradovat po spojení endosomů s lysosomy, je nyní známo, že proces degradace začíná už v raných stádiích

tvorby endosomů⁷⁸. Po vytvoření endosomů dojde v jejich nitru působením protonových pump k rychlému okyselení prostředí, což způsobí disociaci insulínu z receptoru. Degrační proces ale začíná už před okyselením endosomů působením IDE, která je v endosomech přítomna a vyžaduje neutrální prostředí⁷⁹. Po okyselení se na degradaci začínají podílet kyselé proteázy⁸⁰. V endosomech je odbouráno nejvýše 50 % insulínu⁸¹. Zbýlý insulín je transportován do jiných částí buňky, včetně jádra, cytosolu nebo lysosomů. Mechanismus, jakým insulín přechází do jiných buněčných organel, není znám, nicméně je i tento proces spojený s vnitrobuněčným působením IDE (cit.⁷³).

Kyselé proteázy jsou pro úplnou degradaci insulínu nezbytné. V kyselém prostředí ($\text{pH} \leq 6$) IDE ztrácí svou proteolytickou aktivitu a právě kyselé proteázy, které jsou aktivní po okyselení endosomů a jsou přítomny také v lysosomech, dokončují odbourání částečně naštěpeného insulínu. Mezi tyto proteázy patří tzv. endosomální kyselá insulínasa (EAI), o níž se předpokládá, že má na degradaci insulínu velký podíl^{63,80,82,83}.

Místa insulínu primárně štěpená IDE už byla identifikována a jelikož IDE rozeznává insulín podle jeho terciární struktury, je většina štěpených míst na povrchu molekuly. Na počátku dochází pravděpodobně ke štěpení vazeb AlaB14–LeuB15, PheB24–PheB25 a PheB25–TyrB26. Dalšími štěpenými vazbami jsou SerB9–HisB10, HisB10–LeuB11, GluB13–AlaB14 a TyrB16–LeuB17. Poté dochází k redukci disulfidových vazeb, pravděpodobně enzymem PDI. Tím vznikne neporušený A-řetězec a několik fragmentů B-řetězce^{81,84}. Téměř současně dochází ke štěpení A-řetězce mezi LeuA13 a TyrA14. Tato místa štěpení odpovídají specifitě metaloproteas pro velké alifatické nebo nepolární aminokyseliny.

V parenchymatických buňkách jater byla v endosomech prokázána vysoká aktivita EAI, jež může v těchto

buňkách působit místo IDE. I když jde o enzym, který není IDE příbuzný, není metaloproteasa a má pH optimum 4–4,5, místa štěpení jsou téměř identická s IDE (cit.⁸²). EAI je některými autory ztotožňována s katepsinem D (cit.⁸³). Insulinové fragmenty, ať už vzniklé působením IDE či kyselých proteas, jsou dále štěpeny různými proteolytickými systémy včetně lysosomů.

Dlouhou dobu byla diskutována role lysosomů v degradaci insulinu. Ačkoliv byly v lysosomech prokázány degradační produkty insulinu, soudilo se, že lysosomy nehrají v degradaci téměř žádnou roli. Je pravděpodobné, že částečně degradovaný insulin může být posléze v lysosomech dokonale rozštěpen⁷³.

Abnormality v odbourávání a degradaci insulinu se odrážejí v různých patologických stavech, mezi něž patří např. diabetes 2. typu nebo obezita.

Bohužel, dodnes neexistují vysoce selektivní inhibitory IDE ani EAI (katepsinu D). Jejich použití *in vivo* by umožnilo další zajímavý výzkum role degradujících enzymů v metabolismu insulinu na hladinu glukosy v krvi a nelze vyloučit jejich případné terapeutické využití.

6. Závěr

Uplynulo již více než 80 let od objevu insulinu a jeho podání prvním pacientovi. V průběhu následujících desetiletí byla vyřešena struktura insulinu a připraveno několik analogů používaných dnes v klinické praxi. Bylo rovněž dosaženo významných objevů týkajících se mechanismu působení insulinu, jeho interakce s receptorem a následných vnitrobuněčných dějů vedoucích ke vstupu glukosy do buňky. Přes všechny tyto objevy a úspěchy stále představuje diabetes mellitus jednu z nejvýznamnějších civilizačních chorob, která je spojena s vysokou morbiditou a mortalitou. Studium sekrece insulinu, regulace jeho exprese, degradace a mechanismu působení proto stále je a v budoucnu bude velmi aktuálním tématem. V této práci jsme se pokusili shrnout poslední znalosti z těchto oblastí výzkumu a doufáme, že článek bude inspirací pro naši chemickou a biochemickou veřejnost.

Tato práce byla podporována výzkumným záměrem Z4 055 0506.

LITERATURA

- Ryle A. P., Sanger F., Smith L. F., Kitai R.: *Biochem. J.* 60, 541 (1955).
- Sanger F.: *Nature* 171, 1025 (1953).
- Adams M. J., Blundell T. L., Dodson G. G., Vijayan M., Baker E. N., Harding M. M., Hodgkin D. C., Rimmer B., Sheat S.: *Nature* 224, 491 (1969).
- Peking Insulin Structure Group: *Peking Rev.* 40, 11 (1971).
- Steiner D. F., Cunningham D., Spigelman L., Aten B.: *Science* 157, 697 (1967).
- Douglass J., Civelli O., Herbert E.: *Annu. Rev. Biochem.* 53, 665 (1984).
- Eipper B. A., Mains R. E.: *Endocr. Rev.* 1, 1 (1980).
- Chan S. J., Keim P., Steiner D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 73, 1964 (1976).
- Walter P., Gilmore R., Blobel G.: *Cell* 38, 5 (1984).
- Steiner D. F., Docherty K., Carroll R.: *J. Cell. Biochem.* 24, 121 (1984).
- Liu M., Ramos-Castaneda J., Arvan P.: *J. Biol. Chem.* 278, 14798 (2003).
- Steiner D. F., Rubenstein A. H.: *Science* 277, 531 (1997).
- Farquhar M. G., Palade G. E.: *J. Cell Biol.* 91, 77s (1981).
- Steiner D. F., Quinn P. S., Chan S. J., Marsh J., Tager H. S.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 343, 1 (1980).
- Orci L., Glick B. S., Rothman J. E.: *Cell* 46, 171 (1986).
- Orci L., Halban P., Amherdt M., Ravazzola M., Vassalli J. D., Perrelet A.: *Cell* 39, 39 (1984).
- Orci L., Halban P., Perrelet A., Amherdt M., Ravazzola M., Anderson R. G.: *J. Cell Biol.* 126, 1149 (1994).
- Molinete M., Dupuis S., Brodsky F. M., Halban P. A.: *J. Cell Sci.* 114, 3059 (2001).
- Dodson G., Steiner D.: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 8, 189 (1998).
- De P. J., Galansino G.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121, 501 (1966).
- Blundell T. L., Dodson G. G., Hodgkin D. C., Mercola D. A.: *Adv. Protein Chem.* 26, 279 (1972).
- Cutfield J. F., Cutfield S. M., Dodson E. J., Dodson G. G., Emdin S. F., Reynolds C. D.: *J. Mol. Biol.* 132, 85 (1979).
- Emdin S. O., Dodson G. G., Cutfield J. M., Cutfield S. M.: *Diabetologia* 19, 174 (1980).
- Michael J., Carroll R., Swift H. H., Steiner D. F.: *J. Biol. Chem.* 262, 16531 (1987).
- Kemmler W., Steiner D. F., Borg J.: *J. Biol. Chem.* 248, 4544 (1973).
- Carroll R. J., Hammer R. E., Chan S. J., Swift H. H., Rubenstein A. H., Steiner D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 85, 8943 (1988).
- Steiner D. F., Cho S., Oyer P. E., Terris S., Peterson J. D., Rubenstein A. H.: *J. Biol. Chem.* 246, 1365 (1971).
- Docherty K., Carroll R. J., Steiner D. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 79, 4613 (1982).
- Davidson H. W., Hutton J. C.: *Biochem. J.* 245, 575 (1987).
- Fricke L. D.: *Annu. Rev. Physiol.* 50, 309 (1988).
- Kemmler W., Peterson J. D., Steiner D. F.: *J. Biol. Chem.* 246, 6786 (1971).
- Orci L., Ravazzola M., Amherdt M., Madsen O., Vassalli J. D., Perrelet A.: *Cell* 42, 671 (1985).
- Steiner, D. F., v knize: *Handbook of Experimental Pharmacology* (Cuatrecasas, P. and Jacobs, S., ed.). Springer-Verlag, Berlin 1990.
- Rubenstein A. H., Steiner D. F.: *Annu. Rev. Med.* 22, 1 (1971).

35. Dodson E. J., Dodson G. G., Hubbard R. E., Reynolds C. D.: *Biopolymers* 22, 281 (1983).
36. Huml K., Klasová L., Barthová J.: *Chem. Listy* 96, 698 (2002).
37. Ullrich A., Shine J., Chirgwin J., Pictet R., Tischer E., Rutter W. J., Goodman H. M.: *Science* 196, 1313 (1977).
38. Bell G. I., Pictet R. L., Rutter W. J., Cordell B., Tischer E., Goodman H. M.: *Nature* 284, 26 (1980).
39. Soares M. B., Schon E., Henderson A., Karathanasis S. K., Cate R., Zeitlin S., Chirgwin J., Efstratiadis A.: *Mol. Cell Biol.* 5, 2090 (1985).
40. Owerbach D., Bell G. I., Rutter W. J., Brown J. A., Shows T. B.: *Diabetes* 30, 267 (1981).
41. Bell G. I., Gerhard D. S., Fong N. M., Sanchez-Pescador R., Rall L. B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 82, 6450 (1985).
42. Bell G. I., Selby M. J., Rutter W. J.: *Nature* 295, 31 (1982).
43. Permutt M. A., Rotwein P., Andreone T., Ward W. K., Porte D., Jr.: *Diabetes* 34, 311 (1985).
44. Tager, H. S., v knize: *Handbook of Experimental Pharmacology* (Cuatrecasas P. and Jacobs S., ed.). Springer-Verlag, Berlin 1990.
45. Prentki M., Matschinsky F. M.: *Physiol. Rev.* 67, 1185 (1987).
46. Hedekov C. J.: *Physiol. Rev.* 60, 442 (1980).
47. Malaisse W. J.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 522, 284 (1988).
48. Malaisse W. J., Orci L.: *Methods Achiev. Exp. Pathol.* 9, 112 (1979).
49. Malaisse W. J., Garcia-Morales P., Dufrane S. P., Sener A., Valverde I.: *Endocrinology* 115, 2015 (1984).
50. Bartoš, V., Pelikánová, T., v knize: *Praktická diabetologie*. Maxdorf, Praha 2003.
51. Itoh N., Okamoto H.: *Nature* 283, 100 (1980).
52. Rabinovitch A., Blondel B., Murray T., Mintz D. H.: *J. Clin. Invest.* 66, 1065 (1980).
53. Mirsky I. A., Perisutti G.: *J. Biol. Chem.* 228, 77 (1957).
54. Duckworth W. C., v knize: *Handbook of Experimental Pharmacology* (Cuatrecasas, P. and Jacobs, S., ed.). Springer-Verlag, Berlin 1990.
55. Burghen G. A., Kitabchi A. E., Brush J. S.: *Endocrinology* 91, 633 (1972).
56. Duckworth W. C., Heinemann M. A., Kitabchi A. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 69, 3698 (1972).
57. Ebrahim A., Hamel F. G., Bennett R. G., Duckworth W. C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 181, 1398 (1991).
58. Authier F., Posner B. I., Bergeron J. J.: *Clin. Invest. Med.* 19, 149 (1996).
59. Muller D., Baumeister H., Buck F., Richter D.: *Eur. J. Biochem.* 202, 285 (1991).
60. Roth R. A., Mesrirow M. L., Yokono K., Baba S.: *Endocr. Res.* 10, 101 (1984).
61. Hamel F. G., Gehm B. D., Rosner M. R., Duckworth W. C.: *Biochim. Biophys. Acta* 1338, 207 (1997).
62. Duckworth W. C., Hamel F. G., Peavy D. E., Liepnieks J. J., Ryan M. P., Hermodson M. A., Frank B. H.: *J. Biol. Chem.* 263, 1826 (1988).
63. Duckworth W. C.: *Endocr. Rev.* 9, 319 (1988).
64. Hamel F. G., Bennett R. G., Duckworth W. C.: *Endocrinology* 139, 4061 (1998).
65. Katzen H. M., Tietze F.: *J. Biol. Chem.* 241, 3561 (1966).
66. Bjelland S., Wallevik K., Kroll J., Dixon J. E., Morin J. E., Freedman R. B., Lambert N., Varandani P. T., Nafz M. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 747, 197 (1983).
67. Assoian R. K., Tager H. S.: *J. Biol. Chem.* 257, 9078 (1982).
68. Freedman R. B.: *Cell* 57, 1069 (1989).
69. Rabkin R., Ryan M. P., Duckworth W. C.: *Diabetologia* 27, 351 (1984).
70. Jochen A., Hays J., Lee M.: *J. Cell Physiol.* 141, 527 (1989).
71. Stentz F. B., Harris H. L., Kitabchi A. E.: *Endocrinology* 116, 926 (1985).
72. Buffington C. K., El-Shiekh T., Kitabchi A. E., Matteri R.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 134, 412 (1986).
73. Duckworth W. C., Bennett R. G., Hamel F. G.: *Endocr. Rev.* 19, 608 (1998).
74. Terris S., Steiner D. F.: *J. Biol. Chem.* 250, 8389 (1975).
75. Seta K. A., Roth R. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 231, 167 (1997).
76. Levy J., Olefsky J. M.: *Endocrinology* 120, 450 (1987).
77. Backer J. M., Kahn C. R., Cahill D. A., Ullrich A., White M. F.: *J. Biol. Chem.* 265, 16450 (1990).
78. Hamel F. G., Posner B. I., Bergeron J. J., Frank B. H., Duckworth W. C.: *J. Biol. Chem.* 263, 6703 (1988).
79. Hamel F. G., Mahoney M. J., Duckworth W. C.: *Diabetes* 40, 436 (1991).
80. Authier F., Rachubinski R. A., Posner B. I., Bergeron J. J.: *J. Biol. Chem.* 269, 3010 (1994).
81. Seabright P. J., Smith G. D.: *Biochem. J.* 320, 947 (1996).
82. Authier F., Danielsen G. M., Kouach M., Briand G., Chauvet G.: *Endocrinology* 142, 276 (2001).
83. Authier F., Metioui M., Fabrega S., Kouach M., Briand G.: *J. Biol. Chem.* 277, 9437 (2002).
84. Duckworth W. C., Garcia J. V., Liepnieks J. J., Hamel F. G., Hermodson M. A., Frank B. H., Rosner M. R.: *Biochemistry* 28, 2471 (1989).
85. Dodson G. G., Dodson E. J., Turkenburg J. P., Bing X.: *Biochem. Soc. Trans.* 21, 609 (1993).

L. Žáková and J. Jiráček (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Biosynthesis, Secretion and Degradation of Insulin**

Insulin was isolated and used as a therapeutic agent for the first time more than 80 years ago. In subsequent decades, the structure of insulin was fully resolved and several insulin analogues were introduced in clinical prac-

tice. Important discoveries were made concerning the mechanism of action of insulin, its interaction with receptors, and insulin-dependent cellular processes. Despite all these successes, diabetes mellitus remains one of the most important human diseases with high morbidity and mortality. Therefore, studies of insulin secretion, regulation of its expression, and mechanism of action still remain important topics. The review summarizes the latest knowledge in the field.



Katedra analytické chemie PŘF
Univerzity Palackého v Olomouci
ve spolupráci
s Českou společností chemickou,
firmou Merck, s.r.o. Praha
a firmou Waters, s.r.o. Praha



pořádá ve dnech

30. - 31. ledna 2006

SOUTĚŽ MLADÝCH ANALYTICKÝCH CHEMIKŮ “o cenu firmy Merck”

Vážené kolegyně a kolegové,

dovolujeme si Vás pozvat na 9. ročník soutěže o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie, která se uskuteční ve dnech **30. a 31. ledna 2006** na půdě katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Veškeré informace o soutěži včetně předběžné přihlášky naleznete na:

<http://ach.upol.cz/soutez>

Předběžné přihlášky na soutěž se přijímají do **12.12.2005**. Závaznou přihlášku spolu s tří až pěti stránkovým abstraktem očekáváme do **8.1.2006**.

Těšíme se na Vaši účast

Juraj Ševčík a Jan Petr za organizační výbor

BIOCHEMICKÉ A TOXIKOLOGICKÉ ASPEKTY ETIOLOGIE BALKÁNSKÉ ENDEMICKÉ NEFROPATIE

MARIE STIBOROVÁ^a, JIŘÍ PATOČKA^b,
EVA FREI^c a HEINZ H. SCHMIESER^c

^a Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, ^b Katedra toxikologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové a katedra radiologie a toxikologie, Zdravotně sociální fakulta, Jihočeská univerzita, České Budějovice, ^c Division of Molecular Toxicology, German Cancer Research Center, Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg, Germany
stiborov@natur.cuni.cz

Došlo 10.3.05, přijato 23.6.05.

Klíčová slova: nefropatie, nádory močových cest, etiologie, mykotoxiny, ochratoxin A, aristolochové kyseliny, aromatické aminy, těžké kovy, genetické faktory, enzymy

Obsah

1. Úvod
2. Hypotézy etiologie balkánské endemické nefropatie
 - 2.1. Polycyklické aromatické uhlovodíky a aromatické aminy
 - 2.2. Těžké kovy
 - 2.3. Mykotoxiny
 - 2.4. Aristolochové kyseliny
 - 2.5. Genetické faktory
3. Závěr

1. Úvod

Balkánská endemická familiární nefropatie je choroba rozšířená v geograficky limitovaných oblastech, v populaci žijící v oblasti podél řeky Dunaje (do vzdálenosti až 100 km od toku) v některých částech Bulharska, Rumunska a zemí bývalé Jugoslaviie¹⁻³. Uvedené onemocnění je charakterizované pomalu postupujícím progresivním zánětem intersticia ledviny, který vede až k totálnímu selhání funkce tohoto orgánu. Proces je ireversibilní a končí zpravidla terapií formou dialýzy, event. následnou transplantací postiženého orgánu¹⁻⁴. Klinicky a morfologicky je balkánská endemická nefropatie charakterizována signifikantními změnami struktur ledvinných tubulů, intesticiální fibrosou a postupným poškozením renálního parenchymu vedoucím k totální atrofii orgánu. Je provázána anemií, ztrátou tělesné hmotnosti a bolestmi hlavy, u pacientů však

absentuje hypertenze typická pro jiné nefropatie¹. Z charakteristických biochemických změn je nutné zmínit proteinurii, glukosurii, zvýšený obsah kreatininu v seru, zvýšení hladin některých enzymů (γ -glutamyltransferasy, alkalické fosfatasy, laktátdehydrogenasy), plasmatických imunoglobulinů IgM a IgG a pH moči^{3,5}. Choroba je spojena s multifokálními, pomalu rostoucími, povrchovými, „low-grade“ tumory pánvičky ledvin a s tvorbou tumorů i dalších částí močového traktu¹⁻⁴.

Mezi dosud nevyřešené otázky spojené s balkánskou endemickou nefropatií patří poznání příčin choroby, a to i přesto, že úloha řady potenciálních faktorů (především faktorů genetických a enviromentálních) byla již studována^{3,6}. Epidemiologické a genetické studie napovídají pro multifaktoriální původ balkánské endemické nefropatie. V současnosti bylo vysloveno několik hypotéz, které se pokoušejí vysvětlit původ jak tohoto ledvinného onemocnění, tak i tumorů močového traktu, které chorobu provázejí.

2. Hypotézy etiologie balkánské endemické nefropatie

2.1. Polycyklické aromatické uhlovodíky a aromatické aminy

Za jednu z příčin balkánské nefropatie je považováno dlouhodobé vystavení obyvatelstva postižené oblasti polycyklickým aromatickým uhlovodíkům a aromatickým aminům, které se dostávají do životního prostředí v postižených regionech z ložisek lignitu a uhlí⁷. Výskyt takových organických sloučenin byl prokázán již v polovině 70. let, detegovány byly jako složky olejových skvrn ve vodách jezer a řek endemických oblastí s výskytem balkánské nefropatie. Jejich přítomnost byla prokázána i v pitné vodě konzumované obyvatelstvem regionů postižených balkánskou nefropatií⁷. Skutečnost, že aromatické aminy vykazují nefrotoxické a karcinogenní účinky, rovněž jako jejich efektivita vyvolávat tvorbu nádorů močových cest, je známa již řadu let, jak ze studií experimentálních, tak i epidemiologických^{8,9}. Metabolickou aktivací obou typů aromatických sloučenin vznikají reaktivní intermediáty (diolepoxidy resultující v tvorbu karbeniových iontů z polycyklických aromatických uhlovodíků a nitreniové či karbeniové ionty z aromatických aminů), které kovalentně modifikují DNA cílových orgánů (tvorba DNA aduktů). Tím pak iniciují patologické procesy^{9,10}. Aduktivity aktivovaných toxikantů s DNA mohou být prokazatelně detegovány řadou experimentálních metod¹¹⁻¹⁴ a korelovány s vývojem choroby. Studie sledující tvorbu takových aduktů v DNA pacientů z oblastí postižených balkánskou endemickou nefropatií však dosud chybí.

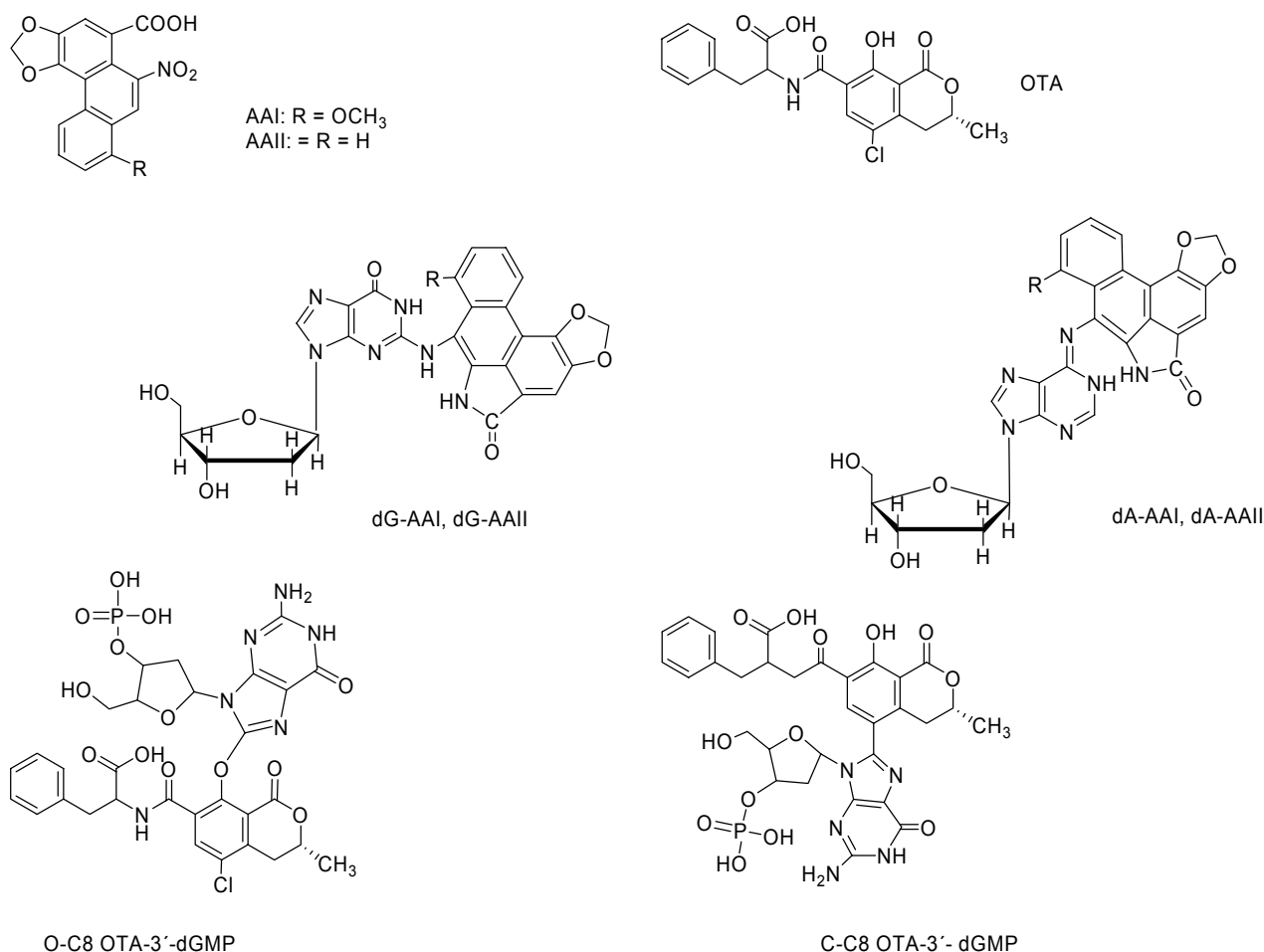
2.2. Těžké kovy

Nichifor a spol.¹⁵ prokázali, že se v endemických oblastech s výskytem balkánské nefropatie nacházejí v okolí vodních zdrojů vysoké koncentrace kadmia, chromu, hořčíku, kobaltu, niklu a mědi a jejich iontů. Zvýšený obsah některých iontů těchto kovů (Mg, Cu, Ni) byl navíc detegován v moči pacientů trpících uvedenou chorobou³. Vzhledem k nefrotoxicitě uvedených kovů jsou proto také považovány za jednu z příčin, působící pravděpodobně v kombinaci s dalšími faktory, a participující na vývoji choroby^{16–19}. Těžké kovy totiž způsobují vážné poškození ledvinného tubulárního systému a nalezeny byly i některé morfologické podobnosti mezi nefropatií vyvolanou těžkými kovy a balkánskou endemickou nefropatií³. Biochemický mechanismus působení těžkých kovů zahrnuje poškození membrán renálních buněk (kalciový kanál), iniciaci oxidativního stresu a produkci superoxidových aniontů, nárůst peroxidace lipidů a poškození biologické funkce SH proteinů (vazba iontů těžkých kovů na SH skupiny esenciální pro jejich působení).

2.3. Mykotoxiny

Další hypotéza předpokládá původ choroby v působení mykotoxinů. Vychází z premisy, že choroba může být způsobena intoxikací obyvatelstva postižené oblasti dlouhodobým opakovaným příjmem malých dávek nefrotoxickeho a karcinogenního mykotoxinu ochratoxinu A (obr. 1), event. dalšího mykotoxinu citrininu^{3,20}.

Hypotéza považující ochratoxin A za původce balkánské nefropatie a následného vývoje tumorů močového traktu vychází z několika skutečností. Prvou z nich je nápadná podobnost mezi strukturálními změnami v ledvinách i změnami jejich funkce vyvolanými v experimentálních zvířatech ochratoxinem A a klinickými i patologickými příznaky balkánské nefropatie³. Nefropatie vyvolaná ochratoxinem A je např. rovněž provázána intersticiální fibrosou, atrofií tubulů, patologickými změnami v glomerulech, a dalšími procesy, které jsou obdobné s příznaky provázejícími balkánskou endemickou nefropatií. Ochratoxin A je navíc mykotoxinem vykazujícím nejen nefrotoxicke účinky, ale je rovněž karcinogenem generující-



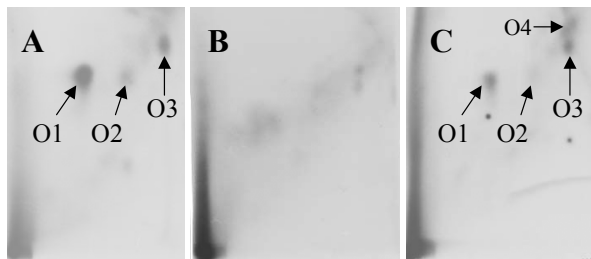
Obr. 1. Struktura ochratoxinu A (OTA), aristolochových kyselin (AA) a jejich aduktů s DNA

cím tumory močového traktu³.

Další skutečností podporující původ balkánské nefropatie působením ochratoxinu A je zjištění, že v potravinách, které byly konzumovány postiženými skupinami obyvatelstva v ovlivněných oblastech byly nalezeny vyšší koncentrace ochratoxinu A než v potravinách z jiných oblastí. Detailně byl sledován obsah ochratoxinu A v kukuřici a fazoli jako převládajících rostlinných složek potravin konzumovaných obyvatelstvem postižených oblastí³. V letech 1981–1991, kdy byly tyto produkty analyzovány, byl obsah ochratoxinu A v rostlinných složkách potravin vyšší než 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ přítomen ve více než 50 % analyzovaných vzorků z postižených oblastí. Naproti tomu byl takový obsah v uvedených produktech z nepostižených oblastí, nicméně geograficky lokalizovaných v jejich blízkosti, detegován pouze asi v 10 % analyzovaných vzorků³. Ochratoxin A byl rovněž detegován v masných produktech distribuovaných v postižených oblastech a konzumovaných obyvatelstvem, detailní analýza takových výrobků z různých oblastí však dosud nebyla realizována³.

Hypotéza, že ochratoxin A participuje na etiologii onemocnění, vychází rovněž z nálezu, že v krvi obyvatelstva oblastí postižené balkánskou nefropatií byly zjištěny vyšší koncentrace ochratoxinu A než v krvi obyvatelstva žijícího v oblastech neovlivněných^{3,20,21}. Obsah tohoto mykotoxinu v krvi dosahuje koncentrací 5–50 ng ml^{-1} krve u více než 2 % obyvatelstva postižených oblastí³. Pro srovnání lze uvést koncentrace ochratoxinu A nalezené v krvi obyvatel České republiky. Malíř a spol. vyšetřili 2206 vzorků lidského séra a ochratoxin A našli v 2077 případech (94 %) v průměrné koncentraci 0,28 ng ml^{-1} (cit.²¹).

Zásadním nálezem podporujícím původ choroby v ochratoxinu A je skutečnost, že v DNA tumorů močových cest několika jedinců žijících v postižené oblasti byly nalezeny adukty, které jeví podobnost s adukty nalezenými v DNA experimentálních zvířat vystavených ochratoxinu A^{3,20,22}. K detekci a identifikaci aduktů tvořených z ochratoxinu A byla využita vysoce sensitivní Randerathova metoda (³²P-postlabeling)^{11–14}. Takové adukty byly prokázány i naší laboratoří, analýzou vzorků DNA ledvin pacientů trpících tumory močových cest z balkánské endemické oblasti (adukty O1–O4 v DNA uvedené v obr. 2)²³. Výsledky experimentů sledujících generaci aduktů z ochratoxinu A v DNA *in vitro* a *in vivo* jsou však

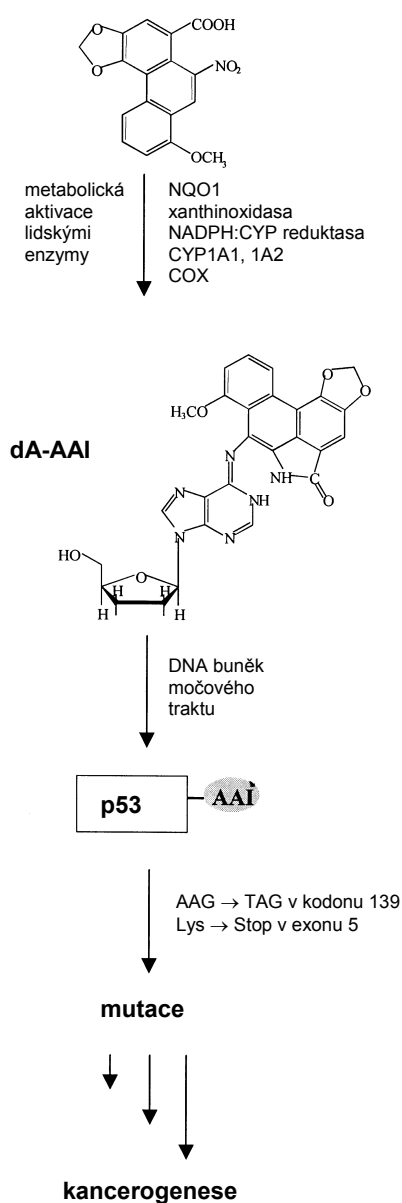


Obr. 2. Adukty derivované z ochratoxinu A v DNA ledvin pacientů z oblastí balkánské endemické nefropatie (Slavonik Brod)²³

v několika laboratořích kontroverzní. Ačkoliv v řadě prací byly adukty odvozené od ochratoxinu A prokazatelně detegovatelné^{3,20,22–25}, v jedné z detailních recentních studií však nalezeny nebyly²⁶. Kontroverzní jsou také výsledky a názory na to, zda je ochratoxin A genotoxickým či epigenetickým karcinogenem^{3,24,26–32}. Jinými slovy řečeno, zda jsou adukty nalezené v DNA tvořeny přímo z reaktivních metabolitů ochratoxinu A nebo zda pochází ze sekundárních vlivů provázejících jeho metabolismus (např. aktivních forem kyslíku, které mohou poškozovat DNA). Ochratoxin A je v organismech metabolizován cytochromy P450 na hydroxylované deriváty, 4(R)- a 4(S)-hydroxyochratoxin A, je však substrátem, který je těmito enzymy oxidován velmi obtížně. Navíc tyto metabolity nejsou zodpovědné za jeho genotoxicitu³². Naproti tomu bylo nedávno prokázáno, že peroxidasy generují z ochratoxinu A primárně fenoxylový radikál, dále pak hydrochinon a chinon tohoto mykotoxinu. Radikál ochratoxinu A pak reaguje s nukleofilními centry nukleových kyselin^{24,28–30}. Poslední výsledky laboratoře Pfohl-Leskowicz a Castegnara nedávno skutečně jasně prokázaly nejen tvorbu aduktů generovaných v DNA ledvin potkana a prasete působením ochratoxinu A, určily však i strukturu dvou majoritních aduktů (C-C8-dG a O-C8-dG adukty)³³ (obr. 1). To vše mluví pro genotoxický mechanismus toxického a karcinogenního působení ochratoxinu A. Pro plné potvrzení jak genotoxického mechanismu působení ochratoxinu A, tak i jeho úlohy v etiologii balkánské endemické nefropatie je však nutné prokázat tvorbu aduktů v DNA ještě v následných detailních studiích s experimentálními zvířaty, rovněž jako u dalších pacientů trpících touto chorobou.

2.4. Aristolochové kyseliny

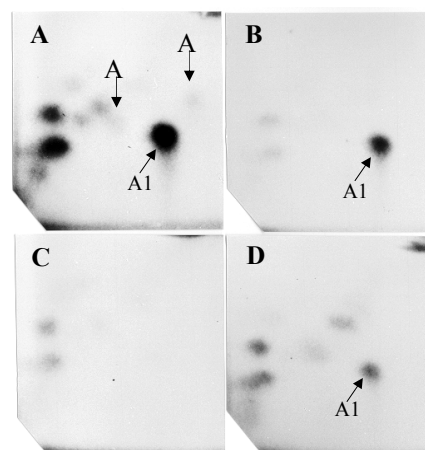
Další hypotéza přičítá původ vývoje choroby působení látek rostlinného původu, jmenovitě dvou nitrofenantrenových sloučenin, aristolochových kyselin (obr. 1). Tento předpoklad vychází z překvapující podobnosti mezi balkánskou nefropatií a progresivní renální intersticiální fibrosou spojenou s vývojem tumorů močových cest, nedávno nově popsaným ledvinovým onemocněním označovaným jako „Chinese herbs nephropathy“ (CHN)^{34,35}. Za důvod uvedených ledvinových poruch byl nedávno jednoznačně určen příjem nefrotoxických a karcinogenních aristolochových kyselin, které byly součástí rostlinné diety pacientů trpících touto chorobou^{25,36–42}. Vzhledem k jednoznačnosti původu tohoto ledvinového a nádorového onemocnění v konzumaci aristolochových kyselin (především aristolochové kyseliny I, která je majoritním podílem AA rostlinných součástí), je nyní označována jako nefropatie vyvolaná aristolochovými kyselinami (Aristolochic Acid Nephropathy, AAN)^{40,41}. Hypotézu, že aristolochové kyseliny mohou participovat na vývoji balkánské endemické nefropatie, navíc podporují skutečnosti, že rostlinné extrakty obsahující aristolochové kyseliny jsou již od nepaměti užívány v lidovém léčitelství v postižených oblastech a části rostlin čeledi *Aristolochiaceae* byly nalezeny v sýpkách, ve kterých jsou skladovány obiloviny^{43–45}. Není bez zajímavosti, že za původce balkánské



Obr. 3. Schéma iniciace nádorových procesů vyvolaných aristolochovou kyselinou I v lidském organismu; NQO1, NAD(P)H:chinonoxidoreduktasa; CYP, cytochrom P450; COX, cyklooxygenasa (prostaglandin H synthasa)

nefropatie byly aristolochové kyseliny označeny již v roce 1970 (cit.⁴⁶), tedy v době, kdy onemocnění vyvolané těmito přírodními látkami ještě nebylo popsáno.

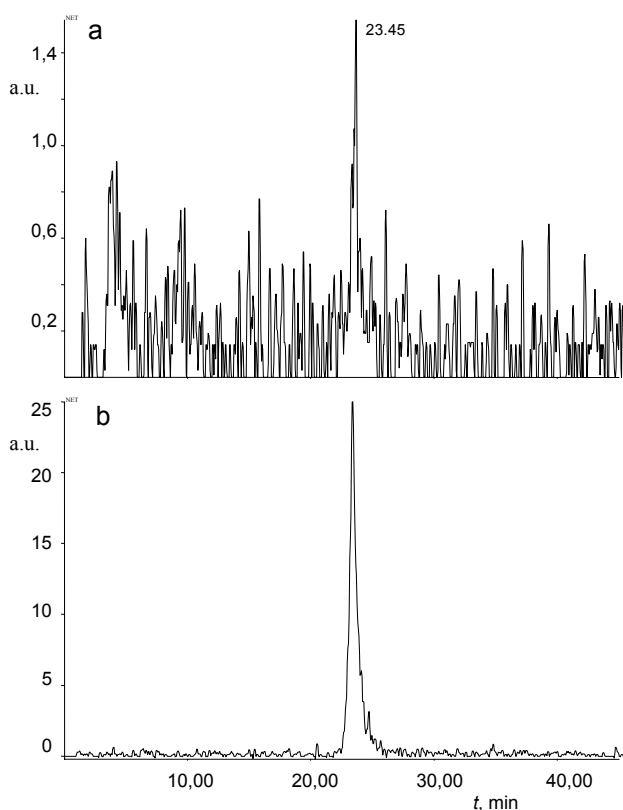
Metabolické studie prokázaly, že majoritními metabolity aristolochových kyselin tvořenými *in vitro* a *in vivo* jsou redukční produkty aristolaktamy, jež byly detegovány jak v konjugované, tak i nekonjugované formě v moči a výkalech savečů včetně člověka^{40,47}. Aktivace aristolochových kyselin na reaktivní metabolity iniciující toxické a karcinogenní účinky probíhá rovněž redukční cestou^{14–16}.



Obr. 4. Aduktů nalezené v DNA ledvin pacientů trpících nefropatií vyvolanou aristolochovými kyselinami (A) a adukty v DNA ledvin pacientů z oblastí balkánské endemické nefropatie (vzorky analyzované též z hlediska aduktů generovaných z ochratoxinu A, viz obr. 2) (B–D); adukt A1 reprezentuje adukt dA-AAI, A2, dG-AAI a A3, dA-AAII

V průběhu redukce obou kyselin dochází ke vzniku reaktivního cyklického acylnitreniového iontu, který se váže na DNA a tvoří dva majoritní adukty jak v experimentech *in vitro*, tak i u experimentálních zvířat *in vivo*, rovněž jako v DNA ledvin a močové trubice pacientů trpících chorobou AAN (cit.^{30,42,48–54}). Jde o adukty s deoxyadenosinem a deoxyguanosinem [7-(deoxyadenosin-N⁶-yl)-aristolaktam (dA-AA) a 7-(deoxyguanosin-N²-yl)-aristolaktam (dG-AA)] (obr. 1, 3 a 4). K detekci a identifikaci aduktů tvořených z aristolochových kyselin byla rovněž využita metoda ³²P-postlabeling^{30,42,48–54}. Jejím prostřednictvím byl odhalen i vztah mezi perzistencí aduktů a karcinogenním účinkem aristolochových kyselin. Na rozdíl od doby přetrvání aduktu 7-(deoxyguanosin-N²-yl)-aristolaktamu I v DNA různých orgánů experimentálních zvířat (potkanů), která nebyla delší než dva týdny, persistence aduktů s deoxyadenosinem (dA-AAI) byla dlouhodobá³⁷. Dlouhodobá persistence deoxyadenosinového aduktu je tak kritickým prekarcinogenním stavem (lézí v DNA), který je zodpovědný za iniciaci karcinogeneze vyvolané aristolochovou kyselinou. Tento adukt byl skutečně nalezen jako persistentní léze způsobující mutaci tumor supresorového genu p53 [mutace AAG → TAG v kodonu 139 (Lys → Stop) v exonu 5] pacientů trpících chorobou⁴². Schéma molekulárního mechanismu karcinogeneze vyvolané aristolochovou kyselinou v lidském organismu je uvedené na obr. 3.

Výsledky získané mezinárodním týmem složeným z pracovníků laboratoří katedry biochemie PřF UK a pracovišť ze SRN, Belgie, Francie a Chorvatska, plně podporují předpoklad, že aristolochové kyseliny mohou být jednou z příčin balkánské endemické nefropatie²³. V DNA vzorků ledvin několika jedinců žijících v oblasti postižené balkánskou nefropatií a vykazujících příznaky této choroby byly nalezeny prekarcinogenní léze v DNA,



Obr. 5. HPLC aduktu A1 panelu B obrázku 3 (A) a standardu aduktu dA-AAI (B); experimentální podmínky pro separaci aduktů jsou detailně popsány v citacích^{36–38,50–55}

konkrétně adukt dA-AAI (obr. 4 a 5). Vzhledem k tomu, že se jedná o tytéž vzorky ledvin, v jejichž DNA byly nalezeny i adukty generované ochratoxinem A (obr. 2), v poškození DNA ledvin pacientů testovaných v uvedené studii je tedy rovněž nutné brát v úvahu i úlohu tohoto mykotoxinu.

Z analýz DNA z vzorků ledvin těchto pacientů i pacientů trpících nefropatií vyvolanou aristolochovými kyselinami^{36–39} navíc vyplývá, že jejich DNA nebyla ovlivněna působením polycyklických aromatických uhlovodíků a aromatických aminů. Absence silně hydrofobních aduktů generovaných těmito látkami, lokalizovanými především v diagonální zóně autoradiografických snímků^{9,14}, je toho velmi podstatným důkazem (obr. 2 a 4). Participace těchto sloučenin na vývoji obou ledvinových chorob a následného vývoje nádorů močových cest všech těchto pacientů je tedy pravděpodobně minimální, či chybí vůbec.

2.5. Genetické faktory

Další hypotéza pokládá za nejpodstatnější faktory podmiňující vývoj balkánské nefropatie faktory genetické⁵⁶. Stěžejní význam pro vznik a vývoj této choroby mají pravděpodobně geny lokalizované v oblasti mezi geny 3q25 a 3q26 (cit.⁶). V této oblasti je lokalizováno mnoho genů

kódujících značně rozdílné proteiny (např. kalcium-senzitivní receptor, podjednotky kalciového kanálu, člena rodiny *ras* oncogenů RAP2B, iniciační faktor proteosynthesy IF2A, fosfatasy proteinů 1, receptory spojené s G proteinem, methyltransferasu). Které z genů se k vývoji balkánské endemické nefropatie přímo vztahují, však dosud známo není⁶. Z jiných genetických faktorů participujících na vyvolání balkánské nefropatie může být uvažována i genetická heterogenita (genetický polymorfismus) enzymů metabolizujících xenobiotika, popř. geneticky podmíněné defekty imunitního systému⁵⁷. Vztah mezi genetickým polymorfismem enzymů metabolizujících xenobiotika, konkrétně těch, které jsou považovány za potenciální příčiny choroby (ochratoxin A, aristolochové kyseliny, aromatické aminy), a vlastním onemocněním dosud nebyl zkoumán. Je však známo, že polymorfismus některých enzymů metabolizujících (aktivujících a detoxikujících) tyto a další karcinogeny [např. cytochromů P450 1A1/2, NAD(P)H:chinonoxidoreduktasy, receptoru kontrolující jejich expresi (Ah receptoru), cytochromů P450 podrodiny 2C, myeloperoxidasy]^{3,24,30,33,36,38,40,51–55} patří mezi faktory, které ovlivňují vývoj řady nádorových onemocnění⁵⁷.

3. Závěr

Otevřenými otázkami zůstává, jak jednotlivé výše uvedené příčiny, dosud více méně stále ještě hypotetické, na původu balkánské nefropatie skutečně participují a jakou měrou. Záměrem projektu podporovaném Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (GAUK 432/2004) je proto na tyto otázky odpovědět. Vysvětlení etiologie balkánské endemické nefropatie je vysoce aktuální. Vyřešením této problematiky lze předpokládat získání podstatných poznatků zásadních pro rozvoj základního výzkumu v oblasti poznání procesů, které jsou limitující pro patologické procesy vedoucí k poškození ledvin i následnou tvorbu nádorů, rovněž jako v oblasti studia enzymových systémů participujících na iniciační fázi těchto procesů. Vyřešení původu balkánské nefropatie má však také velký praktický význam, neboť může být využito k terapeutickému zásahu a přispět tak k lepší prognóze vývoje choroby. Navíc může napomoci i v předvídání rizik a prevenci nejen této choroby, ale dalších onemocnění vyvolaných environmentálními a genetickými faktory.

Podporováno Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (grant GAUK 432/2004) a MŠMT ČR (grant MSM0021620808).

LITERATURA

1. World Health Organisation: *Memorandum: The Endemic Nephropathy of South-Eastern Europe* Geneva: WHO, str. 431, 1965.
2. Ikononov V., Melzer H., Neonov V., Stoicheva A.,

- Stiller S., Mann H.: *Artif. Organs* 23, 75 (1999).
3. Pfohl-Leszkowicz A., Petkova-Bocharova T., Chernozemsky I. N., Castegnaro M.: *Food Additiv. Contamin.* 19, 282 (2002).
 4. Castegnaro M., Chernozemsky I. N., Hietanen E., Bartsch H.: *Arch. Geschwulstforsch.* 60, 295 (1990).
 5. Stefanovic V., Polenakovic M. H.: *Am. J. Nephrol.* 11, 1 (1991).
 6. Stefanovic V.: *Q. J. Med.* 91, 457 (1998).
 7. Tatu C. A., Orem W. H., Finkelman R. B., Feder G. L.: *Environ. Health Perspect.* 106, 689 (1998).
 8. Johansson S. L., Cohen S. M.: *Semin. Surg. Oncol.* 13, 291 (1997).
 9. Kadlubar F. F.: *IARC Sci. Publ.* 125, 199 (1994).
 10. Guengerich P. F.: *Chem. Res. Toxicol.* 4, 391 (1991).
 11. Phillips D. H.: *Mutat. Res.* 378, 1 (1997).
 12. Phillips D. H., Castegnaro M.: *Mutagenesis* 14, 301 (1999).
 13. Stiborová M., Frei E., Bieler C. A., Schmeiser H. H.: *Chem. Listy* 92, 661 (1998).
 14. Stiborová M., Rupertová M., Hodek P., Frei E., Schmeiser H. H.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 69, 477 (2004).
 15. Nichifor E., Balba M., Rusu G., Melencu M., Chirdanescu N., Cristescu I., Dovalate C., Sonoc S.: *Médecine Interne* 23, 229 (1985).
 16. Markovic B., Lebedev S., Djordjevic M., Arambasic M.: *Médecine Biol. Environ.* 1, 1 (1976).
 17. Markovic B.: *J. d'Urol. (Paris)* 94, 53 (1988).
 18. Markovic B.: *J. d'Urol. (Paris)* 96, 31 (1990).
 19. Radovanovic Z., Markovic-Denic L., Marinkovic J., Jevremovic I., Jankovic S.: *Nephron* 57, 52 (1991).
 20. Pfohl-Leszkowicz A., Grosse Y., Castegnaro M., Nicolov I. G., Chernozemsky I. N., Bartsch H., Betbeder A. M., Creppy E. E., Dirheimer G.: *IARC Sci. Publ.* 124, 141 (1993).
 21. Malíř F., Ostrý V., Černá M., Kačerovský J., Roubal T., Škarková J., Brndiar M., Fixa P.: *Čas. Lék. Česk.* 143, 691 (2004).
 22. Grosse Y., Baudrimont I., Castegnaro M., Betbeder A. M., Creppy E. E., Dirheimer G., Pfohl-Leszkowicz A.: *Chem.-Biol. Interact.* 95, 175 (1995).
 23. Arlt V., Ferluga D., Stiborová M., Pfohl-Leszkowicz A., Vukelic M., Ceovic S., Schmeiser H. H., Cosyns J.-P.: *Int. J. Cancer* 101, 500 (2002).
 24. Obrecht-Pflumio S., Dirheimer G.: *Chem.-Biol. Interact.* 127, 29 (2000).
 25. Arlt V. M., Pfohl-Leszkowicz A., Cosyns J.-P., Schmeiser H. H.: *Mutat. Res.* 494, 143 (2001).
 26. Mally A., Zepnik H., Wanek P., Eder E., Dingley K., Ihmels H., Volkel W., Dekant W.: *Chem. Res. Toxicol.* 17, 234 (2004).
 27. Zepnik H., Pahler A., Schauer U., Dekant W.: *Toxicol. Sci.* 59, 59 (2001).
 28. Dai J., Wright M. W., Manderville R. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 125, 3716 (2003).
 29. Dai J., Wright M. W., Manderville R. A.: *Chem. Res. Toxicol.* 16, 817 (2003).
 30. Obrecht-Pflumio S., Dirheimer G.: *Arch. Toxicol.* 75, 583 (2001).
 31. El-Aldouni C., Pinelli E., Azenar B., Zaoui D., Beaune P., Pfohl-Leszkowicz A.: *Environ. Molec. Mutagenesis* 35, 123 (2000).
 32. Gautier J.-C., Richoz J., Welti D. H., Markovic J., Grenaud E., Guengerich F. P., Turesky R. J.: *Chem. Res. Toxicol.* 14, 34 (2001).
 33. Faucet V., Pfohl-Leszkowicz A., Dai J., Castegnaro M., Manderville R. A.: *Chem. Res. Toxicol.* 17, 1289 (2004).
 34. Vanverheagen J.-L., Depierreux M., Tielemans C., Abramowicz D., Dratwa M., Jadoul M., Richard C., Vandervelde D., Verbeelen D., Vanhaelen-Fastre R., Vanhaelen M.: *Lancet* 341, 387 (1993).
 35. Cosyns J. P., Jadoul M., Squifflet J. P., De-Plaen J. F., Ferluga D., van Ypersele de Strihou C.: *Kidney Int.* 45, 1680 (1994).
 36. Schmeiser H. H., Bieler C. A., Wiessler M., van Ypersele de Strihou C., Cosyns J.-P.: *Cancer Res.* 56, 2025 (1996).
 37. Bieler C. A., Stiborová M., Wiessler M., Cosyns J.-P., van Ypersele de Strihou C., Schmeiser H. H.: *Carcinogenesis* 18, 1063 (1997).
 38. Stiborová M., Frei E., Breuer A., Bieler C. A., Schmeiser H. H.: *Exp. Toxic. Pathol.* 51, 421 (1999).
 39. Nortier J. L., Muniz Martinez M. C., Schmeiser H. H., Arlt V. M., Bieler C. A., Petein M., Depierreux M. F., De Pauw L., Abramowicz D., Vereerstraeten P., Vanherweghen J. L.: *New Engl. J. Med.* 342, 1686 (2000).
 40. Arlt V., Stiborová M., Schmeiser H. H.: *Mutagenesis* 17, 265 (2002).
 41. Cosyns J. P.: *Drug Safety* 26, 33 (2003).
 42. Lord G. M., Hollstein M., Arlt V. M., Roufosse C., Pusey C. D., Cook T., Schmeiser H. H.: *Am. J. Kidney Dis.* 43, Art.No.e11 (2004).
 43. Rucker G., Chung B. S.: *Planta Medica* 27, 68 (1975).
 44. Harwell J. C.: *Plants Used Against Cancer*. Quaterman Publications, Lawrence 1982.
 45. Hranjec T., Kovac A., Kos J., Mao W. Y., Chen J. J., Grollman A. P., Jelakovic B.: *Croat. Med. J.* 46, 116 (2005).
 46. Ivic M.: *Acta Fac. Med. Naiss.* 1, 29 (1970).
 47. Krumbiegel G., Hallensleben J., Meunicke W., Rittman N., Roth M. J.: *Xenobiotica* 17, 981 (1987).
 48. Pfau W., Schmeiser H. H., Wiessler M.: *Carcinogenesis* 11, 313 (1990).
 49. Pfau W., Schmeiser H. H., Wiessler M.: *Chem. Res. Toxicol.* 4, 581 (1991).
 50. Stiborová M., Fernando R. C., Schmeiser H. H., Frei E., Pfau W., Wiessler M.: *Carcinogenesis* 15, 1187 (1994).
 51. Schmeiser H. H., Frei E., Wiessler M., Stiborová M.: *Carcinogenesis* 18, 1055 (1997).
 52. Stiborová M., Frei E., Wiessler M., Schmeiser H. H.: *Chem. Res. Toxicol.* 14, 1128 (2001).
 53. Stiborová M., Frei E., Sopko B., Wiessler M.,

- Schmeiser H. H.: *Carcinogenesis* 23, 617 (2002).
54. Stiborová M., Frei E., Sopko B., Sopková K., Marková V., Laňková M., Kumstýřová T., Wiessler M., Schmeiser H. H.: *Carcinogenesis* 24, 1695 (2003).
55. Stiborová M., Frei E., Hodek P., Wiessler M., Schmeiser H. H.: *Int. J. Cancer* 113, 189 (2005).
56. Toncheva D., Dimitrov T., Stoyanova S.: *Eur. J. Epidemiol.* 14, 389 (1998).
57. Smith G., Stanley L. A., Sim E., Strange R. C., Wolf C. R.: *Cancer Surv.* 25, 27 (1995).

M. Stiborová^a, J. Patočka^b, E. Frei^c, and H. H. Schmeiser^c (^a*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague,* ^b*Department of Toxicology, Faculty of Military Health Service, University of Defence, Hradec Králové, Czech Republic,* ^c*Division of Molecular Toxicology, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany*): **Biochemistry and Toxicological Aspects of Etiology of Balkan Endemic Nephropathy**

Balkan endemic nephropathy is a unique renal fibrosis leading to progressive and gradually developing renal failure, followed by development of tumors of the urinary tract. Several hypotheses concerning the etiology of this disease have been investigated, including environmental factors (heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, aromatic amines, fungal and plant toxins) and/or genetic factors. The article reviews the different hypotheses and pays particular attention to the biochemical role of the mycotoxin ochratoxin A and the plant product aristolochic acid.

VŠEM PŘEDPLATITELŮM CHEMICKÝCH LISTŮ

Vážení předplatitelé,

pokud jste tak dosud neučinili, obracíme se na Vás s prosbou o potvrzení Vašeho dalšího zájmu o odběr Chemických listů v roce 2006 formou objednávky. Objednávku můžete zaslat písemně na adresu společnosti ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1, faxem na číslo 222 220 184, nebo e-mailem na adresu: simanek@csvts.cz

Pokud nebudete mít další zájem o odběr časopisu v roce 2006, prosíme rovněž o písemné potvrzení.

Předem děkujeme.

Sekretariát České společnosti chemické

SÚČASNÝ STAV A PERSPEKTÍVY VYUŽITIA RÝCHLEJ PLYNOVEJ CHROMATOGRAFIE V KOMBINÁCIÍ S HMOTNOSTNOU SPEKTROMETRIOU

MICHAL KIRCHNER a EVA MATISOVÁ

*Katedra analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, Bratislava 812 37, Slovenská Republika
eva.matisova@stuba.sk*

Došlo 27.1.05, prijaté 31.5.05.

Kľúčové slová: rýchla GC, rýchla GC-MS, aplikácie rýchlej GC-MS

Obsah

1. Úvod
2. Rýchla plynová chromatografia a rýchla plynová chromatografia v spojení s hmotnostnou spektrometriou
 - 2.1. Možnosti urýchľovania plynovej chromatografie
 - 2.2. Výber vhodnej metódy zrýchľovania analýzy plynovou chromatografiou
 - 2.3. Vymedzenie typov rýchlej plynovej chromatografie
 - 2.4. Spojenie rýchlej plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie
 - 2.4.1. Počet bodov potrebný na popis chromatografického píku
 - 2.4.2. Rýchla plynová chromatografia – hmotnostná spektrometria s kvadrupólom a iónovou pascou
 - 2.4.3. Rýchla plynová chromatografia s hmotnostným spektrometrom merajúcim čas preletu iónov
 - 2.4.4. Technické zlepšenia hmotnostných spektrometrov pre spojenie s rýchlou plynovou chromatografiou
3. Záver

1. Úvod

Od uvedenia plynovej chromatografie (gas chromatography – GC) sa stala zaujímavou otázkou zvyšovania rýchlosti separácie. Rýchla GC prináša niekoľko zjavných výhod. Významne sa môže zvýšiť výkonnosť analytických laboratórií so súčasťou znížením prevádzkových nákladov na vzorku. Obzvlášť atraktívna je rýchla GC v prípadoch, kedy je dôležité poznať výsledok analýzy v čo najkratšom možnom čase, napr. riadenie procesov alebo analýza vstupných surovín. Pre analýzu významných vzoriek a analytov, napr. cudzorodých látok a kontaminantov vo vzorkách zo životného prostredia, potravín ale-

bo biologických materiálov, je dôležitá možnosť viacerých opakovaní analýzy jednej vzorky v čase, ktorý by zaberala jediná analýza konvenčnou GC v záujme zvýšenia presnosti a správnosti analytického výsledku.

Hoci teoretické základy rýchlej GC boli postavené už v 60. rokoch, možnosť vývoja aplikácií a ich zavedenia do rutinných analytických laboratórií prišla až s vývojom komerčnej inštrumentácie v 90. rokoch. Zhodnotenie vhodnosti využitia konvenčnej inštrumentácie pre rýchlú GC a prehľad o novej inštrumentácii vyvinutej špeciálne pre rýchlú GC sú spracované v prehľadových článkoch^{1,2}.

Prvý pokus spojenia rýchlej plynovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou (gas chromatography-mass spectrometry – GC-MS) začal spolu s vývojom konvenčnej GC-MS v 60. rokoch. Praktické rozšírenie a vývoj rutinných aplikácií rýchlej GC-MS bolo limitované, rovnako ako v prípade rýchlej GC, dostupnosťou inštrumentálnej techniky schopnej uspokojiť požiadavky rýchlej GC v druhej polovici 90. rokov.

Analýza cudzorodých látok vo vzorkách životného prostredia, potravín a v biologických vzorkách sa najčastejšie uskutočňuje plynovou chromatografiou. GC je v týchto aplikáciách dominantná pre vysokú separačnú účinnosť a dostupnosť citlivých a selektívnych detektorov. V oblasti stopovej a ultrastopovej analýzy však potreba detekcie a súčasnej identifikácie analytov jednoznačne vyžaduje použitie hmotnostno-spektrometrickej detekcie.

2. Rýchla plynová chromatografia a rýchla plynová chromatografia v kombinácii s hmotnostnou spektrometriou

Plynová chromatografia sa začala vyvíjať s použitím náplňových kolón. Hoci kapilárne kolóny sú známe už od 50. rokov, v rutinných laboratóriách sa presadili až po objavení nového materiálu na ich výrobu – taveného kremeňa, v roku 1979. Matematické modely popisujúce rýchlú plynovú chromatografiu však boli známe už v 60. rokoch a sú odvodené pre náplňové, aj pre kapilárne kolóny. Kapilárne kolóny poskytujú podstatne vyššiu separačnú účinnosť ako náplňové kolóny, ich výroba je reprodukovateľná a čas analýzy je kratší³. Pre mnohé jednoznačné výhody kapilárnej plynovej chromatografie sa v ďalšom texte budeme zaoberať výhradne kapilárnou plynovou chromatografiou (CGC – capillary gas chromatography).

Spojenie rýchlej GC s MS sa dá chápať dvomi spôsobmi. V prvom prípade ide o použitie MS detektora spojeného s rýchlou plynovou chromatografiou – na skrátenie času analýzy sa použije jeden alebo kombinácia viacerých spôsobov urýchľovania analýzy a MS detektor potom plní úlohu vysoko selektívneho a identifikačného detektora. V druhom prípade sa samotný MS detektor použije na

zvýšenie rýchlosti separácie pomocou vákuu v iónovom zdroji MS, čiže separácia v kolóne prebieha za zníženého tlaku, čo sa v anglickej literatúre nazýva „vacuum-outlet GC-MS“.

2.1. Možnosti urýchľovania plynovej chromatografie

Pre porozumenie jednotlivých parametrov, ktoré ovplyvňujú rýchlosť separácie, je potrebné vziať do úvahy rovnice popisujúce čas analýzy ako funkciu rôznych pracovných parametrov⁴. Takéto vzťahy sú prehľadne odvodené v prehľadových článkoch Cramersa a spol.^{5,6}. Vychádzajú z podmienok normalizovaného rozlíšenia, to znamená, že pre porovnanie rôznych možností je počet priehradiek konštantný a je rovný požadovanému počtu priehradiek N_{req} :

$$N_{\text{req}} = 16R_s^2 \left[\frac{1+k}{k} \right]^2 \left[\frac{\alpha}{\alpha-1} \right]^2 \quad (1)$$

R_s – rozlíšenie kritického páru, k – retenčný faktor, α – selektivita.

Uvedené rovnice sú odvodené s použitím redukovaných (bezrozmerných) parametrov a sú platné len pri splnení okrajových podmienok: stacionárna fáza neovplyvňuje významne na výšku priehradky; tlakový spád pozdĺž kolóny ($P = p_i/p_o$, p_i – tlak na vstupe do kolóny, p_o – tlak na výstupe z kolóny) je malý ($P = 1$) alebo veľký ($P \gg 1$).

Pre prípad malého tlakového spádu pozdĺž kolóny pre elučný čas (t_R) sledovanej látky platí nasledovný vzťah:

$$t_R = N_{\text{req}} \frac{h}{v} \cdot \frac{d^2}{f_1 D_{m,o}} (1+k) t_R \quad (2)$$

$$f_1 = \frac{3(P^2 - 1)}{2(P^3 - 1)}$$

N_{req} – požadovaný počet priehradiek, h – redukovaná výška priehradky, v – redukovaná rýchlosť nosného plynu, d – vnútorný priemer kapilárnej kolóny, f_1 – kompresibilitný faktor, $D_{m,o}$ – binárny difúzny koeficient zložky v nosnom plyne, k – retenčný faktor.

Pre rozdiel vstupného a výstupného tlaku v kolóne platí nasledovná rovnica v redukovanom tvare:

$$\Delta p = p_i - p_o = \frac{N_{\text{req}} h v \varphi \eta D_{m,o}}{f_2 d^2} \quad (3)$$

$$f_2 = \frac{1}{2}(P+1)$$

φ – odpor kolóny voči prúdeniu nosného plynu, η – dynamická viskozita nosného plynu, f_2 – kompresibilitný faktor

Pre prípad malého tlakového spádu pozdĺž kolóny kompresibilitné faktory f_1 a f_2 nadobúdajú hodnoty približujúce sa 1. Z rovnice 1 potom vyplýva, že čas analýzy

klesá úmerne s druhou mocninou vnútorného priemeru kolóny d za cenu rastúceho tlakového spádu (rovnice 2, 3). Rýchlosť analýzy sa dá zvýšiť zmenšovaním vnútorného priemeru kolóny, ale potrebný tlakový spád rastie. V rýchlej GC s vysokým vyžadovaným počtom priehradiek predpoklady $P = 1$, $f_1 = f_2 = 1$ prestávajú platiť. Preto je potrebné použiť rovnice odvodené pre veľký tlakový spád pozdĺž kolóny:

$$t_R = N_{\text{req}}^{2/3} \frac{h^{3/2} \varphi^{1/2}}{v^{1/2}} d \left(\frac{\eta}{D_{m,o} P_o} \right)^{1/2} (1+k) \quad (4)$$

$$\Delta p = \frac{4}{3} \frac{N_{\text{req}}^{1/2} (h v \varphi)^{1/2} (\eta D_{m,o} P_o)^{1/2}}{d} \quad (5)$$

V tomto prípade z rovníc (4) a (5) vyplýva, že čas analýzy je priamo úmerný vnútornému priemeru kolóny a potrebný tlakový spád je nepriamo úmerný vnútornému priemeru kolóny.

Iný, v literatúre často popisovaný spôsob zrýchľovania GC analýz, je uskutočnenie separácie za zníženého tlaku (vacuum outlet GC). Teoretický princíp navrhol Giddings v 60. rokoch a vychádza zo zvyšovania binárnych difúzných koeficientov $D_{m,o}$ separovaných látok v nosnom plyne pri zníženom tlaku. Na vytvorenie vákuu v kolóne sa používa vákuum prítomné v hmotnostnom spektrometri. Na dosiahnutie optimálnych podmienok separácie je však potrebné použiť kolóny s veľkou permeabilitou, čiže krátke kolóny s veľkým vnútorným priemerom. Tento typ zrýchľovania analýzy sa zaraďuje medzi typy bez straty separačnej účinnosti^{2,4}, avšak je dôležité poznamenať, že to platí iba pre urýchľovanie analýz poskytujúcich len relatívne menší počet priehradiek^{5,6}.

Z uvedených teoretických základov vyplýva, že na urýchľovanie separácie sa dajú použiť tri hlavné princípy⁷:

- I. Minimalizácia rozlíšenia na hodnotu práve potrebnú. Na minimalizáciu N_{req} v rovnici (1) a následné skrátenie času analýzy, rozlíšenie R_s by nikdy nemalo byť väčšie ako práve potrebné a rozlíšené by mali byť iba piky, o ktoré je záujem. $R_s = 1,0$ môže byť dostatočné, ak požadovaná presnosť kvantitatívnej analýzy nie je vysoká. $R_s = 1,5$ je dostatočné aj pre prípad vyžadovanej maximálnej presnosti.
- II. Maximalizácia selektivity chromatografického systému. Selektivita je schopnosť rozlišovať látky. Maximalizácia selektivity môže byť uskutočnená separáciou alebo detekciou – výberom kolóny poskytujúcej vhodnú selektivitu pre kritický pár a/alebo použitím selektívnej detekcie.
- III. Implementácia metódy skracovania času analýzy pri zachovaní rozlíšenia. Alternatívy, ktoré umožňujú skrátenie doby analýzy s konštantným rozlíšením (aké je možné konvenčnou GC, prípadne vyššie), sú jediným prístupom pri analýze mnohozložkových zmesí (napr. benzíny, polychlóvané bifenylly (PCB) v environmentálnych matriaciach).

Tabuľka I
Prehľad možností skracovania času analýzy v GC⁷

Číslo	Možnosť zrýchlenia	Skrátenie času analýzy a praktické hľadisko
<i>(I) Minimalizácia rozlíšenia na práve potrebnú hodnotu</i>		
1	skrátenie dĺžky kolóny	skrátenie času je úmerné skráteniu kolóny pri izotermickej GC (IGC); v prípade GC s programovanou teplotou (TPGC), skrátenie času je malé, ak sa používa veľké rozpätie teplôt, pretože čas analýzy je určený dosiahnutím teploty potrebnej na elúciu poslednej zložky; skrátenie kolóny je ireverzibilné; odporúča sa začať s možnosťou č. 2
2	rýchlosť nosného plynu väčšia ako optimálna	skrátenie času je úmerné zvýšeniu rýchlosti nosného plynu pri IGC; zrýchlenie pri TPGC je malé, hlavne pri širokom rozsahu teplôt; maximálna rýchlosť je obmedzená regulátorom tlaku
3A	vyššia teplota pri izotermickej analýze (len pre IGC)	zrýchlenie približne dvojnásobné na každých 15 °C zvýšenia teploty
3B	vyššia počiatočná teplota	zrýchlenie veľmi závisí na počiatočnej a konečnej teplote v TPGC
3C	vyššia konečná teplota	zrýchlenie typicky len niekoľko minút
4A	rýchlejšie programovanie teploty	zrýchlenie úmerné zvýšeniu gradientu v TPGC
4B	zmeniť IGC na TPGC	podstatné zvýšenie rýchlosti pri zmene IGC na TPGC
5	programovanie tlaku/prietoku	zrýchlenie zvyčajne len mierne; vyžaduje elektronické ovládanie tlaku/prietoku
6	použitie menšej hrúbky filmu stacionárnej fázy	zrýchlenie úmerné zníženiu hrúbky filmu stacionárnej fázy; zrýchlenie je zvlášť výrazné pri prechode z kolón s hrubým filmom
<i>(II) Maximalizácia selektivity chromatografického systému</i>		
7	použitie selektívnejšej stacionárnej fázy alebo spájania kolón	je možné dosiahnuť výrazné skrátenie elučných časov, ale výber fázy býva zdĺhavý
8	použitie (konvenčnej) dvojrozmernej (2D) GC	nerozlíšené píky môžu byť separované na druhej kolóne s inou stacionárnou fázou; je možné veľmi veľké skrátenie analýzy, ale je potrebná zložitá inštrumentácia
9	použitie selektívnej detekcie	možné výrazné skrátenie času analýzy, pretože je potrebné separovať iba analyty o ktoré je záujem navzájom; separácia od zložiek matrice už nie je potrebná; dá sa kombinovať aj s inými možnosťami
10	použitie MS detekcie	možné výrazné skrátenie času analýzy, zvlášť v spojení so spektrálnymi dekonvolučnými technikami; dá sa kombinovať aj s inými možnosťami
11	použiť backflush	typické zrýchlenie 2 – 5×; vyžaduje špeciálnu inštrumentáciu
<i>(III) Zrealizovať metódu znižujúcu čas analýzy pri zachovaní rozlíšenia</i>		
12	použiť kolónu s menším vnútorným priemerom	zrýchlenie úmerné zmenšeniu I.D. kolóny (pri veľkom tlakovom spáde); úmerné druhej mocnine zmenšeniu I.D. (pre malý tlakový spád pozdĺž kolóny); problémom môže byť robustnosť
13	použiť vodík ako nosný plyn	zrýchlenie 60 % oproti He alebo 100 % oproti N ₂ ; treba dodržiavať bezpečnostné opatrenia
14	použiť vákuum na výstupe z kolóny (vacuum outlet)	zrýchlenie až 6-násobné pre krátke kolóny s veľkým vnútorným priemerom, zrýchlenie pre štandardné kolóny zanedbateľné; možné len pri MS detekcii
15	použiť turbulentný tok nosného plynu	nepoužiteľná technika pre dennú prax

Pre dosiahnutie každého z troch vymenovaných všeobecných prístupov existuje viacero praktických možností, ich prehľad spolu s praktickým hľadiskom je uvedený v tabuľke I.

2.2. Výber vhodnej metódy zrýchľovania analýzy plynovou chromatografiou

Z dôvodu existencie širokého spektra možností urýchľovania GC analýzy a rôznych potrieb pre uspokojenie nárokov na výsledok analýz neexistuje žiadny univerzálny spôsob zrýchľovania GC analýz. Praktický návod na zrýchľovanie širokého spektra GC metód je publikovaný v prehľadom článku Korytára a spol.⁷ a Matisovej a Dömötörovej². Na výber vhodnej zrýchľovacej metódy autori použili vzory chromatogramov typické pre jednotlivé aplikačné oblasti.

Pre výber spôsobu zrýchlenia alebo kombinácii jednotlivých možností je potrebné kriticky posúdiť viacero parametrov týkajúcich sa požadovanej analýzy a analytickej vzorky:

1. počet, vlastnosti a koncentrácia analytov,
2. požadovaná presnosť analýzy,
3. požadovaný čas analýzy,
4. zloženie dávkovanej analytickej vzorky, predovšetkým množstvo a vlastnosti koextrahovaných látok z matrice.

Pri analýze cudzorodých látok prichádzame do styku so spravidla veľkým počtom analytov v stopových až ultra-stopových koncentráciách (pesticidy, polychlórované bifenyly – PCB, polyaromatické uhľovodíky – PAH, rezíduá farmaceutík, drogy, dopingové látky atď...). V analytickej vzorke bývajú prítomné veľké množstvá koextrahovaných látok širokého spektra fyzikálno-chemických vlastností aj napriek dôkladnému prečisťovaciemu kroku v úprave vzorky (extrakty z rastlinných matric, materiálov živočíšneho pôvodu, potravín, sedimentov, pôdy, atď...). Analytická (separačná a detekčná) metóda vhodná na analýzu takýchto látok v zložitých maticiacich preto musí disponovať dostatočnou selektivitou a citlivosťou. Z vyššie uvedených dôvodov je zrejme, že zrýchľovanie GC analýz poskytujúcich práve dostatočnú separáciu by sa malo uskutočňovať s použitím metód zachovávajúcich separačnú účinnosť.

Tabuľka II
Klasifikácia typov rýchlej GC (cit.²)

Typ analýzy	Rozsah doby analýzy	Šírka píku v polovičnej výške	SEF ^a	Účinnosť (N)
Rýchla	minúty	1–3 s	5–30	≤ porovnateľná s konvenčnou HRGC
Veľmi rýchla	sekundy	30–200 ms	30–400	25 000
Ultra rýchla	< sekunda	5–30 ms	400–4000	7000

^a SEF – Speed enhancement factor

Každá úplne optimalizovaná chromatografická metóda je kompromisom medzi rýchlosťou, kapacitou na vzorku a rozlíšením⁸. Vyvinutie softvéru určeného na konverziu metód konvenčnej GC na metódy rýchlej GC prinieslo novú možnosť zjednodušenia vývoja metód rýchlej GC prepočítaním zadaných parametrov separácie na pôvodnom GC systéme na parametre separácie na novom zadanom systéme. Prepočet vykonáva zmenu teplotného programu pri zachovaní relatívnej retencie separovaných látok. Okrem spomínaných parametrov vypočítava aj približnú zmenu trvania GC analýzy. Pre správnu funkciu programu je dôležité zachovať rovnakú stacionárnu fázu a fázový pomer na obidvoch kolónach. „Method Translation Software“ je voľne prístupný na internetovej stránke firmy Agilent Technologies⁹. Bol použitý napríklad na prenos GC metódy na analýzu PCB v potravinách¹⁰ a pesticidov vo vode¹¹.

2.3. Vymedzenie typov rýchlej plynovej chromatografie

Čas analýzy pri GC separáciách závisí od typu vzorky, počtu zložiek a zvolených experimentálnych podmienok. Pre zmesi s desiatkami zložiek je minimálny zrealizovateľný čas analýzy v rozsahu minút⁷, zatiaľ čo jednoduché zmesi sa dajú separovať v rozsahu milisekúnd. Na označenie rýchlosti analýzy sa v literatúre bežne používajú termíny: rýchla GC (fast GC), veľmi rýchla GC (very fast GC) a ultra rýchla GC (ultra fast GC).

Dagan a Amirav¹² zaviedli Speed Enhancement Factor – SEF (faktor zvýšenia rýchlosti) na definovanie rýchlosti GC do spomínaných troch kategórií. SEF porovnáva použitú rýchlosť GC-MS vzhľadom na konvenčnú GC-MS s použitím 30 m dlhej kolóny s malým vnútorným priemerom, prietokom hélia ako nosného plynu 1 ml min⁻¹ poskytujúci rýchlosť nosného plynu 34 cm s⁻¹ a vypočíta sa podľa rovnice:

$$SEF = \frac{3000 \cdot V}{L \cdot 34} = 88 \cdot \frac{V}{L}$$

V – rýchlosť nosného plynu v zrýchlenej plynovej chromatografii [cm s⁻¹], L – dĺžka kolóny [cm].

SEF v skutočnosti predstavuje faktor redukcie v rýchlosti nosného plynu kolónou v porovnaní s konvenčnou GC-MS. Autori však poukazujú na fakt, že SEF nemusí zohľadňovať skutočnú hodnotu skrátenia doby

analýzy, pretože elučný čas je závislý aj od teploty, resp. teplotného programu kolóny. Rozdelenie typov rýchlej GC, GC-MS (aj na základe SEF) je zhrnuté v tabuľke II.

Van Deursen a spol.¹³ navrhli rozdelenie rýchlej GC do troch kategórií podľa získanej šírky píku v polovičnej výške a celkového času analýzy. Každé skrátenie času analýzy znamená aj rovnakú redukciu chromatografickej zóny spôsobenú skrátením času zdržania látky v kolóne. Rozdelenie podľa šírky píkov je spolu s rozdelením podľa SEF sumarizované v tabuľke II.

2.4. Spojenie rýchlej plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie

Na určenie výhod a nevýhod spájanie rôznych konštrukčných typov hmotnostných spektrometrov s rýchlou plynovou chromatografiou je účelné ich rozdeliť do dvoch hlavných tried podľa dosahovanej rýchlosti snímania spektier:

1. pomalé MS: kvadrupólový analyzátor, iónová pasca (Ion Trap Detector – ITD), magnetický sektor,
2. rýchle MS: MS merajúci čas preletu iónov (Time of Flight – TOF), magnetický sektor s detektorovým poľom (Magnetic Sector with Array Detector), iónový cyklotrónový rezonančný MS s Fourierovou transformáciou (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance MS – FTICR alebo FTMS).

Prístroje patriace do prvej kategórie majú pre spájanie s rýchlou GC niekoľko nedostatkov. Keďže nemerajú intenzitu všetkých vzniknutých iónov, ale iba malú časť, poskytujú menšiu citlivosť. Navyše ióny rôznych hmotností merajú skenovaním – jeden po druhom a tak dokážu poskytnúť len malú frekvenciu zberu dát, čo môže byť vážny problém pri detekcii píkov s malou šírkou pri rýchlej GC (cit.¹⁴).

Z druhej kategórie prístrojov sa v spojení s rýchlou GC často používa TOF MS. TOF MS poskytuje vysokú frekvenciu zberu údajov. Najrozšírenejší prístroj Pegasus

firmy LECO dokáže uskutočniť až 500 scan s⁻¹. V tabuľke III je prehľad niektorých dôležitých parametrov MS prístrojov najčastejšie používaných v spojení s rýchlou GC.

2.4.1. Počet bodov potrebný na popis chromatografického píku

V každej chromatografickej aplikácii musí byť rýchlosť zberu údajov detektorom dostatočne rýchla, aby poskytla dostatočný počet bodov na správny popis chromatografického píku¹⁵. Navyac rozširovanie chromatografickej zóny detektorom musí byť zanedbateľné, aby sa zabránilo zníženiu separačnej účinnosti kolóny².

V literatúre jestvuje veľká diskrepancia medzi tvrdeniami jednotlivých autorov o minimálnom počte bodov potrebnom na popis chromatografického píku. Podľa rôznych publikácií je potrebných 15–20 bodov¹³ pre účely kvantitatívnej analýzy, alebo 10–20 bodov¹⁶, zatiaľ čo podľa iných autorov 8–10 (cit.¹⁷), 5–6 (cit.¹⁸) ale aj 3–4 body postačovali pre kvantitatívnu analýzu¹⁹. Dyson²⁰ vo svojej práci tvrdí, že na dosiahnutie presnosti integrácie asymetrického píku s chybou menšou ako 0,1 % je potrebných až 350 bodov. Pre ďalšie spracovanie získaných chromatogramov dekonvolúciou píkov je navyše potrebné zobrať do úvahy aj požiadavky princípu dekonvolučného mechanizmu na počet bodov na pík a separáciu píkov pre dosiahnutie relevantných výsledkov¹⁸.

Na základe vyššie spomínaných údajov v literatúre nie je jednoznačný návod na určenie nevyhnutného počtu bodov na chromatografický pík. Analytik vyvíjajúci rýchlu separačnú metódu by sa mal preto počas optimalizácie a validácie metódy dôkladne venovať aj tejto časti metódy a mal by kriticky posúdiť opakovateľnosť merania plôch píkov a dopad frekvencie zberu údajov na citlivosť detekcie a pomer signál/šum.

Moderné konštrukcie bežných nespektrálnych GC detektorov ako plameňovo-ionizačný detektor (Flame Ionization Detector – FID) a mikro-detektor elektrónového záchytu (μ -Electron Capture Detector – μ ECD) spĺňajú

Tabuľka III

Porovnanie rôznych hmotnostných analyzátorov používaných v GC-MS (cit.¹⁵)

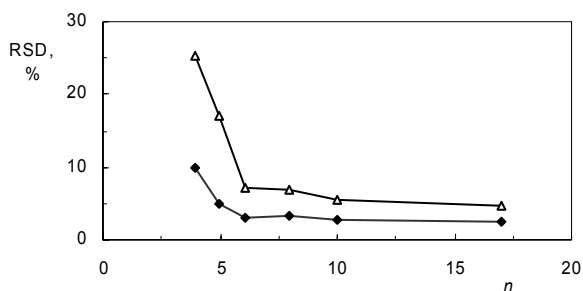
Typ analyzátoru hmotností	Horná hranica hmotností (amu)	Rýchlosť snímania spektier	Rozlíšenie, R_m	Odhadovaná cena v tisíckach USD
Kvadrupól	800–1050	4500–10 000 amu s ⁻¹ (15–33 spektier s ⁻¹ pre rozsah 300 amu)	Šírka píku 0,5 amu ($R_m = 2$ m, 10 % údolie)	50–100
Iónová pasca	650–1000	do 5600 amu s ⁻¹ (19 spektier s ⁻¹ pre rozsah 300 amu)	Šírka píku 1 amu ($R_m = m$, 10 % údolie)	50–100
Rýchly TOF	1000	100–500 spektier s ⁻¹	Šírka píku v polovičnej výške 1400 pre m/z 502	130–170
TOF s vysokým rozlíšením	1500	10 spektier s ⁻¹	Šírka píku v polovičnej výške 7000 pre m/z 614	150–200
Sektorový analyzátor	4000	0,15 spektra/dekáda (7 spektier s ⁻¹ na dekádu)	do 80 000 (10 % údolie)	> 200

požiadavky rýchlej GC na rozširovanie chromatografickej zóny a frekvenciu zberu údajov, ktorá sa v súčasnosti pohybuje v rozmedzí 50–300 Hz. Tepelno-vodivostný detektor (Termal Conductivity Detector – TCD) s extrémne malou celou sa používa v prenosných GC prístrojoch².

Skenujúce hmotnostné spektrometre patria k pomalším detektorom v GC. V závislosti od konštrukcie dokážu poskytnúť frekvenciu zberu údajov len približne 30 Hz. V rýchlej GC sa však často používajú predovšetkým pre ich dostupnosť a rozšírenosť. Možnosti použitia rôznych MS detektorov a ich obmedzenia sú diskutované v ďalších kapitolách.

2.4.2. Rýchla plynová chromatografia-hmotnostná spektrometria s kvadrupólom a iónovou pascou

Kvadrupólový MS je najrozšírenejší hmotnostný spektrometer pre množstvo príčin, hlavne pre jeho robustnosť, spoľahlivosť a kompatibilitu s komerčnými knižnicami, pretože sa zvyčajne používa na vývoj knižnice spektrier. Kvadrupólový GC-MS sa používa v dvoch režimoch získavania signálu: (i) full scan (meranie celých spektrier)



Obr. 1. Závislosť RSD plochy píku a výšky píku od rýchlosti skenovania, analyt *n*-alkán C₁₄, vnútorný štandard *n*-alkán C₁₅ (cit.¹⁸); ♦ plocha píku, Δ výška píku, *n* – počet zaznamenaných bodov na píku

vo zvolenom rozsahu, napr. 50–500 *m/z* a (ii) monitorovanie vybraných iónov (Selected Ion Monitoring – SIM). Pri monitorovaní vybraných iónov sa sleduje len niekoľko zvolených *m/z* a tým sa zvyšuje aj celkový čas zberania údajov (čiže sa zvyšuje citlivosť), ale stráca sa spektrálna informácia¹⁵.

Hlavnou komplikáciou v implementácii kvadrupólového MS v rýchlej GC je nízka frekvencia zberu údajov približne do 30 Hz. Pri detekcii píkov s malou šírkou sa navyše prejavuje deformácia spektrier (spectra skewing). Vzniká vplyvom zmeny koncentrácie analytu v iónovom zdroji počas merania jedného spektra. Čiže pri kvadrupóloch merajúcich spektrá od vyšších *m/z* smerom k nižším budú na nábehovej strane píku spektrá vykazovať väčšie intenzity iónov s menšími hmotnosťami ako v skutočnosti sú. Na klesajúcej strane píku sa tento efekt prejaví opačne.

Pri kvadrupólových analyzátoroch je možné rýchlosť skenovania ovplyvniť rozsahom skenovaných *m/z* a počtom skenov, ktoré sa sumujú do jedného bodu. Dallüge a spol.¹⁸ použil MS 5973 firmy Agilent Technologies ako detektor pri separácii pesticídov a *n*-alkánov v kombinácii s odporovo vyhrievanou GC s použitím kolóny s malým I.D. (100 μm) a dĺžkou 5 m. Na urýchlenie separácie využil rýchle programovanie teploty s rôznymi gradientmi 100, 200, 400 °C min⁻¹ a vysoký tlak na hlave kolóny (300 kPa), pričom čas analýzy bol približne 3–4 minúty. Medze detekcie vybraných pesticídov boli pri režime skenovania v rozmedzí 1–25 pg a v SIM režime 0,1–5 pg.

Autori¹⁸ sa venovali aj vplyvu počtu bodov/pík na opakovateľnosť merania plochy a výšky píku. Na obr. 1 je závislosť relatívnej smerodajnej odchýlky (relative standard deviation – RSD) plochy a výšky píku od rýchlosti skenovania pre *n*-alkán C₁₄ po prepočítaní na vnútorný štandard (*n*-alkán C₁₅). RSD plochy a výšky píku majú klesajúci trend vzhľadom na rastúci počet nameraných bodov na píku. Pri počte 6 bodov na píku už RSD dosiahla takmer konštantnú hodnotu, na základe ktorej pre ďalšiu prácu zvolili minimálny počet 6 bodov na píku. V tabuľke IV sú zhrnuté šírky získaných píkov v závislosti od teplotného gradientu a spôsobu dávkovania. V ďalších riadkoch sú použité rýchlosti skenovania, aby bol dosiahnutý počet 6 bodov na píku a z toho vyplývajúci maximálny rozsah

Tabuľka IV

Šírky píkov a vyžadované rýchlosti skenovania pre rôzne teplotné gradienty¹⁸

Parametre	400 °C min ⁻¹		200 °C min ⁻¹		100 °C min ⁻¹	
	split	splitless	split	splitless	split	splitless
Šírka píku $w_{6\sigma}$, s	0,28	0,33	0,38	0,45	0,64	0,74
Rýchlosť skenovania, scan s ⁻¹	21	18	16	13	9	8
Režim skenovania: maximálny rozsah skenovaných <i>m/z</i> (vzorkovanie = 0)	45–220	45–270	45–310	45–400	45–610	45–700
Režim SIM: max. počet iónov na cyklus	1	2	2	3	4	5

skenovania m/z a maximálny počet iónov na sledovanie v SIM režime.

Rýchlosť skenovania určená počtom snímaní každej hmotnosti a následnou sumáciou (nastavenie "samples" pre MS Agilent 5973) má významný vplyv na odozvu (plochu)²¹. Pri sumovaní 2 meraní jednotlivých m/z je získaná plocha píku 2–3 násobná v porovnaní s jediným meraním každého m/z . Pri režime SIM je nárast odozvy s predĺžovaním času sledovania iónu (dwell time) približne 10–30 % pre časy 10–100 ms (cit.²¹).

Pri analýze cieľových analytov je pre vyššiu citlivosť výhodnejšie použiť SIM režim. Pri najrýchlejšom nastavení SIM režimu je MSD 5973 schopný sledovať 1 ión s rýchlosťou zberu údajov 33 Hz (30 ms trvá snímanie jedného bodu), čo postačuje na detekciu píku s minimálnou šírkou 0,18 s. Pri analýze reálnych viacložkových zmesí je potrebné sledovať viacero iónov prislúchajúcich cieľovému analytu a navyše jestvuje možnosť prekryvania chromatografických píkov, čiže šírka píku 0,18 s predstavuje v praxi ťažko použiteľné minimum. Navyše rozdeľovanie iónov do SIM skupín bolo aj pri väčších šírkach píkov relatívne zložité vzhľadom na dosiahnutie požadovaného počtu bodov na pík. Autori ďalej dokumentujú výkonnosť spojenia rýchlej GC-MS s automatickým dekonvolučným softvérom AMDIS. Na dekonvolúciu postačovalo 6 skenov na pík na správnu identifikáciu 6 kolujúcich zložiek¹⁸. Vyvinutú metódu použili aj na analýzu reálnych vzoriek reziduí pesticídov v rastlinnom materiáli a v živočíšnom materiáli, ale vplyv koextrahovaných látok z matrice na robustnosť separačného systému nezodnotili.

Robustnosťou rýchlej GC-MS s použitím kolón s malým I.D. (0,15 mm) v ultrastopovej analýze reziduí pesticídov sa zaoberali Kirchner a spol.²². Sledovali vplyv matricových efektov na opakovateľnosť meraní (plocha píkov, výška píkov a chvostovanie píkov) s dávkovačom s programovanou teplotou vyparovania (programmed temperature vaporizer – PTV). Na ochranu analytickej kolóny použili predkolónu. Robustnosť metódy bola porovnateľná s konvenčnou GC, bez významného zhoršenia kvality separácie bolo možné nadávať reálne vzorky (extrakt z jablka) približne 130× bez výmeny predkolóny. Výmena predkolóny takmer úplne obnovila pôvodné vlastnosti separačného systému²².

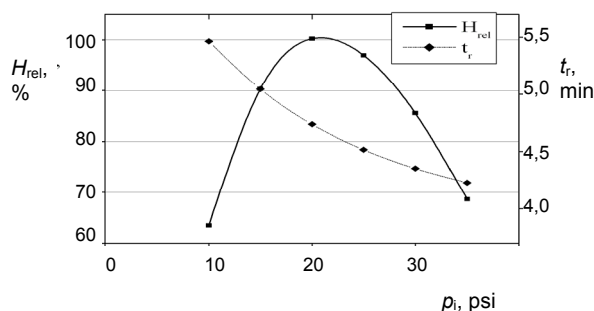
Kvadrupólové MS boli dokonca použité aj v úplnej dvojrozmernej GC (comprehensive two-dimensional GC, GC × GC) na analýzu alergénov v parfumoch^{23,24}, drôg²⁵, chuťových látok a PCB v potravinách²⁴ a s negatívnou chemickou ionizáciou na stanovenie halogenovaných kontaminantov²⁶. V GC × GC sa ako prvá kolóna používa kolóna s konvenčnými rozmermi a ako druhá kolóna sa používa krátka kolóna s malým vnútorným priemerom s rozmermi zvyčajne 1 m × 0,1–0,25 mm I.D. Vplyvom modulátora sú chromatografické zóny vstupujúce do druhej kolóny silne sfokusané a píky eluujúce z druhej kolóny dosahujú šírky približne 45–600 ms (cit.²⁴). Separácia na druhej kolóne je zvyčajne v rozsahu sekúnd a patrí tak až do rozsahu veľmi rýchlej GC, čo kladie vysoké požia-

davky na rýchlosť detekcie. Pre dosiahnutie vyžadovanej rýchlosti zberu údajov v režime skenovania je potrebné použiť užší interval sledovaných m/z (cit.^{24,25}). Moderné kvadrupólové analyzátory zvládajú rýchlosť skenovania až 10000 amu.s⁻¹ a pri zúžení rozsahu sledovaných m/z na 200 dokážu skenovať s frekvenciou 33 Hz. Zúženie sledovaného rozsahu m/z má za následok získanie spektier nekompatibilných so spektrami v komerčných knižniciach a preto je potrebné vytvoriť knižnicu s použitím daného rozsahu m/z (cit.²⁴). Spojenie kvadrupólových analyzátorov s GC × GC je v porovnaní s TOF analyzátormi náročnejšie na optimalizáciu podmienok MS prístroja, je vhodné len na analýzu cieľových analytov, avšak dosahované medze detekcie sú približne podobné ako pri použití TOF MS. Navyše kvadrupólové analyzátory sú veľmi rozšírené, jednoducho ovládateľné a podstatne lacnejšie ako TOF MS (cit.²⁴). K výhodám TOF MS na druhej strane patrí kvalita snímaných spektier, ktoré nie sú zaťažené deformáciou a priama implementácia dekonvolúcie v dodávanom softvéri.

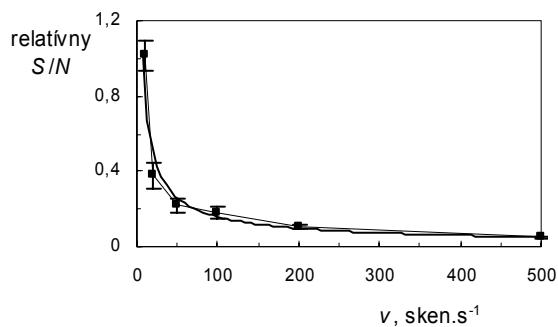
Iným, v literatúre často opisovaným prístupom k rýchlej GC-MS, je LP-GC-MS – kde separácia v GC kolóne prebieha pri zníženom tlaku, čím sa zvyšujú difúzne koeficienty separovaných látok v nosnom plyne a optimálna rýchlosť nosného plynu je výrazne vyššia. Na dosiahnutie výrazného zrýchlenia analýzy je však potrebné používať kolóny s veľkou permeabilitou, čiže krátke kolóny s veľkým vnútorným priemerom. Zvyčajne sa používajú „mega-bore“ kolóny s I.D. 0,53 mm a dĺžkou 5–10 m. LP-GC-MS neposkytuje separáciu s vysokým rozlíšením, ale vzhľadom na dosahovanú šírku píkov je kompatibilnou technikou pre spojenie s pomalými skenujúcimi MS prístrojmi. Konvenčné regulátory tlaku a dávkovače v GC sú schopné pracovať len pri pretlaku nosného plynu vzhľadom na atmosférický tlak, ale pri separácii v kolóne je vyžadované vákuum, kolóna sa s dávkovačom preto spája s použitím restriktora²⁷. Ako restriktor sa bežne používa deaktivovaná kapilára s priemerom 0,1–0,15 mm a s dĺžkou 0,6–3 m.

Maštovská a spol.^{28,29} optimalizovali spojenie LP-GC-MS pre použitie v analýze reziduí 57 pesticídov v rastlinnom materiáli. Na separáciu použili kolónu RTX-5 Sil MS dlhú 10 m s I.D. 0,53 mm a 3 m × 0,15 mm I.D. restriktor. Optimalizáciu vstupného tlaku uskutočnili vzhľadom na maximalizáciu citlivosti (pomer plochy a výšky píku), obr. 2, pri súčasnom sledovaní elučného času. Separáciu uskutočnili s rýchlym teplotným programom 60 °C min⁻¹. Na dávkovanie použili splitless dávkovač s tlakovým pulzom (40 psi, 0,5 min), dávkované objemy boli v rozmedzí 1–5 µl a detekciu uskutočnili v SIM režime (MS HP 5972 a Agilent Technologies 5973). Autori porovnali analytické charakteristiky, ako čas analýzy, separačná účinnosť, opakovateľnosť merania plôch píkov, robustnosť, vplyv dávkovaného objemu na citlivosť, na dvoch kolónach rovnakej dĺžky (10 m) s vnútorným priemerom 0,53 mm a 0,25 mm.

Dosiahnutý čas analýzy bol v oboch prípadoch podobný, približne 5 min. Citlivosť bola vyššia pri použití



Obr. 2. Optimalizácia vstupného tlaku pre LP-GC-MS vzhľadom na pomer plochy a výšky píku – H_{rel} (plná čiara) a elučný čas – t_r (bodkovaná čiara) deltametrínu; kolóna 10 m × 0,53 mm × 1 μ m, restriktor 3 m × 0,15 mm (cit.²⁹)



Obr. 3. Závislosť relatívneho pomeru signál/šum – rel. S/N od rýchlosti snímania spektier (v) TOF MS (cit.⁴⁹); $y = 4,0208v^{-0,7065}$

0,25 mm I.D. kolóny predovšetkým v dôsledku vyššej separačnej účinnosti (1,3–2 násobne vyššia), šírka píku deltametrínu bola 2,22 s pre 0,53 mm I.D. kolónu a 1,44 s pre 0,25 mm I.D. kolónu. Opakovateľnosť plôch píkov pri analýze reálnych extraktov obohatených štandardami pesticídov vyjadrená ako RSD bola v prípade „mega-bore“ kolóny lepšia len o približne 2–3 % a všeobecne menšia ako 9 %. Autori sa v práci²⁹ venovali aj robustnosti oboch LP-GC-MS metód vzhľadom na dávkovaný objem a čistotu dávkovaných extraktov. Separácia na kolóne s I.D. 0,53 mm bola podstatne menej ovplyvnená množstvom nadávkovaných koextrahovaných látok zo vzorky v porovnaní s 0,25 mm I.D. kolónou. Autori sa venovali aj vplyvu dávkovaného objemu na detekovateľnosť analytov. Ak je odozva analytu limitovaná množstvom chemického šumu – látok koelujúcich z kolóny a poskytujúcim odozvu na detektore, zvyšovanie dávkovaného objemu potom nemá za následok zvyšovanie pomeru signál/šum. Autori²⁹ sledovali pomer signál/šum analytov pri dávkovaní obohatených extraktov pre objemy 1, 2, 3, 4, 5 μ l v rôznych maticiach. Pomer S/N rástol iba do dávkovaných objemov 2 až 3 μ l, pri vyšších objemoch už nastal pokles S/N. Dávkovanie väčších objemov navyše kontaminuje separačný systém.

Obširnejšie citované práce sú významné pre prínos do rozvoja rýchlej GC-MS predovšetkým pre jasné preukázanie možnosti použitia a obmedzení pomalších, napr. kvadrupólových, analyzátorov v spojení s rýchlou separačnou metódou. Prehľad parametrov aplikácií rýchlej GC-MS s použitím skenovacích prístrojov je uvedený v tabuľke V.

2.4.3. Rýchla plynová chromatografia s hmotnostným spektrometrom s preletovým analyzátorom

Prvé MS založené na meraní času preletu iónov boli skonštruované už v 50. rokoch, ale záujem o ne začal až v 90. rokoch, práve narastajúcim dopytom po rýchlych spektrometroch pre spojenie s rýchlou GC a GC × GC.

Dnes najznámejším TOF MS v spojení s GC je prístroj Pegasus firmy LECO, ktorého konštrukcia umožňuje vysokú frekvenciu snímania spektier, až 500 skenov za sekundu.

Rýchlosť skenovania pre TOF MS Pegasus je konštantná, prístroj vykonáva 5000 skenov za sekundu, ale do jedného spektra sumuje 10 nameraných spektier, čiže maximálny počet spektier, ktorý poskytuje užívateľovi, je 500 za sekundu. Merania pri nižších frekvenciách zberu spektier sú uskutočnené na pôvodnej frekvencii 5000 skenov za sekundu, avšak prístroj pred zapísaním spektra na disk sumuje vyšší počet spektier. Takýto mechanizmus spracovania údajov má za následok závislosť pomeru signál/šum od počtu sumovaných spektier. Na základe teórie sa dá určiť, že meranie pri 50 Hz bude poskytovať lepší pomer S/N oproti meraniu pri 500 Hz (cit.¹³). Závislosť relatívneho pomeru S/N od rýchlosti zberu spektier pre TOF MS je na obr. 3. Ako je na obrázku vidieť, zvýšenie frekvencie zberu spektier z 10 na 50 malo za následok 5 násobnú stratu na pomere S/N. Rozlíšenie TOF MS v tomto prípade nie je závislé na počte sumovaných spektier, ale v praxi kvalita spektier závisí na počte sumovaných spektier, práve kvôli eliminácii chybného priradenia m/z spracovaním signálu¹⁵.

Dodávaný softvér navyše na identifikáciu látok používa spektrálnu dekonvolúciu píkov, čo umožňuje identifikovať látky na základe celých spektier bez rušivých vplyvov koelujúcich látok. Použitie dekonvolúcie potom môže slúžiť na elimináciu nižšieho chromatografického rozlíšenia, čo je častý prípad pri použití rýchlej GC. Dôkazom možnosti použitia TOF MS v spojení s rýchlou GC sú práce prezentujúce spojenie TOF MS s veľmi a ultra rýchlou GC s časom analýzy 500 ms a šírkou píku 12 ms (cit.¹³). Problémom spájaným s rozšírením TOF prístrojov v minulosti bol nízky výkon počítačov a problematické spracovanie súborov zo záznamom analýz, ktoré dosahujú v závislosti od rýchlosti zberu údajov a dĺžky trvania analýzy až stovky MB (MB – mega byte), ale rozvoj výpočto-

Tabuľka V

Prehľad publikovaných metód rýchlej GC s použitím kvadrupólových MS a iónovej pasce

Analyt/matrica	Rozmery GC kolóny	Technika rýchlej GC	Dávkovanie	MS parametre	Čas GC-MS analýzy/zrýchlenie	Lit.
OC pesticídy, PAH, PCB/rozpúšťadlo	20 m × 0,25 mm × 0,25 μm DB-5MS	krátka kolóna rýchly TP (32 °C min ⁻¹)	tepelná desorpčia, splitless	Q, skenovanie, 120–150 amu, 2 spektrá/s	5 min (8×)	31
72 pesticídov/rozpúšťadlo	10 m × 0,53 mm × 0,25 μm CP-Sil 8CB 0,6 m × 0,1 mm restriktor	krátka kolóna s veľkým I.D., LP-GC-MS	5 μl, PTV	ITD (MS-MS)	32 min (2×)	32
20 pesticídov/mrkva	10 m × 0,53 mm × 1 μm RTX-5 Sil 3m × 0,15 mm restriktor	krátka kolóna s veľkým I.D., LP-GC-MS, rýchly TP 60 °C min ⁻¹	1–5 μl, splitless	Q, SIM	6 min (3×)	28
17 pesticídov/voda	10 m × 0,1 mm × 0,1 μm HP-1	krátka kolóna s malým I.D., rýchly TP	40 μl, PTV	Q, SIM	8,5 (2×)	11
15 OC pesticídov/voda	15 m × 0,1 mm × 0,4 μm HP-1MS	krátka kolóna s malým I.D., rýchly TP (120 °C min ⁻¹)	20 μl, PTV	Q, skenovanie 30–400 amu, 3,89 sken s ⁻¹ , SIM	9 min	33,35
13 pesticídov/koriander	6m × 0,2 mm × 0,33 μm DB-5MS	krátka kolóna, vysoký prietok nosného plynu (10 ml min ⁻¹)	1 μl, PTV	SMB-EI-Q, skenovanie, 3,2 sken/s	8 min	35
12 OC pesticídov/pečeň	5 m × 0,1 mm × 0,1 μm DB-5	krátka kolóna s malým I.D., rýchly TP (100 °C min ⁻¹)	1 μl, splitless	Q, SIM	4 min	18
7 pesticídov/jablko	5 m × 0,1 mm × 0,1 μm DB-5	krátka kolóna s malým I.D., rýchly TP (100 °C min ⁻¹)	0,5 μl, splitless	Q, SIM	3 min	18
8 PAH/rozpúšťadlo	6 m × 0,32 mm × 0,33 μm HT-5	krátka kolóna, vysoký prietok nosného plynu (12 ml min ⁻¹)	splitless	SMB-HSI-Q, skenovanie	8 min	36
PCB/rozpúšťadlo	7 m × 0,05 mm × 0,05 μm DB-1	krátka kolóna s malým I.D., tenký film stac. Fázy	1 μl, split	ITD, 50–650 amu, 2,7 sken s ⁻¹	4 min (10×)	37
6 liečiv/moč	4 m × 0,25 mm	krátka kolóna, vysoký prietok nosného plynu (6 ml min ⁻¹)	0,1 μl, splitless	SMB-HSI-Q, skenovanie	3 min	38
3 drogy/rozpúšťadlo	0,5 m × 0,53 mm	krátka kolóna s veľkým I.D., vysoký prietok nosného plynu (300–2000 ml min ⁻¹)	0,1 μl, splitless	SMB-HIS-Q, skenovanie 40–400 amu, 5 spektier s ⁻¹	20 s	38

Použité skratky: OC – organochlorinated, PAH – polyaromatic hydrocarbons, PCB – polychlorinated biphenyls, VOCs – volatile organic compounds, BTEX – benzene, toluene, ethylbenzene, xylene, TP – temperature programme, LP-GC-MS low pressure gas chromatography-mass spectrometry, PTV – programmed temperature vaporizer, DSI – direct sample introduction, Q – quadrupole, ITD (MS-MS) – ion trap detector in MS-MS mode, SIM – selected ion monitoring, SMB-EI-Q – supersonic molecular beam with electron impact ionization and quadrupole MS, SMB-HSI-Q – supersonic molecular beam with hyperthermall ionization and quadrupole MS

Pokračování tabulky V

Analyt/matrica	Rozmery GC kolóny	Technika rýchlej GC	Dávkovanie	MS parametre	Čas GC-MS analýzy/zrýchlenie	Lit.
Kokaín, heroín, metabolity	6 m × 0,25 mm × 0,25 µm DB-1	krátka kolóna, vysoký prietok nosného plynu (10 ml min ⁻¹), rýchly TP (40 °C min ⁻¹)	10 µl, DSI	SMB-HSI-Q, skenovanie 50-400 amu alebo SIM, 2,5 spektra s ⁻¹	10 min	39
Ropivacain, bupivacain/ ľudská plazma	10 m × 0,1 mm × 0,4 µm HP-1	krátka kolóna s malým I.D., rýchly TP (100 °C min ⁻¹)	50 µl, PTV	Q, SIM	3 min (4×)	40
4 tepelne labilné nederivatizované steroidy/ rozpúšťadlo	3 m × 0,53 mm	krátka kolóna s malým I.D., vysoký prietok nosného plynu (60 ml min ⁻¹), rýchly TP (50 °C min ⁻¹)	splitless	SMB-EI-Q	1,2 min	12
3 nederivatizované fytoosteroly/ tabak	10 m × 0,25 mm × 0,25 µm DB-5	krátka kolóna	1 µl, splitless	trojitý Q (MS-MS)	31 min	41
114 VOCs/voda	20 m × 0,18 mm × 1 µm DB-VRX	krátka kolóna s malým I.D.	purge-and-trap (Split 1:60)	Q, skenovanie, 35–260 skenov.s ⁻¹	8 min (4×)	42
48 zložiek limetového oleja	10 m × 0,1 mm × 0,1 µm RTX-5MS	krátka kolóna s malým I.D.	1 µl, split (1:100)	Q, skenovanie, 50–350 ⁻ amu, 5 spektier s ⁻¹	15 min	43
BTEX/vzduch	10 m × 0,53 mm × 1 µm ChiraSil Dex	krátka kolóna s veľkým I.D. LP-GC-MS, rýchly TP (80 °C min ⁻¹)	0,5 µl, split (1:100)	ITD, 4 spektra s ⁻¹	1 min	44
Vonné látky/ potraviny	10 m × 0,1 mm × 0,2 µm DB-Wax	krátka kolóna s malým I.D. rýchly TP (50 °C min ⁻¹)	headspace, split (1:30)	Q, skenovanie 35 – 200 amu, 11 spektier s ⁻¹	5 min	45
Trihalometány/ voda	5 m × 0,25 mm × 0,25 µm DB-5MS	krátka kolóna	membránové dávkovanie (on-line systém)	Q, SIM, 8,9 cyklov s ⁻¹	< 3 min	46
VOCs/vzduch	10 m × 0,15 mm × 2 µm CP-Sil 5 CB	krátka kolóna s malým I.D.	on-line zapojenie	kvadrupólový analyzátor plynov	5 min	47
Uhl'ovodíky/ pôda	20 m × 0,18 mm × 1 µm DB-VRX	krátka kolóna s malým I.D.	dávkovanie slučkou, headspace	Q, skenovanie, 49 – 160 amu, 6,48 sken s ⁻¹	6 min	48

Použité skratky: OC – organochlorinated, PAH – polyaromatic hydrocarbons, PCB – polychlorinated biphenyls, VOCs – volatile organic compounds, BTEX – benzene, toluene, ethylbenzene, xylene, TP – temperature programme, LP-GC-MS low pressure gas chromatography-mass spectrometry, PTV – programmed temperature vaporizer, DSI – direct sample introduction, Q – quadrupole, ITD (MS-MS) – ion trap detector in MS-MS mode, SIM – selected ion monitoring, SMB-EI-Q – supersonic molecular beam with electron impact ionization and quadrupole MS, SMB-HSI-Q – supersonic molecular beam with hyperthermall ionization and quadrupole MS

Tabuľka VI
Prehľad publikovaných metód používajúcich TOF MS detekciu

Analyt/matrica	Rozmery GC kolóny	Technika rýchlej GC	Dávkovanie	Parametre MS	Čas GC-MS analýzy/zrýchlenie	Lit.
144 semiprchavých látok (pesticídy, fenoly, nitroaromáty, PAH)/rozpúšťadlo	5 m × 0,53 mm × 0,5 μm CP-Sil 8 CB 3m × 0,18 mm restriktor	Krátka kolóna s veľkým I.D. LP-GC-MS, rýchly TP (60 °C min ⁻¹)	1 μl, splitless	120–520 amu, 40 spektier s ⁻¹	4,5 min	16
17 triazínových a 10 organofosfátových pesticidov/voda	5 m × 0,1 mm × 0,1 μm CP-Sil 8 CB	Krátka kolóna s malým I.D. Rýchly TP (50 °C min ⁻¹)	1 μl, split (1:5)	35–300 amu, 10 spektier s ⁻¹	4–5 min	49
9 kyslých pesticidov (vo forme metylesterov)/povrchová voda	20 m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-5MS	Krátka kolóna s malým I.D. Rýchly TP (60 °C min ⁻¹)	1 μl, split (1:10)	50–300 amu, 30 spektier s ⁻¹	3,8 min (8×)	50
16 PAH (EPA 610)/sedimenty a čaj	5m × 0,1 mm × 0,1 μm DB-5MS	Krátka kolóna s malým I.D. Rýchly TP (50 °C min ⁻¹)	1 μl, split (5:1)	35–300 amu, 10 spektier s ⁻¹	6 min	49
166 PCB/sedimenty	40 m × 0,1 mm × 0,1 μm DB-XLS	Kolóna s malým I.D. nosný plyn H ₂	0,25 μl, splitless	120–520 amu, 20 spektier s ⁻¹	10,5 min	16
6 PAH/pitná voda	10 m × 0,25 mm × 0,25 μm DB-5	Krátka kolóna, vysoký prietok NP (5 ml min ⁻¹), nosný plyn H ₂	1 μl, splitless	SMB-HSI-TOF, 50–400 amu, 10 spektier s ⁻¹	3 min	51
16 kyslých liečiv/povrchová voda	10 m × 0,1 mm × 0,1 μm DB-17 HT	Krátka kolóna s malým I.D. Rýchly TP (55 °C min ⁻¹)	0,5 μl, splitless	50–380 amu, 40 spektier s ⁻¹	5,4 min (10×)	50
10 VOCs/modelová zmes	0,3 m × 0,05 mm × 0,17 μm OV-1	Krátka kolóna s malým I.D., Izotermická analýza	1 μl, head-space split (1:220)	40–200 amu, 500 spektier s ⁻¹	500 ms	13
10 VOCs/modelová zmes	2,7 m × 0,05 mm × 0,05 μm DB-1	Krátka kolóna s malým I.D., Izotermická analýza	0,1 μl, split (1:1000)	35–200 amu, 35 spektier s ⁻¹	12 s	52
20 OC pesticidov/rozpúšťadlo	7m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-200 + 7 m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-5	Tlakovo modulované kolóny s malým I.D., rýchly TP, (50 °C min ⁻¹), nosný plyn H ₂	1 μl, split (1:5)	25 spektier s ⁻¹	2,5 min	53
25 uhľovodíkov s teplotou varu v rozpätí benzínu/modelová zmes	10 m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-Vax + 10 m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-5	Tlakovo modulované kolóny, krátke kolóny s malým I.D., nosný plyn H ₂	5 μl, headspace split (1:20)	200 spektier s ⁻¹	1,8 min	54
50 zložiek v limetovom oleji 25 zložiek v citrónovom oleji	7 m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-200 + 7 m × 0,18 mm × 0,18 μm DB-5	Tlakovo modulované kolóny s malým I.D., Rýchly TP (50 °C min ⁻¹), nosný plyn H ₂	0,1 μl, split (1:150)	35–350 amu, 25 spektier s ⁻¹	2,5 min (10×)	55

EPA – Environmental protection agency; ostatné skratky sú uvedené v tab. V

vej techniky prekonal aj túto limitáciu. V súčasnosti bráni masívnemu rozšíreniu TOF prístrojov predovšetkým ich cena, ktorá je asi trojnásobná v porovnaní s kvadrupólovými prístrojmi.

Prehľad aplikácií, v ktorých bolo použité spojenie rýchlej GC s TOF MS je uvedený v tabuľke VI. Rýchly TOF MS má široké možnosti uplatnenia ako rýchly detektor úplne vyhovujúci potrebám rýchlej GC, avšak pre jeho vysokú nadobúdajúcu cenu je z dnešného pohľadu častejšie využívaný pri separácii veľmi zložitých vzoriek v GC × GC (cit.³⁰).

2.4.4. Technické zlepšenia hmotnostných spektrometrov pre spojenie s rýchlou plynovou chromatografiou

Zrýchlením skenovania kvadrupólového filtra sa zaoberali autori v práci⁵⁶. Na skenovanie použili II. región diagramu stability lineárneho kvadrupólu. Bežne pracujú kvadrupólové filtre v I. oblasti, v ktorej však trvá prelet iónu kvadrupólom relatívne dlhý čas, napríklad 53 μ s pre ión s m/z 69 a takmer 100 μ s pre ión s m/z 219. V II. regióne postačuje na filtráciu iónov menej rádiových frekvencií cyklov a ióny sa môžu do kvadrupólu zavádzať väčším potenciálom, čiže filtrácia iónov bude prebiehať rýchlejšie ako v I. regióne. V opisovanom MS (vyvinutom v laboratóriu) sa podarilo dosiahnuť rýchlosť skenovania až 80 000 amu s^{-1} , čiže v rozsahu 80 amu 1000 skenov za sekundu. Navrhované riešenie má však aj niekoľko významných nedostatkov, ako obmedzenú priepustnosť pre prenos údajov, elektronické rozširovanie píkov, nepresnosť pri určovaní m/z , ale predovšetkým nízku citlivosť.

Dagan a Amirav⁵⁷ vyvinuli nový iónový zdroj nazvaný Supersonic Molecular Beam – SMB. Pracuje na princípe ionizácie nárazom elektrónov, ale neionizuje sa priamo efluent z kolóny. Efluent sa pred vstupom zmiešava s veľkým prúdom hélia (do 240 ml min^{-1}) a následne prechádza malou tryskou (I.D. 100 μm) do priestoru s vysokým vákuom. Prúd plynu sa expanziou prudko schladí, čím sa zníži vibračný pohyb molekúl a tie sú následne ionizované prúdom elektrónov. Vzniknuté ióny majú potom väčšie zastúpenie iónov s vyššími hmotnosťami a takmer pre všetky látky zostane zachovaný intenzívny molekulový ión, čo je veľká výhoda pri identifikácii a kvantitatívnej analýze^{35,57,58}. Pri zvýšení sledovanej hmotnosti iónu o 100 amu , je výška chemického šumu znížená približne 20 násobne³⁵. Nedostatkom SMB je veľká náročnosť na výkonný vákuový systém prístroja, navyše sa používa difúzna a turbomolekulová pumpa. Spomínané zariadenie nie je komerčne dostupné, existuje len jeden prototyp. Jeho potenciálna výhoda pre rýchlu GC je, že dokáže pracovať pri podstatne vyšších prúdoch nosného plynu kolónou ako dokážu tolerovať vákuové systémy súčasných MS.

3. Záver

Hlavným dôvodom skúmania rýchlej GC a GC-MS je jej presadenie do praxe v rutinných analytických laboratóriách, kde má predovšetkým zvýšiť produktivitu práce a znížiť cenu analýzy. Množstvo z publikovaných prác sa zaoberá skúmaním hraníc súčasnej techniky, ktoré je nevyhnutné poznať pre správne odhadnutie počiatkových parametrov pre vývoj a optimalizáciu nových metód rýchlej GC-MS uplatniteľných v praxi. V mnohých publikovaných článkoch sa preto na vývoj metódy používajú len roztoky štandardov alebo modelové vzorky a dôraz kladený na vlastnosti reálnych vzoriek je malý alebo chýba úplne. Často je prezentovaná citlivosť, dosiahnuté medze stanovenia alebo detekcie, ale pri modelových vzorkách sa nedá dostatočne posúdiť selektivita metódy, ktorá v konečnom dôsledku v hlavnej miere vplyva na reálnu citlivosť alebo medzu stanovenia. Pre rutinné laboratóriá sú zaujímavé okrem rýchlosti analýzy predovšetkým otázky robustnosti analytickej metódy, detekovateľnosť analytov a údržba prístrojov. Ďalším významným parametrom je aj nadobúdacia cena inštrumentácie, ktorá je v mnohých prípadoch pomerne vysoká. Ďalší výskum rýchlej GC a GC-MS by sa mal preto zamerať na vývoj metód často používaných v rutinných laboratóriách a ich kritické zhodnotenie a porovnanie s metódami konvenčne používanými.

Súčasťou riešenia projektu 1/2463/05 (VEGA MŠ SR) a NATO projektu SFP No. 977983 je aj táto publikácia.

LITERATÚRA

1. Korytár P., Matisová E.: Chem. Listy 95, 783 (2001).
2. Matisová E., Dömötörövá M.: J. Chromatogr., A 1000, 199 (2003).
3. Bartle D. K., Mayers P.: Trends Anal. Chem. 21, 547 (2002).
4. Korytár P., Matisová E.: Chem. Listy 95, 470 (2001).
5. Cramers C. A., Leclercq A. P.: J. Chromatogr., A 842, 3 (1999).
6. Cramers C. A., Janssen H.-G., van Deursen M. M., Leclercq P. A.: J. Chromatogr., A 856, 315 (1999).
7. Korytár P., Janssen H.-G., Matisová E., Brinkman U. A. Th.: Trends Anal. Chem. 21, 558 (2002).
8. Klee M. S., Blumberg L. M.: J. Chromatogr. Sci. 40, 234 (2002).
9. <http://www.chem.agilent.com/cag/servsup/usersoft/files/GCTS.htm>, stiahnuté dňa 4.4.2005.
10. Sandra P., David F.: J. Chromatogr. Sci. 40, 248 (2002).
11. Hada M., Takino M., Yamagami T., Daishima S., Yamaguchi K.: J. Chromatogr., A 874, 81 (2000).
12. Dagan S., Amirav A.: J. Amer. Soc. Mass Spectrom. 7, 737 (1996).

13. van Deursen M. M., Beens J., Janssen H.-G., Leclercq P. A., Cramers C. A.: *J. Chromatogr., A* 878, 205 (2000).
14. Leclercq P. A., Cramers C. A.: *Mass. Spectrom. Rev.* 17, 37 (1998).
15. Maštovská K., Lehota S. J.: *J. Chromatogr., A* 1000, 153 (2003).
16. Cochran J. W.: *J. Chromatogr. Sci.* 40, 254 (2002).
17. Holland J. F., Enke C. G., Allison J., Stults J. T., Pinkstone J. D., Newcome B.: *Anal. Chem.* 55, 997A (2002).
18. Dallüge J., Vreuls R. J. J., van Iperen D. J., van Rijn M., Brinkman U. A. Th.: *J. Sep. Sci.* 25, 608 (2002).
19. Amirav A., Jing H.: *Anal. Chem.* 67, 3305 (1995).
20. Dyson N.: *J. Chromatogr., A* 842, 321 (1999).
21. Kirchner M., Matisová E., Otrekal R., Hercegová A., de Zeeuw J.: *J. Chromatogr., A*, v tlači.
22. Kirchner M., Matisová E., Hrouzková S., de Zeeuw J.: *J. Chromatogr., A*, v tlači.
23. Mondello L., Casilli A., Tranchida P. Q., Dugo G., Dugo P.: *J. Chromatogr., A*, v tlači.
24. Adahchour M., Brandt M., Baier H.-U., Vreuls R. J. J., Batenburg A. M., Brinkman U. A. Th.: *J. Chromatogr., A*, v tlači.
25. Song S. M., Marriott P., Wyna P.: *J. Chromatogr., A* 1058, 223 (2004).
26. Korytár P., Parera J., Leonards P. E. G., de Boer J., Brinkman U. A. Th.: *J. Chromatogr., A*, v tlači.
27. de Zeeuw J., Peene J. A., Janssen H.-G., Lou X., J. High. Resolution. Chrom. 23, 677 (2000).
28. Maštovská K., Lehota S. J., Hajšlová J.: *J. Chromatogr., A* 926, 291 (2001).
29. Maštovská K., Hajšlová J., Lehota S. J.: *J. Chromatogr., A* 1054, 335 (2004).
30. Dallüge J., Beens J., Brinkman U. A. Th.: *J. Chromatogr., A* 1000, 69 (2003).
31. Robbat A., Smarason S., Gangin Y.: *Field. Anal. Chem. Technol.* 3, 55 (1999).
32. González-Rodríguez M. J., Garrido-Frenich A., Arrebola F. J., Martínez-Vidal J. L.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 16, 1216 (2002).
33. Korenková E., Matisová E., Slobodník J.: *J. Sep. Sci.* 26, 1193 (2003).
34. Korenková E., Matisová E., Slobodník J.: *J. Chromatogr. Sci.* 42, v tlači.
35. Kochman M., Gordin A., Goldschlag P., Lehota S. J., Amirav A.: *J. Chromatogr., A* 974, 185 (2002).
36. Amirav A., Gordin A., Tzanani N.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 15, 811 (2001).
37. van Ysacker P. G., Janssen H.-G., Snijders H. M. J., Leclercq P. A., Cramers C. A., Cruchten H. J. M.: *J. Microcol. Sep.* 5, 413 (1993).
38. Amirav A., Dagan A., Shahar T., Tzanani N., Wainhaus S. B. *Advances in Mass Spectrometry* (E.J. Karjalainen, ed.), zv. 14, str. 529, Elsevier, Amsterdam 1998.
39. Wainhaus S. B., Tzanani N., Dagan S., Miller M. L., Amirav A.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 9, 1311 (1998).
40. Abdel-Rehim M.: *J. Sep. Sci.* 25, 252 (2002).
41. Ai J.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 3932 (1997).
42. George C.: *LC-GC North Amer.* 19, 578 (2001).
43. Mondello L., Zappia G., Dugo P., Dugo G., Bonaccorsi I.: *23th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, June 2000*. Proceedings (Sandra P., ed.) sekcia I, príspevok č. 13.
44. Joos P. E., Godoi A. F. L., De Jong R., de Zeeuw J., Van Grieken R.: *25th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, May 2002*. Proceedings (Sandra P., ed.) sekcia M, príspevok č. 4.
45. Heiden A. C., Gil C., Scott Ramos L.: *25th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, May 2002*. Proceedings (Sandra P., ed.) sekcia I, príspevok č. 9.
46. Chang C. C., Her G. R.: *J. Chromatogr., A* 893, 169 (2000).
47. Davoli E., Cappellini L., Moggi M., Fanelli R.: *Am. Soc. Mass Spectrom.* 5, 1001 (1994).
48. Pérez Pavón J. L., Pena A. G., Pinto C. G., Cordero B. M.: *J. Chromatogr., A* 1047, 101 (2004).
49. Vreuls R. J. J., Dallüge J., Brinkman U. A. Th.: *J. Microcol. Sep.* 11, 613 (1999).
50. Hirsch R., Ternes T. A., Bobeldijk I., Weck R. A.: *Chimia* 55, 19 (2001).
51. Davis S. C., Makarov A. A., Hughes J. D.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 247 (1999).
52. Wollnik H., Becker R., Götz H., Kraft A., Jung H., Chen C.-C.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 130, L7 (1994).
53. Veriotti T., Sacks R.: *Anal. Chem.* 73, 3045 (2001).
54. Veriotti T., Sacks R.: *Anal. Chem.* 72, 3063 (2000).
55. Veriotti T., Sacks R.: *Anal. Chem.* 73, 4395 (2001).
56. Grim C. C., Clawson R.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 8, 539 (1997).
57. Dagan S., Amirav A.: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 133, 187 (1994).
58. Dagan S., Amirav A.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7, 737 (1996).

M. Kirchner and E. Matisová (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava*): **Present State and Perspectives of Fast GC-MS Application**

The review deals with current state and possibilities of the application of fast GC-MS to routine analyses. Different approaches to fast GC and GC-MS are discussed with regard to properties of analytical samples and analysis requirements. Potentials and limitations of most frequent MS instruments, such as quadrupole, ion trap and time-of-flight MS, are compared with regard to the requirements of fast GC. Robustness of different fast GC-MS approaches is also evaluated.

PŘÍRODNÍ BAREVNÉ LÁTKY

JANA ČOPÍKOVÁ^a, MICHAL UHER^b,
OLDŘICH LAPČÍK^c, JITKA MORAVCOVÁ^c
a PAVEL DRAŠAR^{c,d}

^a Ústav chemie a technologie sacharidů, FPBT, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Fakulta chemické a potravinářské technologie, STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^c Ústav chemie přírodních látek, FPBT, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^d Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6

Došlo 8.8.05, přijato 30.9.05.

Klíčová slova: přírodní barvivo, pigment, potravní doplněk, obnovitelné zdroje

Obsah

1. Úvod
 - 1.1. Přírodní barviva živočišná
 - 1.2. Přírodní barviva rostlinná
 - 1.3. Přírodní barviva minerální
2. Polyenová barviva
3. Chinonová barviva
4. Indolová barviva
5. Pyranová barviva
6. Oligopyrrolová barviva
7. Pteridinová barviva
8. Isochinolinová barviva
9. Ostatní barviva
10. Přehled potravinářských „éček“
11. Závěr

1. Úvod

Obecně můžeme barevné substance rozdělit na barviva, která obvykle bývají zpracovatelná ve formě právého či nepravého roztoku a dělí se proto často dále na barviva rozpustná ve vodě, rozpustná v organických rozpouštědlech, barviva disperzní, kypová, atd., a na pigmenty (obvykle nerozpustné, používané např. v suspenzi), a pod. V češtině je pojem barvivo poněkud širší než např. v angličtině (dye/ colorant), neboť často jsou termíny např. barvivo, barevná látka, pigment, zaměňovány.

Barevné látky absorbují část viditelného spektra elektromagnetického záření v rozsahu 380–780 nm. Pro použí-

tí látky jako barvivo či pigment je důležité, aby látka měla i dostatečně vysoký absorpční koeficient ($10\,000$ až $40\,000\text{ l mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$), aby byla dostatečně stálá (proti změnám fotochemickým, chemickým, k oxidaci, atd.) a v neposlední řadě, aby nebyla toxická.

Přírodní barviva jsou předmětem řady studií^{1–4}, nicméně, málokdo se zabývá chemismem těchto látek⁵. Samozřejmě, že se téměř v každé učebnici můžeme seznámit s principy barevnosti a spektroskopie. Zajímavé jsou internetové portály, kde se můžeme dozvědět často mnohem více^{6–11}. O barvičkách to pak platí ve významné míře^{12–23}, velmi užitečnými zdroji informací jsou i chemické encyklopedie^{24–26}.

Barviva můžeme dělit i podle barvy, chemického složení či struktury, způsobu vazby na materiál, biologické funkce v přírodním materiálu (chlorofyl, hemoglobin ...), fyzikálních vlastností (rozpustnost aj.) a podobně. V tomto článku se zaměříme na barevné přírodní látky, které jsou většinou sekundárními metabolity a přírodní barviva průmyslově významná a přidržíme se dělení podle chemických struktur.

1.1. Přírodní barviva živočišná

Nejdůležitějším klasickým barvivem získávaným z živočišných zdrojů je přírodní sepie, červenohnědá látka izolovaná z inkoustového vaku sépie obecné (*Sepia officinalis*) či obecně hlavonožců, barva, skládající se hlavně z melaminu. Německé jméno sepie Tintenfisch, inkoustová ryba, ukazuje, jak bylo v historii toto barvivo používáno, ještě před objevením inkoustu duběnkového.

Dalším barvivem je šarlatová či karmínová košenila z vnější krusty oplozených samiček mexického červce nopálového (*Dactylopius coccus* = *Coccus cacti*), žijícího na opuncii (nopal) a podobná, tzv. nepravá košenila, zvaná též alkermesová šťáva, červený prášek vyráběný ze zaslých samiček červce *Kermes ilicis* = *Coccus ilicis*, hmyzu žijícího na některých druzích ořešáků ve Středomoří a severní Africe. Byla dříve užívána hojně jako náhrada za mnohem dražší karmín z košenily. Tato červcová barviva obsahují hlavně karmínovou kyselinu.

Třetím příkladem známého živočišného barviva je tyrský purpur vyráběný z ulity ostranky *Murex*. Legendy tvrdí, že purpur objevila Helena Trojská, která při procházce po pobřeží viděla psa, který kousl do vyvrženého mořského živočicha, čímž se potřísnil purpurovou barvou. Jiná legenda praví, že papež Pavel II. v roce 1464 nahradil tyrský purpur mnohem lacinější nepravou košenilou.

1.2. Přírodní barviva rostlinná

Mnoho barviv je tradičně získáváno z kořenů, plodů, květů, kůry a listů různých rostlin. Červená barva z kořenů mořeny barvišské (*Rubia tinctorum*) je v Evropě používána

údajně již od r. 800, další byla získávána z brazilského dřeva (*Caesalpinia echinata*), červené řepy (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *vulgaris*), medvědice lékařské (*Arctostaphylos uva-ursi*) a světlice barviřské (*Carthamus tinctorius*). Zajímavým příkladem je i červený orcein, získávaný provzdušňováním amoniakálního extraktu z mechů *Rocella tinctoria*, *Ochrolechia tartarea* aj. Známe je i oranžové barvivo z blizen šafránu (*Crocus sativus*); jehož cena odpovídá tomu, že na 1 kg suchého kořene je třeba sto tisíc květů. Zdrojem žlutého barviva býval heřmánek (*Matricaria recutita* či *Chamomilla recutita*), vítod hořký krátkokřídý (*Polygala amara* subsp. *brachyptera*) či kručinka barviřská (*Genista tinctoria*) a hnědou poskytovala henna (*Lawsonia inermis*). Zdrojem zelené barvy může být šafrán a boryt barviřský (*Isatis tinctoria*), rdesno ptačí (*Persicaria maculosa*), rdesno červinec (*Polygonum persicaria*), listy šťovíku kyselého (*Rumex acetosa*), kopřiva dvoudomá a žahavka (*Urtica dioica*, *Urtica urens*) a ambrosie peřenolistá (*Ambrosia artemisiifolia*), kde půjde hlavně o chlorofyl. Modrou poskytne boryt barviřský (*Isatis tinctoria*) a indigo z indigovníku (*Indigofera tinctoria*).

Rostlinná barviva bývala v historii získávána, a jsou získávána v řemeslné praxi většinou i dnes, po roztlučení či rozřezání barevného materiálu, který byl louhován ve vodě zahřáté těsně pod teplotu varu; za této teploty byly barveny různé hmoty (tkaniny, vlákna) do roztoku ponořené. Často bylo při barvení používáno mořidlo, obvykle sůl, které usnadňuje vazbu barevné substance na barvený materiál pomocí nekovalentních vazeb různého druhu. Typickým mořidlem může být směs síranu hlinitého a kyselého vinanu draselného. Pokud jsou jako mořidla použity soli obsahující chrom, měď, cín či železo, může dojít k vybarvení materiálu i na změněnou barvu či odstín.

V současné době se některé látky z typů zde popisovaných dokonce využívají v rostlinné produkci např. jako přírodní antioxidanty²⁷, kde příkladem mohou být anthokyanová barviva z brambor²⁸. Jiným příkladem může být studium inhibice aldoseduktasy (EC 1.1.1.21, ALR2) rostlinnými chalkony²⁹, případně studium některých zde uvedených pyranových barviv jako fytoestrogenů³⁰.

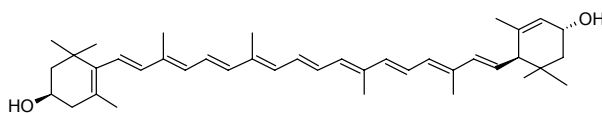
1.3. Přírodní barviva minerální

Nejběžnějším minerálním barvivem je okr, směs jílovitých hlín s charakteristicky barevnými oxidy. Jeho barva kolísá od typické okrové či světlé sieny s oxidem hořečnatým až po červenou s limonitem až hematitem. Tmavá umbra obsahuje oxid manganatý. Jako bílé pigmenty se používají vápenec, oxid titaničitý, podobně jako černé pigmenty saze a uhlík, zelené pigmenty malachit, modré pigmenty azurit a tyrkys a červené pigmenty rumělka a čisté oxidy a hydroxidy železa.

Pigmenty se používaly jako suspenze ve vaječném bílku, vodě, tuku či oleji. I zde se používaly nejrůznější příměsi, které zlepšovaly vazbu pigmentu na barvený materiál.

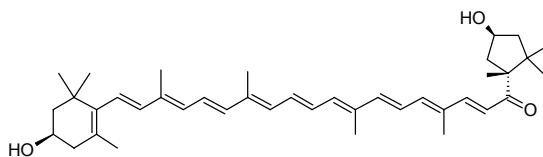
2. Polyenová barviva

Polyenová barviva jsou typicky lineární nenasycené konjugované uhlovodíky a jejich deriváty s většinou dvojných vazeb v konfiguraci *trans*. Jsou nerozpustné či prakticky nerozpustné ve vodě. Z nich patří k nejdůležitějším žlutý lutein, který se vyskytuje ve vaječném žloutku a měsíčku lékařském (*Calendula officinalis*) či hojně v Mexiku pěstovaném afrikánu (*Tagetes lucida*), jehož se ročně sklídí 600 tisíc tun ve formě barevné moučky.

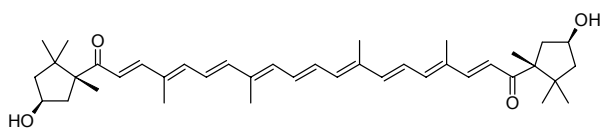


lutein

Barviva přítomná v lusech papriky (*Capsicum annuum*) jsou směsí karotenoidů, ve kterých převládá kapsanthin a kapsorubin. Tato barviva jsou v oleji rozpustná, stálá k teplu a pH; nejsou však stálá k působení světla. Sušený paprikový lusk se používá jako barvivo a koření a ročně se jej odhadem vyrobí 45 tisíc tun.

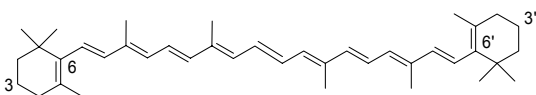


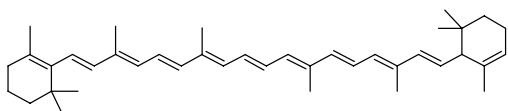
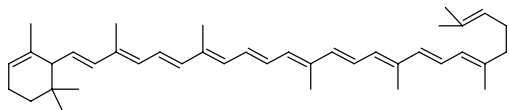
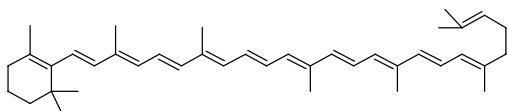
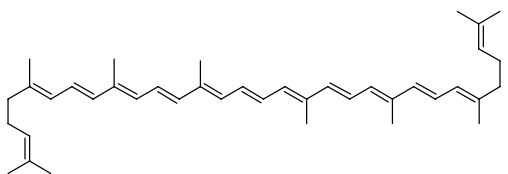
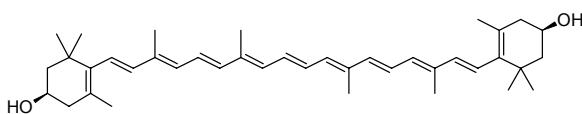
kapsanthin



kapsorubin

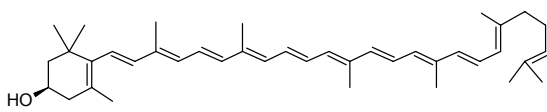
Karoteny patří jak k významným přírodním oranžovým barvivům, tak k důležitým složkám naší stravy (provitaminy). Jak vidno z uvedených vzorců, příliš se od sebe neliší. β -Karoten patří k nejběžnějším, vyskytuje se v mrkvi (*Daucus carota* subsp. *sativus*) a patří k významným potravinářským barvivům (λ_{\max} 497, 466 nm). Směs karotenů je označována jako E160a. Ukažme si na několika případech těchto látek diverzitu této knihovny sekundárních metabolitů

 β -karoten

 α -karoten δ -karoten γ -karoten ψ -karoten

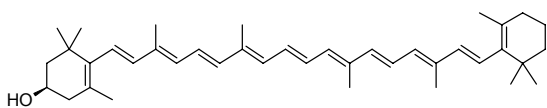
zeaxanthin

Zrna kukuřice (*Zea mays*) obsahují žluté barvivo zeaxanthin (λ_{\max} 483, 451 nm), velmi podobné luteinu; oba se používají jako antioxidanty. Podobně plody šípku (*Rosa canina*) obsahují červený rubixanthin (λ_{\max} 509, 474, 439 nm).



rubixanthin

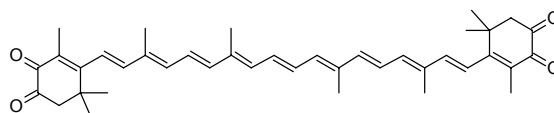
Kryptoxanthin z vaječného žloutku, obilí či plodů jahodníku (*Fragaria vesca*) je opět žlutý (λ_{\max} 480, 452 nm).



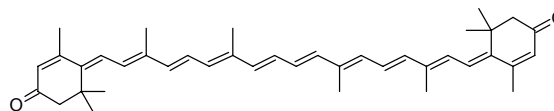
kryptoxanthin

Krásnou červenou barvu některých řas, mořských hub, ryb, uvařených krabů a humrů (*Homarus*) způ-

sobuje astacen (astacin) o λ_{\max} 500 nm. Toto polyenové barvivo (CAS RN 514-76-1) je v literatuře často podle názvu zaměňováno za metalloproteinasu HMP1 astacin (CAS RN 143179-21-9) z podobného zdroje, langusty *Astacus astacus*.

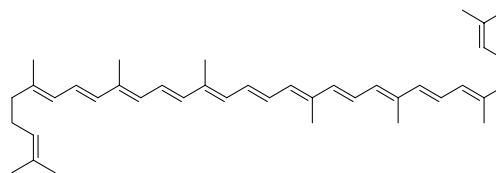


astacen



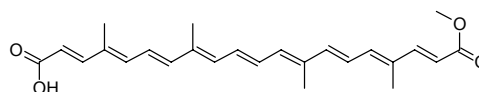
rhodoxanthin

Oranžovo-žlutý rhodoxanthin, který barví podzimní listí a je obsažen v jedovatých semenech tisu (*Taxus baccata*) a v řase *Chlorella* sp., nalezneme i v říši živočišné, např. v barvivech křídel některých holubů.



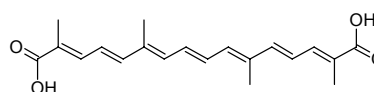
lykopen

Červený lykopen je příkladem nesubstituovaného polyenu. Je základním barvivem rajčete jedlého (*Lycopersicon*), λ_{\max} 505, 472, 446 nm.

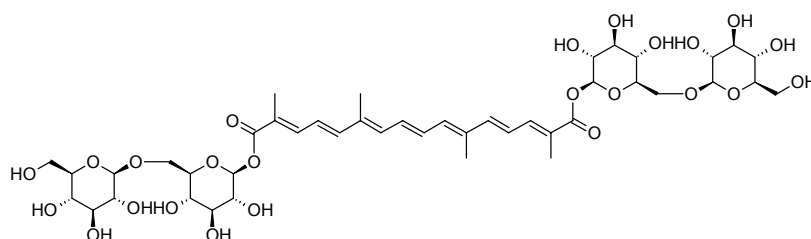


bixin

Annatto (annato) je červené, oranžové až zlatožluté barvivo ze semen tropického keře *Bixa orellana*. Hlavní barevnou složkou je bixin (*cis*-bixin λ_{\max} 509, 475, 443 nm), monomethylester kyseliny diapokarotenové. Přítomen je i demethylovaný produkt norbixin, který se nalézá v pryskyřičnatém obalu obklopující semeno. V minoritních množstvích jsou přítomny i *trans*-bixin a *cis*-norbixin. Keř annatto je doma ve střední až jižní Americe, kde se semena používají jako koření. Objem světové roční produkce je odhadován na 10 tisíc tun, je používán jako potravinářské barvivo E160b.

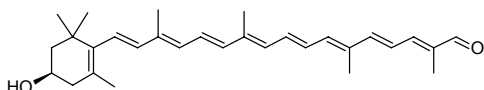
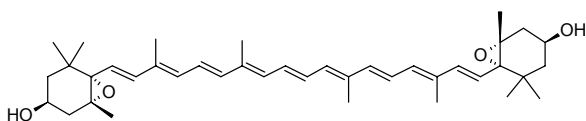


krocetin



krocín

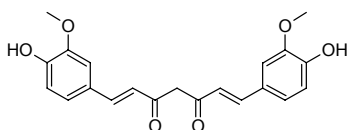
Krocín (krocetin bis-gentiobiosid, λ_{\max} 464, 434 nm) se vyrábí z extraktu z vodorozpuštěného barviva z gardénie jasmínové (*Gardenia jasminoides*) a z červených pestíků šafránu (*Crocus sativus*). Barviva nejsou obchodně záměnná, neboť cena šafránu, ale i jeho vůně je v případě přírodního materiálu hodnocena velmi vysoko, protože jde o nejdražší koření na světě. Deglykosylovaný oranžový krocetin je vlastním nositelem barevnosti a je již nerozpustný ve vodě, λ_{\max} 464, 436, 411 nm. Odhad světové roční produkce koření šafránu je 50 tun.

 β -citraurin

violaxanthin

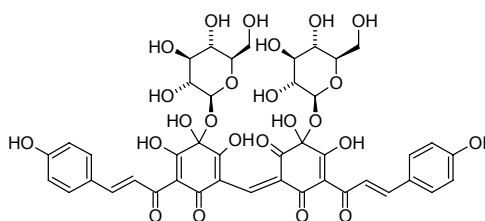
β -Citraurin zlatožlutý, λ_{\max} 497, 467 nm, zvaný též sladká oranž či oranž „navel“, je karotenoidní barvivo nacházející se pouze v oplodí a plodech pomerančovníku (*Citrus sinensis*). Dalším barvivem ze slupek pomeranče je oranžovožlutý violaxanthin (λ_{\max} 471, 442, 417 nm).

Kurkumin je nejvýznamnější barvivo nacházející se v oddenku kurkumy (*Curcuma longa*). Kurkuma je koření používané po mnoho tisíc let a my je známe jako žluté barvivo (E100) z koření kari. Pěstuje se v Indii, Číně a Pakistánu; prodává se jako jemně mletý sušený oddenek, který má kromě charakteristické barvy i významnou vůni. Světový obrat se odhaduje na 15 až 20 tisíc tun za rok. Lipofilní žlutooranžový kurkumin není rozpustný ve vodě a má λ_{\max} 425 nm. Označuje se též jako přírodní žlut 3 anebo turmeric yellow. Používá se i v medicíně jako protizánětlivý prostředek a nově i pro potlačování projevů (demencí) Alzheimerovy choroby.



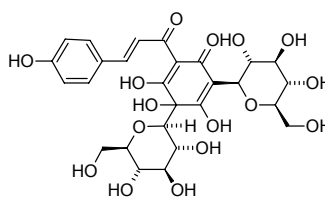
kurkumin

V přírodní kurkumě se vyskytují i sloučeniny bez jedné či obou methoxyskupin, demethoxykurkumin a bisdemethoxykurkumin.

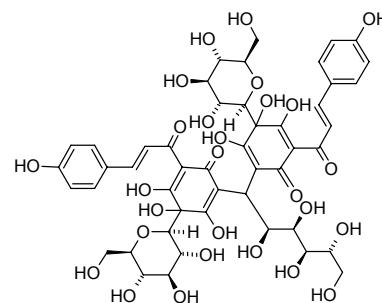


karthamin

Strukturně je polyenovým barvivům vzdáleně příbuzný i karthamin, který tvoří přirozený přechod mezi nimi a chalkony. Jeho zdrojem je světlice barvířská neboli saflor (*Carthamus tinctorius*), což je prastará kulturní olejnatá rostlina pocházející z východní Indie. Znali ji už staří Egypťané, Řekové a Římané. V polovysychavém oleji dominuje kyselina linolová (někdy nazývaná, zřejmě nesprávně, i vitamín F) a olej je tedy velmi vhodný pro lidskou výživu. Historicky se světlice používala v barvířství, dnes je její použití spíše okrajové. Květy obsahují tři hlavní glykosidová barviva: ve vodě téměř nerozpustný šarlatově červený karthamin a rozpustné „saflorové žlutí“ A



saflomin A



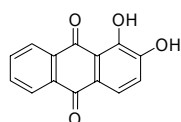
saflomin B

a B, tzv. saflomin A a B. Je zajímavé, že anglický termín pro označení byrokracie „red tape“ má původ v safloru, který se používal k barvení červených stužek užívaných ke svazování úředních spisů. Karthamin není stabilní na světle. Používá se na barvení tkanin (vlna a hedvábí), potravin, na výrobu líčidel a malířských barev. Někdy se používá na barvení rýže, cukrovinek a pečiva.

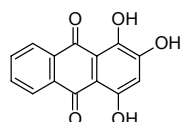
3. Chinonová barviva

Patří mezi barviva s dlouhou historií. Vzhledem k struktuře, která je často velmi rozmanitá, můžeme předchozí barviva, tj. karthamin a saflominy, považovat i za deriváty s chinoidní strukturou.

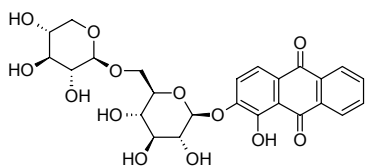
Jedním z hlavních zástupců této skupiny je alizarin, který se vyskytuje ve formě glykosidu (6'-*O*- β -D-xylopyranosyl- β -D-glukopyranosidu, tzv. ruberythrinové či ruberythrové kyseliny a je tudíž jakožto konjugát rozpustný ve vodě) v evropské mořeně barvířské (*Rubia tinctorum*) spolu s purpurinem, který je převážnou barevnou složkou mořeny rostoucí v Indii. Izolace vyžaduje hydrolyzu glukosidového prekurzoru obsaženého v kořenech. Alizarin poskytuje intenzivní červenou barvu po interakci s mořidlem, jímž bývá alkalický sulfát (alum, často *Alumen album* sulfát [kamenec] hlinito-draselný) a alkálie. Podle kationu mořidla je vybarvení materiálu různé od červené, fialové, oranžové, přes lila až ke hnědé. Důležitost přírodního alizarinu byla snížena jeho syntézou (prvč syntetizované barvivo, již 1868). V přírodě se vyskytuje i v plevelu zvaném svízel povázka (*Galium mollugo*) a svízel vonný (*Galium odoratum*). Alizarin, dnes vyráběný uměle, se užívá na barvení textilií, tapet nebo jako malířská barva.



alizarin



purpurin

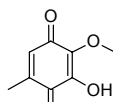


ruberythrinová kyselina

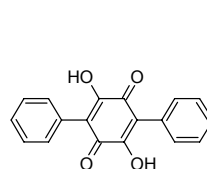
Alizarin je fenolická (kyselá) sloučenina, která může v závislosti na bazicitě prostředí ztrácet jeden nebo dva protony, a měnit tak uspořádání elektronů a v této souvislosti i barevnost. Při pH pod 10 dochází k deprotonaci hydroxylů v poloze 1 a 2 a látka se jeví v roztoku jako fialová (λ_{\max} 565 a 610), při pH kolem 7 je deprotonována

pouze hydroxyskupina v poloze 1 a látka se jeví jako červená (λ_{\max} 530). V prostředí kyselejších než pH 5,5 je oranžová (λ_{\max} 435) s tím, že obě hydroxyskupiny jsou protonovány. Alizarin je tedy příkladem acidobazického indikátoru.

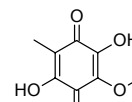
Jednoduché barevné chinoidní sloučeniny se vyskytují v některých plísniích. Hnědý plísníový toxin s antibiologickými vlastnostmi fumigatin se vyskytuje v *Aspergillus fumigatus*. Bronzově purpurový spinulosin je sekundárním metabolitem *Penicillium spinulosum*.



fumigatin



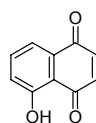
polyporová kyselina



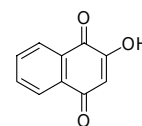
spinulosin

Příbuzná je temně fialová polyporová kyselina z *Polyporus viduans*, parazitické houby rostoucí na dubech.

Ořešáky, náš vlašský *Juglans regia* a příbuzné jako *J. cinerea*, *J. nigra*, či americké pekany *Carya illinoensis* a hikory *C. ovata*, obsahují zejména ve slupce ořechu volný juglon a jeho glykosid, případně glukosid trihydroxynaftalenu, který po hydrolyze a oxidaci přechází na juglon, tmavé barvivo, používané k barvení na odstíny růžové a hnědé. Toto naftochinonové barvivo je známé také jako juglandová kyselina či nucin; krystaluje jako žlutooranžové krystaly (λ_{\max} 420) rozpustné v benzenu, alkoholu a etheru, ale velmi špatně ve vodě. Krystaly se působením alkálií barví do tmavofialova a snadno se rozkládají. Každý, kdo někdy loupal vlašské ořechy, ví, jak dobré je juglon barvivo. Je sice mírně toxický, ale používá se ke stabilizaci nealkoholických nápojů, do opalovacích krémů a šamponů.



juglon

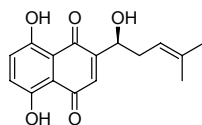


lawson

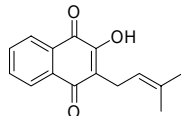
Strukturálně příbuzným naftochinonem je lawson, který je hlavní barevnou složkou tradičního barviva henna (hena), což je prášek z mletých sušených listů a výhonků keře *Lawsonia inermis*. Barviva z henny jsou známa tím, že velmi dobře absorbují ultrafialové záření ze slunečního světla. Henna je známa i tím, že si s ní prorok Mohamed údajně barvil vousy. Dnes se používá pro barvení vlasů a ornamentální tetování barví na odstín hnědé či červeno-hnědé. Roční světová produkce henny je 9 tisíc tun.

Dalšími významnými barvivy jsou barviva z kamejníkového (alkanetového) kořene *Alkanet radix*.

Ten obsahuje červené barvivo alkannin (anchusin, alkanetová červen) používané v Evropě již od pradávna. Přípravuje se z kořene kamejníku barvířského *Alkanna tinctoria*, či orchanetu *Lithospermum tinctorium* jako barvivo pro kosmetické a potravinářské účely.

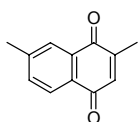


alkannin



lapachol

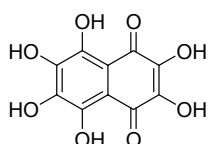
Strukturně příbuzný je žlutý lapachol z tropických dřev stromů *Tabebuia impetiginosa* a jiných zástupců r. *Tabebuia*, který má také antineoplastické vlastnosti.



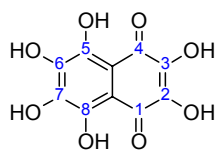
chimafilin

V plodu šeferdie kanadské (*Shepherdia canadensis*) se nachází žlutý naftochinon chimafilin.

Zajímavá skupina benzochinonů je z mořské fauny. Spinochromy (ze „spino“ pro páteř a „chrome“ pro barva) jsou získávány z mořských ježků (*Strongylocentrotus droebachiensis*, *Eucidaris tribuloides*). Jejich struktura je odvozena od spinochromu E, který je substituován či zbaaven hydroxyskupiny. Sám spinochrom E má λ_{\max} 533, 497, 462 nm. Ve výsledku má např. *Eucidaris tribuloides* nádherně purpurovou barvu.

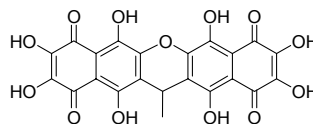
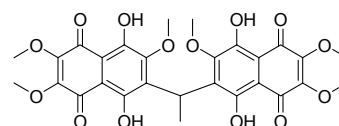


spinochrom E a číslování atomů



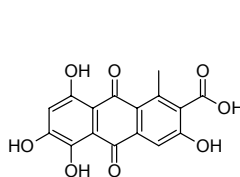
Jak spinochrom D postrádá hydroxyskupinu v poloze 7, tak spinochrom C má acetylovanou skupinu v poloze 3, echinochrom A má v poloze 7 místo hydroxyskupiny ethylovou, dehydroechinochrom má v poloze 7 místo hydroxyskupiny ethylovou a hydroxyly v polohách 2 a 3 jsou oxidovány na ketoskupinu. Trimethylechinochrom A má hydroxyly v polohách 2, 3 a 6 methylovány a v poloze 7 místo hydroxyskupiny ethylovou. Zdvojené spinochromy jsou přítomny také. Zajímavostí těchto sloučenin je, že pomocí snadno deprotonizovatelných hydroxyskupin mohou tvořit stabilní soli.

Košenila, zvaná též šarlat, karmín či magenta, je červené barvivo, použitelné i bez mořidel. Užívá se pro barvení na červenou, růžovo a purpurovo. Jde o přírodní substanci, získanou, jak již bylo řečeno, z rozdrčených těl oplodněných samečků hmyzu červce nopálového (*Coccus cacti* či *Dactylopius coccus*), který žije na opuncích v Mexiku a střední Americe.

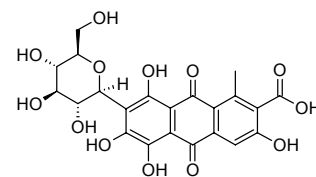


zdvojené spinochromy

Stejně barvy objevili archeologové v 1800 let staré textílii nalezené v Judské poušti. Mayové a Inkové používali toto barvivo ještě před tím, než byl hmyz pěstován uměle. Celková roční produkce tohoto druhu hmyzu je v současné době 300–350 tun. Je jednou z mála povolených krásně červených potravinářských barev (E120) a barví se jí např. nápoj Campari. Obsahuje dvě hlavní barevné látky: kyselinu kermesovou (λ_{\max} 498 nm), která je fialovočervená v kyselině sírové, modrá v kyselině borité a fialová v alkalickém prostředí, a kyselinu karmínovou, černočervenou ve vodě a žlutou až fialovou v roztocích kyselin. Kyselina karmínová je z hlediska organické chemie jeden ze zástupců tzv. „C-glykosidů“ v přírodě.



kyselina kermesová

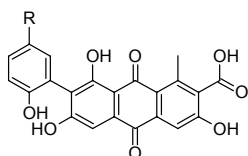


kyselina karmínová

Alkermesová šťáva, kermesové („chermes“) barvivo šarlatové či karmínové barvy, tzv. nepravá košenila, je červený prášek vyráběný ze zaschlých samečků červce *Kermes ilicis* (dříve označovaný *Coccus ilicis*) hmyzu žijícího na některých druhích dubů v Evropě. Byla dříve užívána hojně jako náhrada za drahé barvivo karmín, např. i starými obyvateli Judeje a Římany. Chemická literatura zde mnoho nenapoví, neb existuje značné zmatení a propletení pojmů; nejpravděpodobnějším barvivem, obsaženým v *Coccus ilicis*, je kyselina kermesová, která je v řadě seriálních literárních pramenů označována synonymem kermes. Někdy je uváděna jako komponenta i kyselina xanthokermesová. Významný rozdíl mezi kermesem a košenilou lze nalézt v tom, že kermes je označován jako C.I. Natural Red 3 (podle CAS RN 18499-92-8, kyselina kermesová) a košenila C.I. Natural Red 4 (podle CAS RN 1260-17-9, kyselina karmínová). Pro dovršení zmatku je znám v literatuře i minerální kermes, jímž je sulfid antimonitý a výrazem „kermes“ je také označován malý, stálezelený evropský dub *Quercus coccifera*, na kterém červec žije.

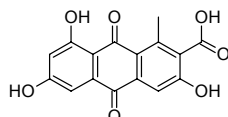
Strukturně příbuznými naftochinony jsou látky z tzv. lac, hmoty žlutočervené barvy získávané z výměšků indického hmyzu *Coccus laccae*. Světový obchod je zde menší

s pouhými 10 tunami ročně. Barvivo obsahuje lacaovou kyselinu A, B, C a D. Typy A–C se liší jen málo. Nejhojnější je typ A, zvaný též karmín.



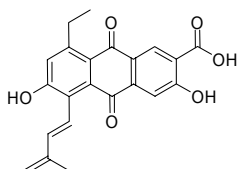
lacaová kyselina A–C

A, R = $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOCH}_3$
 B, R = $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
 C, R = $\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$



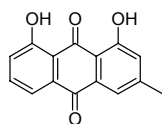
lacaová kyselina D

Lacaová kyselina D je zvaná též kyselina xanthokermesová a podobá se značně kyselině kermesové.

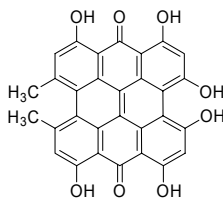


arpinková červeň

Penicillium oxalicum var. *Armeniaca* CCM 8242 z půdních vzorků produkuje arpinkovou červeň malinové barvy, která je velmi stabilní.



chrysofanová kyselina



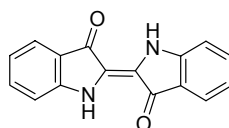
hypericin

Chrysofanová kyselina, barvivo z kořenů reveně bulharské (*Rheum rhaponticum*), se používá k barvení do žluta, oranžova a červena. Sama kyselina je žlutá (λ_{max} 436, 288, 278, 256 nm) a váže se dobře na keratin, proto se používá na barvení vlasů. V našich krajích rostoucí třezalka (*Hypericum*) obsahuje červené, fluoreskující barvivo hypericin, který může vyvolávat u dobytka citlivost na světlo.

4. Indolová barviva

Indigo, jedno z nejstarších člověkem používaných barviv, které bývalo významnou obchodní komoditou, je dnes vytlačeno syntetickými barvivy. Levi Strauss přestal barvit svoje montérky zvané „jeans“ indigem až v 19. století. Ročně se ho vyrobí z přírodních zdrojů asi 50 tun. Jeho zdrojem je indická rostlina indigoovník *Indigofera*

tinctoria, či *I. suffruticosa*, případně evropský boryt barvířský (*Isatis tinctoria*), kde se nachází ve formě glykosidu indikanu.



indigo

Struktura (2*E*)-2,2'-biindol-3,3'-(1*H*,1'*H*)-dionu je formálně příbuzná výše popsaným chinonům i proto, že se snadno zapojuje do oxidačně-redukčních reakcí. Toto zapojení má důsledek i praktický. Jeho redukováná forma (indigoběl) je rozpustná ve vodě a může tak být nanesena např. na látku. Materiál je na vzduchu usušen, indigoběl se oxiduje a zmodrá (Schéma 1). Tím, že je špatně rozpustné ve vodě, indigo zůstane na látce. Taková barviva označujeme jako kypová.

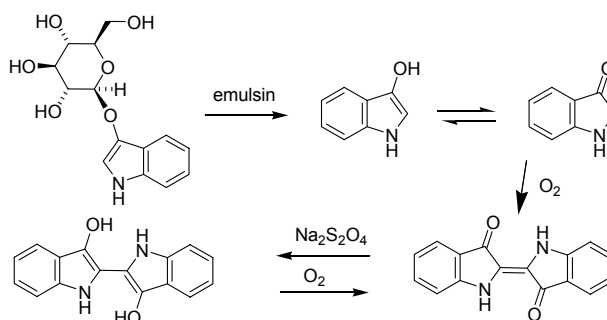
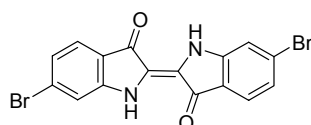


Schéma 1

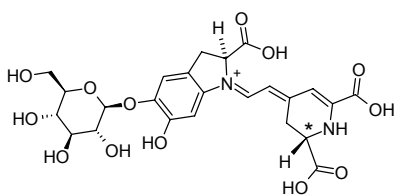
V literatuře je určitá neshoda, zda je indigo *trans* či *cis*. Chemical Abstracts uvádí pod CAS RN 482-89-3 *cis*-derivát jako přírodní indigo (indigotin), uvádí však indigo i pod číslem 68651-46-7, avšak bez uvedení struktury. Pod označením CAS RN 33934-64-4 je např. uvedeno *N,N'*-diacetylindigo avšak v konfiguraci *trans*. Výpočty molekulární struktury však prokázaly, že vypočtená struktura je blíže isomeru *trans*³¹.

Bromovaný derivát indiga, dibromindigo, je známé purpurové barvivo, tzv. punicin antický (tyrský purpur) z měkkýšů *Murex*. Tento, též zvaný císařský (imperiální) purpur, byl vyráběn již starými Fénici z ulit ostranek *Murex brandaris*, *Murex trunculus*, *Helix ianthina* nebo *Purpura lapillus*.

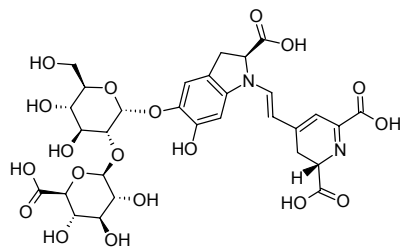


punicin

Dalším derivátem indolu je betanin z červené řepy (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *vulgaris*) E162, se kterým se běžně setkáváme např. v jogurtech, které mají vypadat jakoby obarvené borůvkami a podobně.



betanin

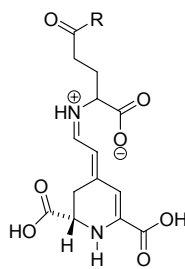


amarantin

Barvivo je sytě tmavočervené a lze jím barvit na odstíny rezavě červené až růžové. Barvivo není příliš stálé a časem bledne. Při pH běžných v potravinách nedochází ke změnám barvy. V kyselém prostředí pod pH 3,5 je betanin červenofialový (λ_{\max} 535 nm), v tomto rozmezí pH dochází ke změnám disociace a vytváření zwitteriontových struktur, při kterých však barva není významně ovlivněna. Při změnách pH mezi 3,5 a 7,0 se fialový tón prohlubuje (λ_{\max} 538 nm), což je spojeno s tím, že fenol za těchto podmínek deprotonuje. V alkalickém prostředí se dusík v šestičlenném kruhu při pH 9,0 až 10,0 zbavuje protonu a přechází z kvarterního na normální trojvazný; barva se změní na fialovou (λ_{\max} 544 nm). Deprotonace hydroxylů cukerné části v silně alkalickém prostředí (pH 12–14) na barevnost nemá vliv.

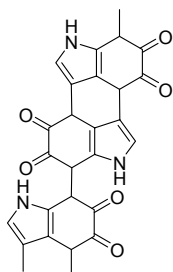
Vedle betaninu a isobetaninu (má opačnou konfiguraci na uhlíku označeném hvězdičkou) je v řepě přítomen ještě žlutý vulgaxanthin I a II.

Betaninu podobné červenofialové barvivo amarantin je z laskavce (amaranthu), který se pěstuje jako obilovina pro velmi jemný škrob a vysoký obsah bílkovin. U nás jsou známy ozdobné kultivary. Všechny jsou začleňovány do skupiny betacyaninů. Syntetické barvivo amaranth CAS RN 915-67-3 je však odlišné struktury.



vulgaxanthin

I, R = OH
II, R = NH₂

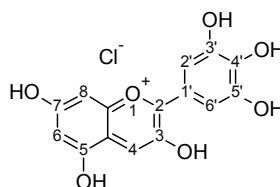


strukturní fragment melaninu

Mezi indolová barviva řadíme i melaniny, které způsobují tmavé zabarvení peří, kůže, šupin, očí, některých vnitřních membrán, kutikul hmyzu, hlíny a některých hub. Albíni melaniny netvoří.

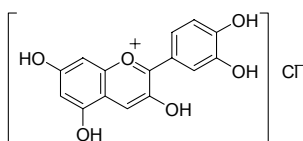
5. Pyranová barviva

K nejdůležitějším pyranovým barvivům patří anthokyaniny (lat. anthos – květ), obecně se vyskytující jako glykosidy, jejichž kombinace mohou být nejrůznější. Nejběžněji jsou glykosylovány v polohách 3 a 5, zřídka 7, 3' a 4'. Jejich barva je tmavá, např. červená, modrá a fialová. Jejich barevnost a barevná modifikovatelnost je jedním z divů přírody, která nás obklopuje. Zajímavé je i to, jakou bohatost barev dokázala příroda stvořit z několika aglykonů, které jsou různě konjugovány s cukernými zbytky. Jako cukerná složka se uplatní D-glukosa, L-rhamnosa, D-arabinosa, rutinosa (α -L-rhamnosyl-(1→6)-D-glukosa) a soforosa (β -D-glukosyl-(1→2)-D-glukosa).



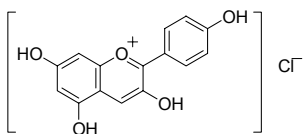
číslování anthokyanidinů

Kyanidin má v kyselém prostředí červenou barvu (květy růže *Rosa*, plody třešně *Cerasus avium*, brusinky *Rhodococcum vitis-idaea*, aj.) a v alkalickém modrou (chrpa modrák, *Cyanus segetum*), opět se zde uplatní známý efekt, kdy se změnou pH dochází k protonacím a deprotonacím a tím k přeskupování elektronů interagujících s fotony viditelného světla. Barevnost je v případě obdivovaných barev podzimního listí, ve kterém degraduje chlorofyl a vystupují m.j. karotenoidy, ovlivněna i komplexací s kovy a skládáním barevných molekul do supramolekulárních uskupení. Proto je paleta podzimu tak rozmanitá v závislosti na kyselosti a alkalitě půd a obsahů různých kationtů v nich.

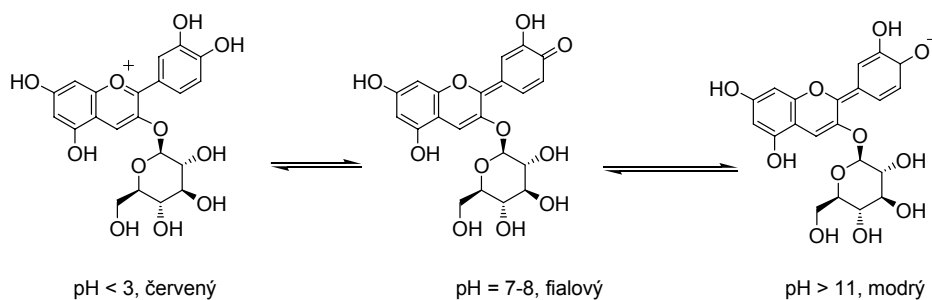
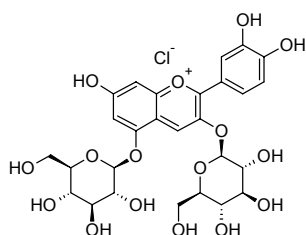


kyanidin

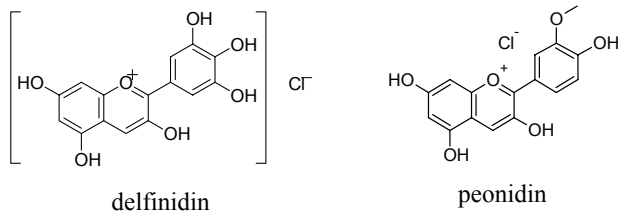
Jak je vidět z připojených vzorců, jsou tyto látky obvykle znázorňovány jako oxoniové soli. Může to být i proto, že jsou po izolaci z protického prostředí jako soli izolovány a takto i charakterizovány.



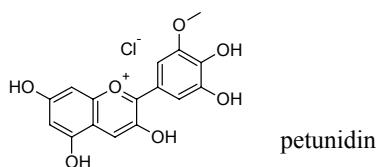
pelargonidin

3-*O*- β -D-glukopyranosylkyanidinkyanin, 3,5-di-*O*- β -D-glukopyranosylkyanidin

Dalšími zástupci anthokyaninů jsou červený pelargonidin z pelargonie *Pelargonium*, hnědý delphinidin z červeného vína a jeho temně purpurový glukosid myrtillin, poslední se vyskytuje též ve violce *Viola tricolor*.

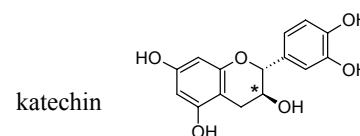
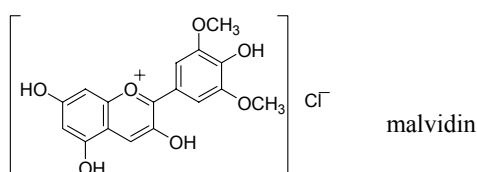


Peonidin z tmavočervených pivoňek *Paeonia officinalis*, je aglykonem peoninu. Peonidin je červenohnědý málo rozpustný ve vodě a jeho alkoholový roztok je purpurově červený. Šedohnědý petunidin z petúnií *Petunia hybrida* a vítodu hořkého krátkokřídlého (*Polygala amara* subsp. *brachyptera*) je aglykonem petuninu, který je v pevném stavu fialový s měděným leskem.



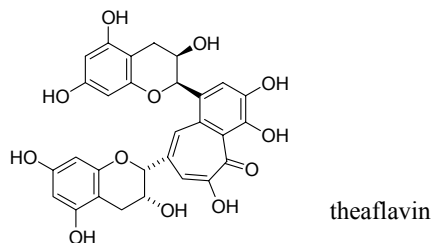
Malvidin se nachází ve formě červenohnědého diglukosidu malvinu v prvosenkách (*Primula*) a slézu lesním *Malva sylvestris* a jako monoglukosid v modrém hroznu z révy (*Vitis vinifera*). Po rozpuštění v methanolu je roztok

zprvu purpurový a postupně z něho vypadávají červené krystaly, které jsou však v procházejícím světle fialové.

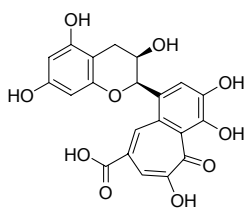


Podobně jako morin (viz dále) se v barevných dřevch vyskytuje světle růžový catechin, používaný proto, že na vzduchu hnědne, jako laciné hnědé barvivo. Tento flavonoid se nachází jako (+)-catechin spolu s isomerem (-)-epikatechinem (který je *cis*, tj. konfigurace hydroxyly je opačná). Nachází se v dřevě khadiru či gambiru *Acacia catechu* a dřevě mahagonu neboli svietenie *Swietenia*.

Světle růžový (-)-epikatechin je součástí listových flavanolů, které tvoří podstatnou část fenolických sloučenin v čaji vyráběného z listů kamélie čínské či čajovníku čínského *Camellia sinensis*, a které jsou odpovědné za charakteristickou barvu a chuť čaje. K dalším patří theaflavinová kyselina, theaflavin a jeho estery s kyselinou gallovou.

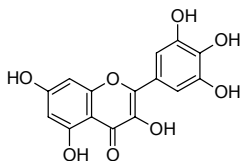


Anthoxanthiny jsou s anthokyaniny příbuzné tak, že v poloze 4 mají karbonylovou skupinu. Nejsou tak tmavé barvy, převážně jsou žluté (xanthos) až hnědé, někdy do oranžova. Jsou děleny na flavonoly a flavony, které navíc postrádají hydroxyl v sousedství karbonylu (v poloze 3). Přispívají k barevnosti řady rostlin, jejich plodů a dřev. Je

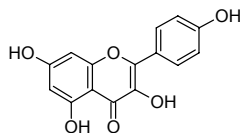


theaflavinová kyselina

všeobecně známo, že různá barva, vůně a tvar květů přitahuje jiný typ opylovačů, vztah mezi barvou květů a typem opylovače je alespoň částečně závislý na obsahu těchto barviv. Podívejme se nejprve na zástupce flavanolů.



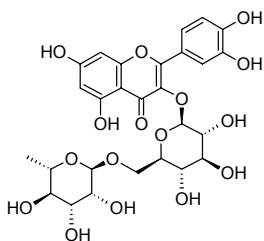
myricetin



kempferol

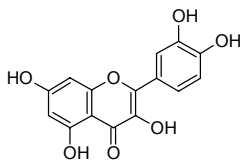
Myricetin a jeho 3-glukosid se nacházejí v rybízu (*Ribes*). Kempferol a jeho 3-glukosid přispívají k barevnosti plodů rybízu a broskvoně obecné (*Persica vulgaris*).

Kvercetin z vnitřní kůry dubu *Quercus velutina*, je oranžovohnědý a vyskytuje se také v chmelu, čaji, kaštanu jírovci maďalu. Je to aglykon rutinu z routy vonné (*Ruta graveolens*) a jeho biologická účinnost je velmi zajímavá, neb ovlivňuje průchodnost buněčné stěny. Rutin bývá označován jako vitamin P a používá se k léčení zvýšené lomivosti a propustnosti krevních vlásečnic, poruch funkce žil dolních končetin a při hemoroidech.

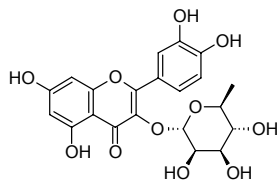


rutin

Rutin je světle žlutý a málo rozpustný ve vodě. Obsažen je i v řebříčku *Achillea* a jinanu dvoulaločném *Ginkgo biloba* či pohance seté (*Fagopyrum esculentum*) a mnoha dalších rostlinách.



kvercetin

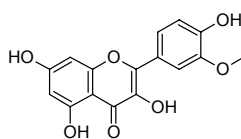


kvercitrin

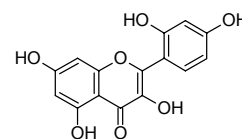
Kvercetin je aglykonem kvercitrinu; je glykosylován obvykle v poloze 3. Pokud je glykosylován D-galaktosou

najdeme jej v jabloni (*Malus domestica*), L-ramnosou tamtéž a navíc v švestce (*Prunus domestica*), révě vinné (*Vitis vinifera*) a jinanu, D-glukosou tamtéž a navíc broskvoni (*Prunus persica*), meruňce (*Prunus armeniaca*), švestce, třešni ptačí (*Cerasus avium*), rybízu.

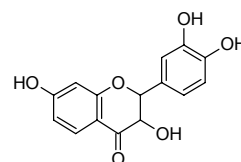
Kvercitrin je žlutooranžová látka izolovaná m.j. z jinanu, zřejmě nejstaršího dosud žijícího druhu stromů, podle geologických údajů druhu starého 150–200 mil let. Čínští mnichové jej považovali za svatý strom, protože jeho léčivé schopnosti jsou velmi zajímavé a droga se používá jako lék m.j. i při Alzheimerově chorobě. Jinan patří k nejlépe prozkoumaným léčivým drogám na světě, zřejmě pro svoje významné farmakologické účinky, za které zodpovídají zejména flavonoidy a terpenické sloučeniny. Kromě rutinu a kvercitrinu obsahuje listová droga jinanu kempferol a isorhamnetin.



isorhamnetin

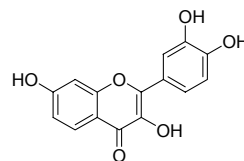


morin

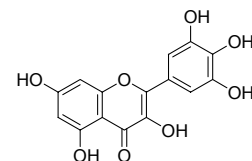


fustin

Morin je dalším zástupcem flavanolových barviv, který se nachází v dřevěch stromů a který se používá v chemické laboratoři. Postříkují se s ním destičky TLC, aby je bylo možno detegovat UV světlem. Morin v ultrafialovém světle fluoreskuje a tam, kde je na desce skvrna adsorbované látky, je tato fluorescence zhasena. Je rozpustný v alkoholu a používá se k barvení vlny. Jako příklady přírodního výskytu uvedme dřeva stromů chlebovníku žakii *Artocarpus heterophyllus*, makluře *Maclura pomifera*, fustiku *Chlorophora tinctoria* (také zvaném *Maclura tinctoria* anebo *Morus inctoria*) z Ameriky, a indické moruše *Morinda citrifolia* z Asie. Ve žlutém dřevě *Morus inctoria* se vyskytuje volně nebo ve formě vápenaté soli; vodný extrakt tohoto dřeva se používá k barvení cigaret a doutníků. V některých dřevěch se vyskytuje spolu s fustinem (dihydrofisetinem). Tato dřeva jsou dnes relativně vzácnými komoditami.

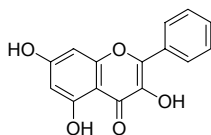


fisetin

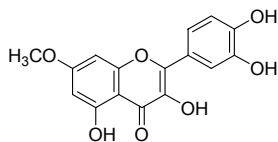


myricitrin

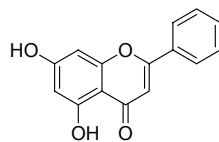
Žlutý flavonoid fisetin je přítomný v kůře a dřevě mnoha stromů; izolován byl např. z *Rhus cotinus*, ruj vlasatá. Žlutý myricitrin byl izolován z kůry myrty *Myrica nagi*.



galangin



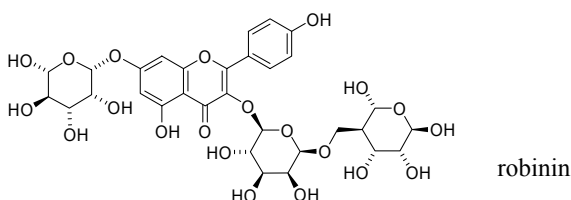
rhamnetin



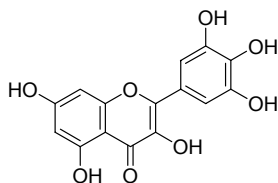
chrysin

Žlutý málo rozpustný ve vodě hesperidin, též zvaný cirantin, byl izolován z citrusů, citronů (*Citrus limon*) a pomerančů (*Citrus sinensis*). Hesperetin téže barvy je jeho aglykonem.

Lehce žlutý galangin je izolován z kořenů galangy, *Alpinia officinarum*. Žlutý rhamnetin je aglykonem xanthorhamninu, vyskytuje se v plodech řešetláku počistivého *Rhamnus cathartica*.



robinin

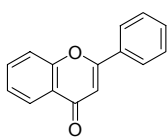


myricetin

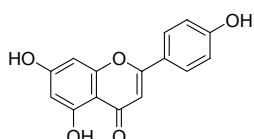
Žlutý robinin je dimorfní flavonoid izolovaný z listů a květů trnovníku (akátu) bílého *Robinia pseudacacia*. Žlutý myricetin se vyskytuje v kůře stromu *Myrica nagi*.

Další skupinou jsou flavanoly, jejich barva je obvykle také žlutá. Nejjednodušším zástupcem je flavon.

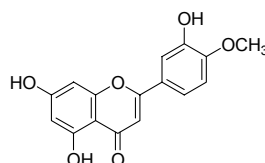
Žlutý (λ_{\max} 350, 405 nm), ve vodě nerozpustný flavon byl izolován z prvosenky žahavé *Primula malacoides*, Franch., apigenin téže barvy byl izolován z petržele *Petroselinum crispum*, celeru *Apium graveolens* a heřmánku *Matricaria recutita*.



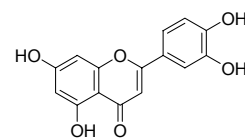
flavon



apigenin

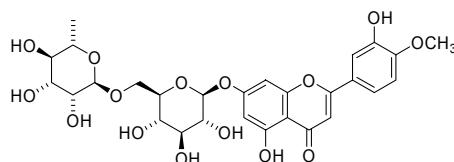


diosmetin



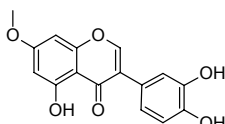
luteolin

Diosmin a jeho aglykon diosmetin jsou žluté látky, které se vyskytují např. v citronech *Citrus limon*. Strukturálně blízký demetylovaný žlutý luteolin, též zvaný digitoflavon, je ve formě 5-glukosidu, galuteolinu, izolován ze semen jestřabiny lékařské *Galega officinalis*, a žlutý luteolin 7-glukosid, zvaný cynarosid, se nachází v řebříčku obecném *Achillea millefolium*. Nať rýtu barvířského, rezedy (*Reseda luteola*) a kručinka barvířská *Genista tinctoria* v listech a květech obsahují žluté barvivo luteolin, které se používá k barvení látek (např. plátna a vlny).



diosmin

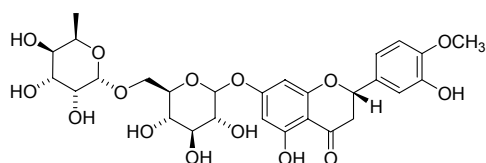
Výše zmíněný přírodní flavonový glykosid, rhamnoglykosid diosmetinu, je izolován z řady zdrojů, mimo citronovou kůru (*Citrus limon*) z routovité *Zanthoxylum avicennae* a květů novozélandského stromu jerlínu kowhai (pelu-pelu) *Sophora microphylla*.



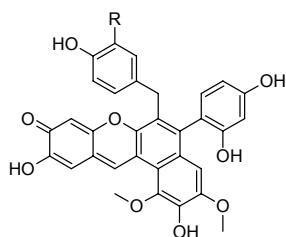
santal

Žlutý isoflavonový pigment santal je přítomen jako jedna z barevných látek v santalovém dřevě (*Santalum album*).

Dále se v santalovém dřevě nacházejí i červené santaliny, jimiž přecházíme ke složitějším pyranovým derivátům. Santaliny jsou jakožto fenoly rozpustné v alkáliích

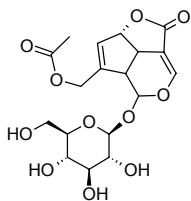


hesperidin

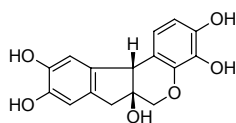


R= OH, santalin A,
R= OCH₃, santalin B

a organických rozpouštědlech, ve vodě nikoli. Roční světová produkce dřeva je 50 tun.

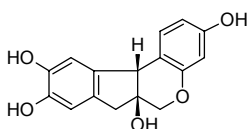


asperulosid

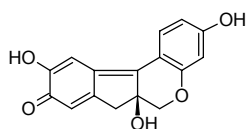


haematoxylin

Žlutý asperulosid zvaný též rubichlorová kyselina se nalézá ve svízeli vonném *Galium odoratum* a svízeli přítule *Galium aparine*. Vnitřní část dřeva stromu *Haematoxylum campechianum* obsahuje cca 10 % bezbarvé sloučeniny, haematoxylinu, který m.j. vyniká tím, že je 12 × sladší než sacharosa. Tato sloučenina na vzduchu oxiduje na červený až fialově modrý haematoxin (haematein). Světový roční obrat je cca 600 tun dřeva. Alkoholický roztok haematoxylinu (0,2 %) se používá jako indikátor. Je žlutý až oranžový v kyselých roztocích a purpurový v alkalických. Jeho roztok se také používá k barvení mikroskopických preparátů. Čerstvě připravený roztok haematoxylinu nebarví. Pokud je však oxidován na haematein, je možno jej použít s amoniakovým mořidlem, které urychluje zrání barviva, k barvení na červenou. Pokud takto obarvenou látku vypereme ve vodě, zmodrá.

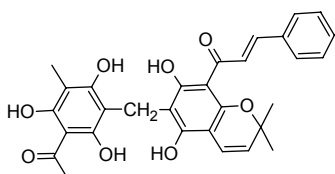


brazilin



brazilein

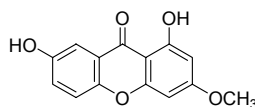
Americké dřevo „brazilwood“ *Caesalpinia echinata* obsahuje ve vodě rozpustnou sloučeninu, brazilin, která přechází oxidací na červené barvivo brazilein. Použitím různých mořidel lze barvit jeho pomocí na jasně červený odstín. „Brazilwood“ byl ve středověku jedním z nejdůležitějších barviv. Jeho sláva skončila v 19. století a dnes je jeho produkce zanedbatelná.



rottlerin

Stále zelený keř *Mallotus philippensis*, kamalský strom opičí tváře, vylučuje z plodů červený rottlerin, který lze izolovat i z kořenů této rostliny. Světová produkce tohoto kdysi populárního barviva není známa. Zařadit jej můžeme i mezi rostlinné chalkony.

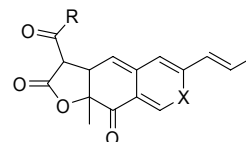
Na závěr této kapitoly uvedme vyšší homolog pyronu, xanthon a jeho deriváty. Patří k nim gentisin.



gentisin

Gentisin je světle žluté xanthonové barvivo z kořenů hořce *Gentiana* sp. o λ_{\max} 410, 315, 275 a 260 nm, které charakteristicky barví pravou slovenskou „koreňovici“.

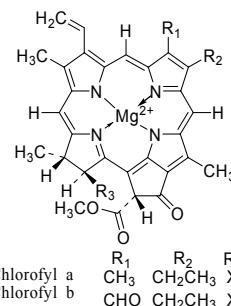
Zajímavé jsou přírodní barvy „Anka“ (ang-kak), které se používají v potravinářství, ovšem mimo Evropu a USA, mající původ v houbě *Monascus*, která se hojně vyskytuje v mnoha variacích, např. na bramborách, rýži a jiných potravinách.



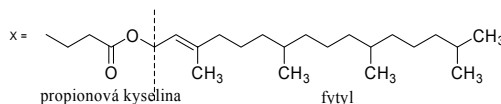
Vyskytují se v řadě variant, např. R = C₅H₁₁, X = O purpurový rubropunctatin, X = NH oranžový rubropunctamin, R = C₇H₁₅, X = O oranžový monascorubrin a X = N purpurový monascorubramin. Strukturně příbuzné ankaflavin a monascin jsou žluté.

6. Oligopyrrolová barviva

Mezi nejznámější oligopyrrolová barviva patří zelené chlorofyly z rostlin, jež se účastní fotosyntézy, a červený hem z hemoglobinu, který se účastní přenosu kyslíku. V organismu je hem vázán na bílkoviny, jako nař. globin přes histidinový zbytek.



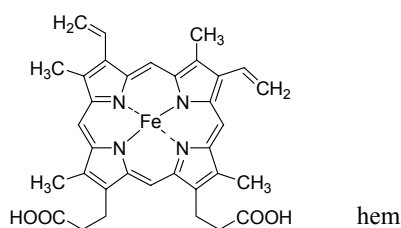
Chlorofyl a R₁ CH₃, R₂ CH₂CH₃, R₃ X
Chlorofyl b R₁ CHO, R₂ CH₂CH₃, R₃ X



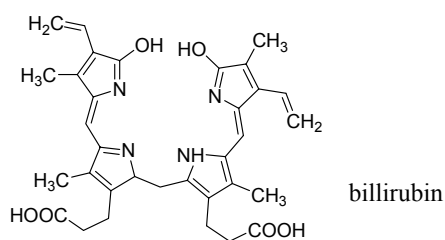
propionová kyselina

fytyl

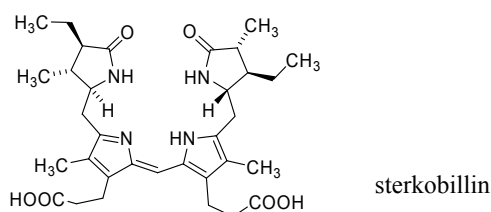
chlorofyl



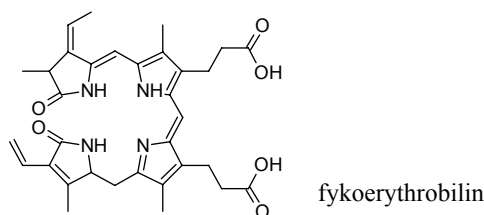
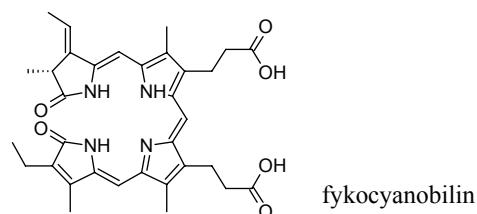
Hemoglobin je strukturně podobný myoglobin, což je jednořetězcový hemoprotein, sekvenčně i konformačně homologní s β -podjednotkou hemoglobinu. Myoglobin je část sarkoplazmatického proteinu svalu a je odpovědný za více než 90 % barevnosti masa. Jeho koncentrace ve sva-lech je proměnlivá. Je ve vodě rozpustný, též se rozpouští ve zředěných roztocích solí. V obou se na atom železa v hemu může vratně vázat molekula kyslíku.



Billirubin (píše se i s jedním l) je hlavní barvivo žluči, je oranžově červený a tvoří se oxidací hemu. Vyskytuje se konjugován jako glukuronid. Zelený billiverdin je také ze žluči.



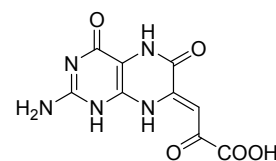
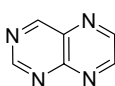
(-)-Stercobillin je jeden z oranžově žlutých urobillinů, který se tvoří ve střevě další obměnou metabolitů hemu.



Biliny fycocyanobilin a fycocerythrin jsou připojeny k cystinovému zbytku apoproteinu thioetherovou vazbou. Jsou to červená a modrá barviva ze tří oddělení řas, *Rhodophyta*, *Cyanophyta* a *Cryptophyta*. Jsou to chemicky tzv. tetrapyrroly s otevřeným kruhem, jsou děleny podle barevnosti na modré fycocyaniny, červené fycocerythrin a lehce modré allofycocyaniny. Tyto pigmenty z řas mají do budoucna velký potenciál jako přírodní barviva potravin, kosmetiky a léků. Fycocerythrin se používá jako fluorescenční značka v imunochémii.

7. Pteridinová barviva

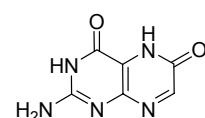
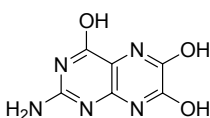
Skupina barviv patřících mezi pteriny je odvozená od bicycklického heterocyklu pteridinu. Prvý žlutý pigment byl izolován z křídel motýlů (řád *Lepidoptera*) již v roce 1889, skupina těchto pigmentů byla nazvána pteridiny (pteron = řecky křídlo). Poměrně vysoké koncentrace pterinů se nacházejí jako pigmenty u hmyzu, obojživelníků, plazů a ryb.



pteridin

erythropterin

Červený erythropterin a žlutý leukopterin jsou obsaženy v křídlech motýlů, barvě mloků a mořském planktonu.

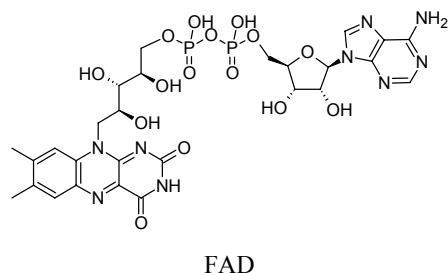
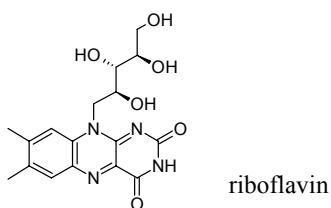


leukopterin

xanthopterin

Oranžový xanthopterin se kromě motýlích křídel vyskytuje i v krabech, hmyzu a lidské moči.

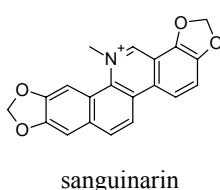
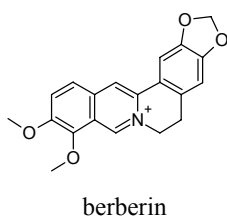
Riboflavinová žluť, derivát pteridinu, označovaná též jako E101 anebo vitamin B₂, fluorescenční žluté barvivo (*flavus* je latinsky žlutý), se volně nachází pouze v retině oka. Nalézá se v přírodním materiálu konjugovaná jako riboflavin monofosfát v játrech, tučných rybách (rybím tuku/oleji), mléčném tuku, tučných mléčných výrobcích, žlutcích, avokádu, ústřicích, ořechích, luštěninách, zrní,



brokolici, špenátu, chřestu a podobně; případně se vyskytuje také jako flavinadenindinukleotid (FAD).

8. Isochinolinová barviva

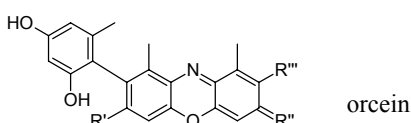
Kořen krvavěnky *Sanguinaria canadensis* se již v prehistorických dobách používal k barvení na oranžovo, růžovo a červeno. Krvavě červenou šťávu můžeme dostat z oddenku rostliny.



Šťáva obsahuje isochinolinové alkaloidy, jmenovitě sanguinarin (bezbarvý alkaloid, jehož soli jsou červené; je antimikrobiální a účinkuje proti plaku) a řadu dalších, včetně žlutého berberinu. Jedovatý berberin je obsažen také v keři dříví šálu obecném (dráči) *Berberis vulgaris*, vlašovičniku větším *Chelidonium majus* (se sanguinariem) a orlíčku obecném *Aquilegia vulgaris*.

9. Ostatní barviva

Orcein je směsí látek s fenoxazonovou strukturou typu hydroxy-orceinů, amino-orceinů a amino-orceiniminů, z nichž např. derivát $R', R'' = OH$, $R''' = H_2$, se nazývá α -hydroxyorcein.



Orcein a orchil jsou barviva z tzv. archilu, lišejníků *Rocella tinctoria*, *Ochrolechia tartarea* (syn. *Lecanora tartarea*), *Everina prunastri*, z druhů *Parmelia*, *Umbilicaria* a *Lasallia*. Obecně jde o směs červených, purpurových a fialových barviv, získávaných z lišejníků působením amoniaku.

10. Přehled potravinářských „čček“

Vzhledem k tomu, že nás přírodní i syntetická barviva obklopují ze všech stran, je jejich použití v mnoha výrobcích regulováno. Znakem takové regulace je jednak evidence povolených barviv a na straně druhé stanovení povolených koncentrací. Z důvodů snadné evidence mají potravinářské barvy přiděleny evidenční symboly, které je charakterizují. Uvádíme seznam těchto symbolů s uvedením významu.

E100, kurkumin; E101, riboflavin (vitamin B1) a riboflavin-5'-fosfát; E102, tartrazin; E104, chinolinová žluť; E107, žluť 2G; E110, oranžová žluť S (žluť SY); E120, karmín pravý (košenila); E121, citronová červeň 2; E122, azorubin; E123, amarant; E124, košenilová červeň A (ponceau 4R); E127, erytrosin; E128, červeň 2G; E131, patentní modř V; E132, indigotin (indigokarmín); E133, brilantní modř FCF; E140, chlorofyly (i) a chlorofyliny (ii); E141, chlorofylové (i) a chlorofylinové (ii) komplexy s obsahem mědi; E142, brilantní zeleň kyselá (lisaminová zeleň); E143, fast green FCF (stálá zelená); E150, karamel; E151, černá brilantní BN; E153, medicínální uhlí; E154, hněd FK; E155, hněd HT; E160a, alfa, beta, gama-karoten (provitamin A); E160b, bixin, norbixin (Annato, Orlean); E160c, kapsantin (kapsorubin, paprikový extrakt); E160d, lykopen (rajčatová žluť); E160e, beta-apo-8-karotenal; E160f, ethylester kyseliny beta-apo-8-karotenové; E161a, flavoxantin; E161b, lutein; E161c, kryptoxantin; E161d, rubixantin; E161e, violaxantin; E161g, kantaxantin; E162, betanin (červeň z červené řepy); E163, antokyany; E166, santalové dřevo; E170, uhličitán (i) a hydrogenuhličitán (ii) vápenatý; E171, oxid titaničitý; E172, oxidy a hydroxidy železa (hnědý, červený, žlutý, černý); E173, hliník; E174, stříbro; E175, zlato; E180, rubínový pigment (litholrubin BK).

11. Závěr

Nahlédnutí do kuchyně přírody, která v nepřeberné knihovně sekundárních metabolitů stvořila i látky, které jsou barevné a jako barviva i často slouží, je drobnou pomůckou, která může být významná pro potravinářského, farmaceutického (jak je např. uvedeno v odstavci 1.2.), či kteréhokoliv chemika, neboť může napomoci širšímu využití citovaných látek v rámci „obnovitelných zdrojů“ zelené chemie. Výčet barviv zde uvedených je nutno brát jako ukázkou několika zajímavých příkladů ilustrující nepřebernou krásu chemie přírodních látek, které mohou být považovány za typické příklady, a nikoli jako vyčerpávající

přehled. Pro další informace odkazujeme na uvedené literární zdroje. QBFFFQS.

Autoři tímto děkují MŠMT za podporu v rámci výzkumného záměru č. MSM6046137305. Dále děkují doc. RNDr. Lubomíru Opletalovi, CSc. za významnou pomoc se správnou botanickou nomenklaturou.

LITERATURA

- Dean J.: *The Craft of Natural Dyeing*. Search Press (1995) ISBN: 0855327448.
- Liles J. N.: *The Art and Craft of Natural Dyeing: Traditional Recipes for Modern Use*. University of Tennessee Press, Knoxville (1990) ISBN: 0870496700.
- Buchanan R.: *A Dyer's Garden: From Plant to Pot Growing Dyes for Natural Fibers*. Interweave Press, Loveland (1995) ISBN: 1883010071.
- McRae B. A.: *Colors from Nature: Growing, Collecting and Using Natural Dyes*. Garden Way Publishing Co Pownal (1993) ISBN: 0882667998.
- Epp D. N.: *The Chemistry of Natural Dyes (Palette of Color Series)*. Terrific Science Press, Middletown (1995) ISBN: 1883822068.
- <http://spectra.galactic.com/SpectraOnline/about/collections.htm>, staženo 15.10.04.
- http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/sdbs/owa/sdbs_sea_cre_frame_sea, staženo 15.10.04.
- <http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menu-e.html>, staženo 15.10.04.
- <http://www.lohninger.com/spectroscopy/dball.html>, staženo 15.10.04.
- <http://www.nist.gov/srd/online.htm>, staženo 15.10.04.
- <http://www.spectroscopynow.com/>, staženo 15.10.04.
- <http://www.gsu.edu/~mstnrhx/edsc84/dye.htm>, staženo 15.10.04.
- <http://www.danielsmith.com/learn/inksmith/200211/>, staženo 15.10.04.
- <http://www.ajantacolours.com/prod.htm>, staženo 15.10.04.
- <http://wwwchem.uwimona.edu.jm:1104/lectures/ecode.html>, staženo 15. 10. 2004.
- <http://www.foodcolour.com/>, staženo 15.10.04.
- <http://www.neelikon.com/foodcol.htm>, staženo 15.10.04.
- <http://www.standardcon.com/food%20colohttp://www.rohadyechem.com/index1.shtml>, staženo 15.10.04.
- <http://www.ukfoodguide.net/enumeric.htm>, staženo 15.10.04.
- <http://www.agsci.ubc.ca/courses/fnh/410/modules.htm#Colour>, staženo 15.10.04.
- <http://www.raise.org/natural/pubs/dyes/annex.stm>, staženo 15.10.04.
- <http://www.dyeman.com/NATURAL-DYES.html>, staženo 15.10.04.
- <http://www.2k-software.de/ingo/farbe/farbchemie.html>, staženo 15.10.04.
- The Merck Index*, 13th Ed., Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, 2001, electronic version by CambridgeSoft, Cambridge.
- ACD/Dictionary*, ver. 8.08, ACD/Labs, Toronto, 2004.
- Kodíček M.: *Biochemické pojmy, výkladový slovník*, VŠCHT Praha, verze 1.0, 2004, http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/, staženo 1.8.05.
- Paulová H., Bochořáková H. Táborská E.: Chem. Listy 98, 174 (2004).
- Lachman J., Hamouz K., Orsák M.: Chem. Listy 99, 474 (2005).
- Chlupáčová M., Opletalová V.: Chem. Listy 99, 320 (2005).
- Vítková M., Macková Z., Fukal L., Lapčík O.: Chem. Listy 99, 1135 (2005).
- Chen P.C., Huang C.C.: Huaxue 52, 127-32 (1994), Chem. Abstr. 122, 293389 (1995).

J. Čopíková^a, M. Uher^b, O. Lapčík^c, J. Moravcová^c, and P. Drašar^{c,d} (^a Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, ^b Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava, ^c Department of Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemical Technology, Prague, ^d Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **Natural Colorants**

A brief survey of the most frequently occurring natural colorants aims to show the importance of this group of renewable materials, which can be utilised, among others, in food and pharmaceutical industry. The beauty and biodiversity of this group of mostly secondary metabolites are illustrated.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

STANOVENÍ KYSELINY ADIPOVÉ V PRŮBĚHU JEJÍ POLYKONDENZACE S 1,4-DIAMINOBUTANEM

ZDENĚK HROCH a IRENA PROKOPOVÁ

Ústav polymerů, Vysoká škola chemicko-technologická
v Praze, Technická 3,
166 28 Praha 6
zdenek_hroch@post.cz, irena.prokopova@vscht.cz

Došlo 5.11.04, přepracováno 27.6.05, přijato 14.9.05.

Klíčová slova: kyselina adipová, 1,4-diaminobutan, polykondenzace, polyamid 4,6, plynová chromatografie, extrakce

Úvod

Kyselina adipová je důležitým monomerem pro syntézu polyamidů a polyesterů. Její hlavní význam je ve využití při výrobě polyamidů. Polykondenzací s 1,4-diaminobutanem se získává polyamid 4,6 (PA 4,6), polykondenzací s 1,6-diaminohexanem polyamid 6,6 (PA 6,6, cit.¹).

Analýza polykondenzační směsi, bez níž kinetiku prvního stupně polyreakce – vznik prepolymeru – nelze vyhodnotit, představuje velmi komplexní problém. Reakční směs v prvním stupni polykondenzace kyseliny adipové a 1,4-diaminobutanu obsahuje kromě nezreagovaných monomerů a hlavního produktu polykondenzace – nízkomolekulárního polykondenzátu (prepolymeru) se 3–7 opakujícími se konstitučními jednotkami – také vedlejší produkty (poly)kondenzace, resp. degradačních reakcí. Jedním z důležitých vedlejších produktů je pyrrolidin, který vzniká cyklizací 1,4-diaminobutanu¹. Pyrrolidin je velmi nežádoucí, neboť reakcí s karboxylovými skupinami rostoucích (makro)molekul zablokuje další růst polymerních řetězců. Dalšími vedlejšími produkty jsou cyklické oligomery vznikající intramolekulární reakcí funkčních skupin lineárních molekul. Tyto snadno sublimující látky způsobují při průmyslové výrobě nemalé potíže tím, že se usazují na stěnách výrobního zařízení. Nejvýznamnější zástupce cyklických oligomerů je cyklický diamid, 1,6-diaza-cyklododekan-7,12-dion¹.

Pro analytické stanovení kyseliny adipové byla vypracována řada metod, převážně chromatografických.

V literatuře se uvádějí postupy pro stanovení kyseliny adipové ve víně a nealkoholických nápojích^{2–6}, cukrovin-kách^{3,6}, v říční i mořské vodě⁷, v odpadní vodě^{8,9}, v moči^{10,11}, nebo i ve strusce a popelu po spalování odpadů¹². Mezi nejčastěji používané metody stanovení kyseliny adipové patří plynová a kapalinová chromatografie. Obě metody mají své výhody i nevýhody. V případě použití plynové chromatografie se kyselina adipová před analýzou převádí na méně polární derivát z důvodu zvýšení těkavosti analyzované sloučeniny. Před derivatizací musí být kyselina adipová ve většině případů ze směsného vzorku izolována, a to nejčastěji extrakcí^{3,7,11}, nebo pomocí iontoměničů⁶. Se zvoleným postupem izolace kyseliny ze směsi pak souvisí vhodná volba vnitřního standardu pro chromatografické stanovení derivátu kyseliny adipové.

Derivatizace kyseliny adipové, izolované z analyzované směsi, je často vyžadována i při použití kapalinové chromatografie. Modifikací vhodnými činidly se získávají deriváty kyseliny adipové s vyšším absorpčním, popř. fluorescenčním koeficientem než má volná kyselina, což příznivě ovlivňuje mez její detekce. Podle literatury^{13,14} byla pro stanovení kyseliny adipové s úspěchem použita i iontová vylučovací chromatografie.

Na rozdíl od analytických postupů uváděných v literatuře, kde obsah stanovované kyseliny adipové zpravidla nepřesahuje 0,3 hm.%, může být – v závislosti na reakční době – obsah kyseliny v polykondenzační směsi kyseliny adipové a 1,4-diaminobutanu, resp. jejich soli, až o dva řády vyšší. Cílem práce bylo vypracovat analytický postup s využitím plynové chromatografie, který umožní spolehlivé stanovení kyseliny adipové v polykondenzační směsi, kde se konverze kyseliny pohybuje v rozmezí 0–99,5 rel. %.

Experimentální část

Použité chemikálie

Zásobní roztok Diazaldu[®], tj. *N*-methyl-*N*-nitroso-*p*-toluensulfonamidu (Sigma-Aldrich Chemie, SRN), byl připraven rozpuštěním 33,3 g Diazaldu[®] v 50 ml diethylethylolmonoethyletheru (Sigma-Aldrich Chemie, SRN) a 50 ml diethyletheru. Roztok byl uchováván při teplotě 0 až 5 °C. Kyselina adipová (99 %) a dimethylester kyseliny adipové (99 %, Sigma-Aldrich Chemie, SRN), kyselina pimelová (99 %), kyselina mravenčí p.a., 2,2,2-trifluorethanol (TFE, 99 %, Fluka Chemie AG, Švýcarsko), dimethylester kyseliny pimelové (Aldrich Chemical Company, Inc., USA), sůl kyseliny adipové a 1,4-diaminobutanu, prepolymer polyamidu 4,6 (DSM, Holandsko), hydroxid draselný p.a. (Lachema Brno), diethylether p.a., kyselina chlorovodíková p.a., methanol p.a. (Penta Chrudim) byly použity bez dalšího čištění.

Příprava polykondenzační směsi k analýze

Reakční směs (cca 1 g), příp. modelová směs soli kyseliny adipové, 1,4-diaminobutanu a prepolymeru polyamidu 4,6, byla rozpuštěna za laboratorní teploty ve 20 ml kyseliny mravenčí. 4 ml roztoku směsi byly spolu s 1 ml vodného roztoku kyseliny pimelové jako vnitřního standardu o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ zahuštěny dosucha při 70 °C/2 kPa. Odparek pak byl za laboratorní teploty rozpuštěn ve směsi 2 ml TFE a 0,4 ml vody. 0,5 ml získaného roztoku bylo intenzivně protřepáváno s 0,1 ml 6M-HCl a 5 ml diethyletheru. Po oddělení dvou vrstev bylo z horní vrstvy odebráno 4,5 ml pro esterifikaci kyseliny adipové a pimelové diazomethanem.

Esterifikace

Odebraný roztok kyselin byl při 30 °C/110 Pa zahuštěn dosucha a odparek esterifikován roztokem diazomethanu ve směsném rozpouštědle diethylether/methanol (4/1 obj.). Esterifikace probíhá za laboratorní teploty okamžitě. Po ukončení reakce zůstává roztok vlivem přebytku diazomethanu žlutě zbarvený. Zbytkový diazomethan byl odstraněn probubláním roztoku inertním plynem. Po odpaření rozpouštědla byl vzorek pro následující analýzu na plynovém chromatografu zředěn methanolem.

Diazomethan byl připraven smícháním 4 ml zásobního roztoku Diazaldu® a 4 ml 10% roztoku KOH ve směsi voda/methanol (1/1 obj.). Uvolňující se diazomethan byl absorbován v 5 ml směsi diethylether/methanol (4/1 obj.).

Analýza vzorků

Analýzy vzorků derivatizované kyseliny adipové byly prováděny na plynovém chromatografu CHROM 5 s plamenoionizační detekcí (skleněná kolona plněná Carbowaxem 20M – 10 % na Chromatonu N Super, teplota kolony 150 °C, teplota nástřiku 230 °C, objem nástřiku 1–10 µl). Pro sběr a zpracování dat byl využit program Chromatography Station for Windows, verze 1.6.

Výsledky a diskuse

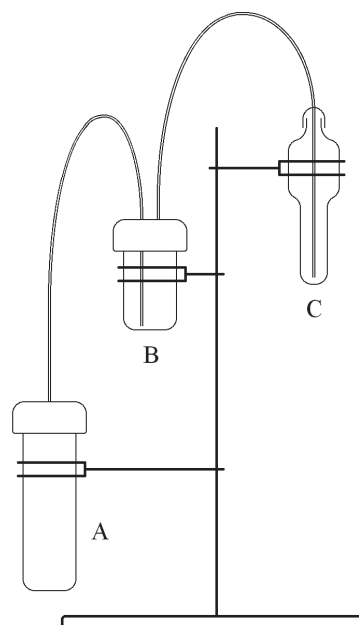
Analýzovaný materiál

Výchozí reakční směs pro syntézu polyamidu 4,6 je tvořena přibližně z 90 % kyselinou adipovou a 1,4-diaminobutanem, resp. solí kyseliny a diaminu, a z 10 % vodou. Při ekvimolárním zastoupení obou monomerů je tedy obsah kyseliny adipové v sušině reakční násoady 62,4 hm.%. V souladu s teorií polykondenzace¹⁵ dochází v reakční směsi k velmi rychlému poklesu koncentrace monomerů. Uvádí se, že ve stádiu polykondenzace, kdy molekuly prepolymeru obsahují v průměru 10 opakujících se konstitučních jednotek, klesne koncentrace monomeru na méně než 1 % počáteční hodnoty. Z teoreticky možných postupů izolace kyseliny adipové z reakční směsi se jako nevhodná ukázala její extrakce vodou. Zejména při nízkých konverzích funkčních skupin obou kondenzujících monomerů vytváří vznikající prepolymer ve vodě velmi

jemnou, obtížně separovatelnou suspenzi. Navíc se v rozporu s literárními údaji^{16–19} nepodařilo stanovit plynovou chromatografií kyselinu adipovou přímo ve vodném roztoku, event. po jeho okyselení. Pro stanovení obsahu nezreagované kyseliny adipové v reakční směsi byl proto vypracován postup její extrakce z homogenního roztoku reakční směsi, následující derivatizace kyseliny a stanovení derivátu kyseliny plynovou chromatografií.

Optimalizace metody

Volba vhodného rozpouštědla pro homogenizaci reakční směsi je limitována rozpustností vznikajícího prepolymeru. V úvahu připadá kyselina chlorovodíková, sírová, mravenčí, kresol, fenol, případně směs fenol-voda a 2,2,2-trifluoethanol (TFE). Z tohoto výběru je nejúčinnějším a zároveň ekonomicky nejvýhodnějším rozpouštědlem kyselina mravenčí. Nepodařilo se však nalézt vhodnou kombinaci dalšího rozpouštědla s kyselinou mravenčí pro extrakci kapalina-kapalina, která by umožňovala izolaci kyseliny adipové z roztoku reakční směsi. Alikvotní podíl roztoku byl proto za sníženého tlaku odpařen dosucha. Zároveň se tímto krokem eliminuje vliv vody, která při reakci vzniká nebo je záměrně k reaktantům přidávána a může se tedy ve vzorcích vyskytovat v širokém koncentračním rozmezí. Odparek byl rozpuštěn za laboratorní teploty ve směsi TFE/voda (5/1 obj.). Z roztoku reakční směsi v tomto směsném rozpouštědle je možné extrahovat kyselinu adipovou do diethyletheru. Důležitou podmínkou pro převedení kyseliny adipové z polární do méně polární fáze je její existence v protonované formě. Z toho důvodu byl roztok reakční směsi okyselen kyselinou chlorovodíko-



Obr. 1. Schéma aparatury pro přípravu diazomethanu; A – nádobka pro generaci diazomethanu, B – pojistná nádobka, C – absorpční nádobka

vou. Analýzou modelových směsí bylo ověřeno, že průběh extrakce není ovlivněn zbytkovým podílem kyseliny mravenčí vázaným ve formě soli s primárními aminoskupinami monomeru 1,4-diaminobutanu či prepolymeru.

Při volbě vhodné derivatizace kyseliny adipové předcházející jejímu stanovení byly vodítkem postupy uváděné v literatuře^{3,4,7,10,12,20–22}. Jako nejvýhodnější se ukázala esterifikace kyseliny adipové diazomethanem. Diazomethan, žlutý plyn, se vyvíjí při reakci roztoku Diazaldu® s 10% roztokem KOH ve směsi voda/methanol (1/1 obj.). Uvolňovaný diazomethan byl absorbován ve směsi diethylether/methanol (4/1 obj.) za vzniku žlutého roztoku (obr. 1).

Esterifikace diazomethanem probíhá za laboratorní teploty velmi rychle za současného odbarvování roztoku a jediným vedlejším produktem je dusík, který z reakční směsi uniká. V přebytku diazomethanu zůstává po skončené esterifikaci roztok žlutě zbarvený. Nezareagovaný diazomethan se pak odstraní probubláním roztoku dusíkem nebo argonem. Při přímé esterifikaci etherového roztoku kyseliny adipové bylo prokázáno, že podíly TFE a kyseliny chlorovodíkové, které jsou při extrakci kyseliny adipové strhávány do etherové fáze, negativně ovlivňují průběh esterifikace, resp. indikaci jejího ukončení. Dochází k odbarvování reakčního roztoku, což signalizuje zreagování diazomethanu, aniž by proběhla esterifikace. Proto byl roztokem diazomethanu esterifikován suchý odparek extraktu. Účinnost esterifikace byla opakovaně ověřována na modelových směsích kyseliny adipové a kyseliny pimelové a bylo prokázáno, že reakce probíhá kvantitativně.

Kyselina pimelová byla použita jako vnitřní standard pro plynově chromatografické stanovení kyseliny adipové. Ve formě vodného roztoku byla kyselina pimelová přidávána k definovanému objemu homogenizované reakční směsi, roztoku reakční směsi v kyselině mravenčí, který byl dále zpracováván tak, jak bylo již uvedeno. Po esterifikaci obou kyselin byl ze směsi odpařen ether a vzorek naředěn pro GLC analýzu definovaným objemem methanolu.

Přesnost metody

Ke stanovení obsahu kyseliny adipové v analyzovaných vzorcích byla použita kalibrační metoda s konstantním obsahem kyseliny pimelové jako vnitřního standardu (ISTD2, cit.²³). Spolehlivost stanovení kyseliny adipové ve směsích s 1,4-diaminobutanem a prepolymerem polyamidu 4,6 s obsahem kyseliny adipové v sušině 0,5 až 100 rel.% podle vypracovaného postupu dokumentuje tabulka I. 100 rel.% kyseliny adipové v sušině odpovídá reakční násadě, tedy soli kyseliny adipové s 1,4-diaminobutanem, v níž je kyselina adipová zastoupena 62,4 hm.%. Z tabulky je zřejmé, že vypracovaný postup velmi dobře vyhovuje pro analýzy polykondenzačních směsí se stupněm konverze kyseliny adipové 0–97 % (odpovídá obsahu kyseliny adipové v modelových vzorcích 100–3 rel.%). Při konverzi kyseliny adipové 98–99,6 % je chyba stanovení, zřejmě v důsledku rozdílných extrakčních koeficientů kyseliny adipové a pimelové při jejich

Tabulka I

Stanovení kyseliny adipové v modelových směsích kyseliny adipové, 1,4-diaminobutanu a prepolymeru polyamidu 4,6

Obsah kyseliny adipové v modelových směsích			
navážka [rel.%]	výtěžnost [%]	navážka [rel.%]	výtěžnost [%]
0,4	92,5	39,9	98,9
1,1	91,5	50,3	99,5
2,1	95,4	60,0	99,2
3,0	101,5	70,1	98,7
4,2	98,4	79,8	98,9
8,1	100,8	89,9	101,1
16,1	99,6	100	99,9

nízkých koncentracích v modelových vzorcích, vyšší, nepřesahuje však 9 %.

Opakovanou analýzou různých vzorků stejného složení bylo zjištěno, že reprodukovatelnost metody je pro hladinu významnosti 0,05 vyšší než 95 %.

Závěr

Je popsána metoda stanovení obsahu kyseliny adipové v produktu její polykondenzace s 1,4-diaminobutanem, při níž je z roztoku reakční směsi izolována extrakcí kapalina-kapalina, esterifikována diazomethanem a její dimethylster stanoven plynovou chromatografií. Tato metoda je univerzální a lze ji využít pro analýzu reakční směsi obsahující kyselinu adipovou v rozmezí 0,5 až 100 rel.% ve vodném prostředí.

Tato práce byla řešena jako součást výzkumných záležitostí J 19/98:223 100002 a MSM 604 613 7302.

LITERATURA

- De Goede E., Knappe P., Gijssman P., v knize: *Kunststoff-Handbuch* (Botenbruch L., Binsack R., ed.), sv. 3/4 Polyamide, str. 551. Carl Hanser Verlag, München 1998.
- Grin S. A., Levinskij M. B., Gelfand S. J.: *Pishch. Prom. (Moskva)* 6, 60 (1990); *Chem. Abstr.* 113, 113949 (1990).
- Yto J., Ogawa S., Awaida M.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 62, 937 (1979).
- Deng C.: *Sepu* 15, 505 (1997); *Chem. Abstr.* 128, 101245 (1998).
- Gennaro M. C., Bertolo P. L.: *J. Chromatogr.* 472, 433 (1989).
- Shimamura Y., Ishikawa F., Ogawa H., Nishijima M., Nishima T.: *Kenkyu Nenpo-Tokyo-toritsu Eisei Kenkyusho* 1986, 184; *Chem. Abstr.* 106, 137104 (1987).

7. Gosteva L. I., Fedonina V. F.: *Chim. Technik. Vody* 11, 616 (1989).
8. Fischer K., Chodura A., Kotalik J., Bieniek D., Ketrup A.: *J. Chromatogr., A* 1+2, 229 (1997).
9. Ivanov A. A., Shpigun O. A., Zolotov Zu. A.: *Zh. Anal. Khim.* 4, 694 (1987); *Chem. Abstr.* 107, 108555 (1987).
10. Adinolfi N. A., Bicking M. K. L.: *J. Chromatogr. Sci.* 23, 407 (1985).
11. Yoshioka K., Shimojo N., Nakanishi T., Naka K., Okuda K.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Appl.* 655, 189 (1994).
12. Hirschlag H., Koster R.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 362, 274 (1998).
13. Ivanov A. A., Shpigun O. A., Zolotov Y. A.: *Zh. Anal. Chim.* 42, 694 (1987).
14. Fischer K.: *Korresp. Abwasser* 45, 676 (1998); *Chem. Abstr.* 128, 248246 (1998).
15. Odian G.: *Principles of Polymerization*. Wiley, New York 1991.
16. Yang X. H., Lee C., Scranton M. I.: *Anal. Chem.* 65, 572 (1993).
17. Pastushenko V. G., Kripostalov S. S.: *Zh. Anal. Chim.* 44, 536 (1989).
18. Pastushenko V. G., Kripostalov S. S., Faingol'd N. I.: *Zh. Anal. Chim.* 43, 1139 (1988).
19. Matsui M., Kitsuwa T.: *Bunseki Kagaku* 37, 63 (1988); *Chem. Abstr.* 108, 123859 (1988).
20. Mitchell G. A., Vanderbist M. J., Meert F. F.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 65, 238 (1982).
21. Brunt K., Sanders P.: *Zywn. Technol., Jakosc* 1996, 54; *Chem. Abstr.* 125, 326658 (1996).
22. Brunt K., Mitchell G. A.: *Starch/Staerke* 49, 296 (1997).
23. CSW (Chromatography Station for Windows) – uživatelská příručka, verze 1.6, str. 104. Data Apex s.r.o., Praha 1995.

Z. Hroch and I. Prokopová (*Department of Polymers, Faculty of Chemical Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Determination of Adipic Acid in the Course of its Polycondensation with Butane-1,4-diamine**

A method for determination of adipic acid in the product of its polycondensation with butane-1,4-diamine in aqueous medium has been developed. The acid is isolated from the reaction mixture by liquid-liquid extraction, then derivatized with diazomethane and the resulting dimethyl ester is analyzed by GLC. The presence of water does not influence the analysis. The method can be used for determination of the adipic acid in the reaction mixture ranging from 0.5 to 100 %.

VYUŽITÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE PŘI SLEDOVÁNÍ KVALITY KAKAOVÉHO PRÁŠKU

ANEŽKA TRILČOVÁ^a, JANA ČOPÍKOVÁ^a,
MANUEL A. COIMBRA^b, ANTÓNIO S.
BARROS^b, HANA KŘÍSTKOVÁ^a, LUKÁŠ
EGERT^a a ANDRIY SYNYTSYA^a

^aÚstav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika, ^bDepartamento de Química, Universidade de Aveiro, Campus de Santiago, 3800 Aveiro, Portugal
anezka.trilcova@vscht.cz

Došlo 3.2.05, přepracováno 8.6.05, přijato 23.6.05.

Klíčová slova: kakaový prášek, IČ spektroskopie

Úvod

Zdraví lidské populace je ovlivňováno kvalitou potravin, která je zase v přímé souvislosti s jakostí surovin a použitou technologií výroby. Je velice důležité, aby potraviny byly zdravotně nezávadné a odpovídaly deklarovanému složení. Zde je třeba vzít v úvahu i množství a způsob použití dané potraviny, hlavně v případě, že je potravina součástí dětské výživy. Kakaový prášek je často přidáván do potravin určených hlavně dětem. Kakaový prášek je nejen výrobkem, avšak v potravinářském průmyslu nachází použití i jako surovina. Při výrobě čokolády se tradičně vychází z kakaové hmoty. Ke kakaové hmotě se pak přidává cukr, kakaové máslo, případně jeho náhrady. V poslední době se však dostává do popředí i technologie cukrovinek z kakaového prášku. V tom případě je výchozí surovinou kakaový prášek, cukr a náhrady kakaového másla. Objem výroby hmot a cukrovinek z kakaového prášku je srovnatelný s objemem výroby čokolády. Poslední dobou se na trhu, kromě tradičních instantních směsí typu Granko, objevují různé směsi kakaa. Mohou to být směsi kakaa s cukrem, nebo tzv. kakaa na pečení, jejichž deklarované složení je kakaový prášek, mléčný cukr a modifikovaný pšeničný škrob.

Také může docházet k falšování resp. ředění kakaového prášku různými polysacharidy, což již bylo zjištěno Státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí (SZPI) (www.szpi.gov.cz).

V České republice platí vyhláška č. 76/2003 Sb., která provádí zákon č. 110/1997 Sb., ve znění pozdějších předpisů. Podle ustanovení § 15 písm. d) vyhlášky č.76/2003

Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony, se kakaovým práškem (kakaem) rozumí – potravina získaná z pražených kakaových bobů zbavených slupek, upravených do formy prášku, obsahující nejméně 20 % kakaového másla v sušině a nejvýše 9 % vody. V § 17 této vyhlášky je uvedeno, že kakao se označí slovy „se sníženým obsahem tuku“ v případě, že obsah kakaového másla je nižší než 20 hm.% z celkové sušiny. Na obale se označí údaje o skutečném obsahu kakaového másla. V příloze č. 7 této vyhlášky jsou uvedeny fyzikální a chemické požadavky na jakost kakaového prášku (obsah tuku a vlhkost).

Experimentální část

Byl zpracován soubor 81 vzorků kakaového prášku nakoupených převážně ve spotřebitelské síti v ČR. U všech vzorků byla naměřena spektra v blízké i střední infračervené oblasti. Dále byl u všech vzorků stanoven obsah tuku podle Soxhleta a vlhkost.

Infračervená spektroskopie v blízké oblasti

Infračervená spektra v blízké oblasti byla změřena spektrometrem NIR Systems 6500 (Perstorp Analytical Company, USA) a vyhodnocena programem NIR3 verze 3.10 Infracsoft International (ISI). Přístroj NIR Systems 6500 je disperzní spektrometr vybavený mřížkovým monochromátorem. Přístroj je jednopaprskový (systém scan standard/scan sample) a pozadí bylo stanoveno na keramický standard. Spektra byla měřena ve spektrálním rozsahu 400–2500 nm při rozlišení 2 nm a počtu skenů 36 pro jedno měření. Před každým měřením vzorku bylo měřeno pozadí dvanácti skeny a po měření vzorku třemi skeny. Vzorky byly měřeny v modu reflektance v cele zvané Small Ring Cup. Od každého vzorku byla naměřena vždy 3 spektra.

Infračervená spektroskopie ve střední oblasti

Infračervená spektra byla zaznamenána spektrometrem Bruker IFS-55 (Bruker, SRN) s ATR – celou (diamant) a technikou jednoduché reflektance. Přístroj je vybaven detektorem DTGS a děličem paprsku KBr. Spektra byla měřena ve spektrálním rozsahu 4000–400 cm⁻¹. Parametry měření byly zvoleny: rozlišení 8 cm⁻¹, počet akumulací spektra 128, apodizace trojúhelníková funkce, vzorek byl proměřen pětkrát a do modelu byla zařazena všechna naměřená spektra.

Stanovení vlhkosti

U všech vzorků byla stanovena vlhkost sušením podle normy ČSN 56 0146 (cit.¹) po dobu 2 až 3 h při 105 ± 2 °C. Rozdíl mezi dvěma souběžnými stanoveními nebyl větší než 0,20 %.

Stanovení obsahu tuku podle Soxhleta

Extrakce podle tuku byla prováděna petroletherem p.a. (destilační rozmezí 40–60 °C) na přístroji Soxtherm 2000 automatic (Gerhardt, SRN) s následujícím programem:

- doba varu: 1h 30 min,
- redukce rozpouštědla A: 5 × 15ml,
- doba extrakce: 2h 30 min,
- redukce rozpouštědla B: 25 min,
- redukce rozpouštědla C: 9 min.

Rozdíl mezi dvěma souběžnými stanoveními nebyl větší než 0,20 %.

Extrakce vysokomolekulárních látek a stanovení jejich monosacharidového složení

Vzorky byly nejprve odtučněny extrakcí podle Soxhleta petroletherem² a následně z nich byly extrahovány vysokomolekulární látky³. Extrakty byly hydrolyzovány Saemanovou hydrolyzou⁴ a derivatizovány^{5,6}. Vzniklé alditolacetáty byly analyzovány plynovou chromatografií na chromatografu GC 6000 Vega series 2 (Carlo Erba Instruments, Itálie) se splitem 1:60 a FID detektorem. Separace probíhala na koloně DB-225 (30 m × 0,25 mm × 0,15 μm, výrobce: J & W Scientific Products, Německo) s teplotním programem:

- počáteční teplota: 200 °C,
- nárůst teploty: 40 °C min⁻¹,
- prostřední teplota: 220 °C po dobu 14 min,
- nárůst teploty: 20 °C min⁻¹,
- konečná teplota: 230 °C po dobu 1 min.

Jako nosný plyn byl použit vodík.

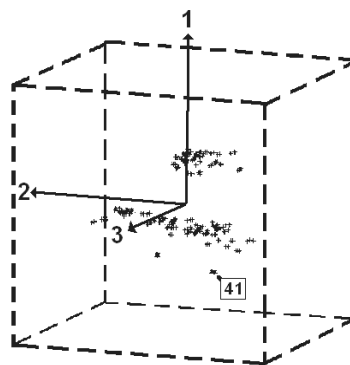
Výsledky a diskuse**NIR spektroskopie**

Naměřená spektra byla statisticky vyhodnocena programem WINISI II, pro kalibraci byla použita modifikovaná metoda nejmenších částečných čtverců (MPLS). Při zpracování NIR dat se většinou používá vícenásobná lineární regrese, jejímž výsledkem je rovnice kalibrační křivky a korelační koeficient, který charakterizuje lineární vztah mezi závislou proměnou a lineární kombinací sady nezávisle proměnných kalibrační řady. Korelační koeficient (R^2) vypovídá o kvalitě regresní závislosti mezi laboratorními hodnotami a hodnotami předpověděnými pomocí NIR spektroskopie. Závislost s korelačním koeficientem 0,95–0,99 se považuje za velmi silnou. Závislost s korelačním koeficientem 0,80–0,94 je považována za dosti silnou a korelační koeficient v rozmezí 0,50–0,79 poukazuje na středně silnou závislost. Je-li hodnota korelačního koeficientu nižší než 0,50, je tato závislost považována za bezvýznamnou. Dalším ukazatelem úspěšnosti kalibrace je kalibrační koeficient variace (relativní chyba

Tabulka I

Výsledky kalibrace pro parametry obsah tuku a vlhkost

Parametry	X_p [%]	SEC [%]	R^2	CCV [%]
Obsah tuku	14,1019	0,4256	0,9921	3,0180
Vlhkost	3,7253	0,0481	0,9965	1,2912



Obr. 1: Trojrozměrný graf znázorňující vzdálenosti globálního H souboru kakaových prášků

kalibrace, CCV). Za dobrou kalibraci jsou považovány výsledky CCV okolo 10 % a jako velmi spolehlivá se označuje kalibrace, u níž se dosáhlo hodnoty CCV menší než 5 %. Hodnoty CCV se vypočítají podle vzorce:

$$CCV = (SEC / X_p) \cdot 100 [\%]$$

SEC je standardní chyba kalibrace vypočtená programem WINISI II, X_p je průměrná laboratorní hodnota změřená nezávislou metodou.

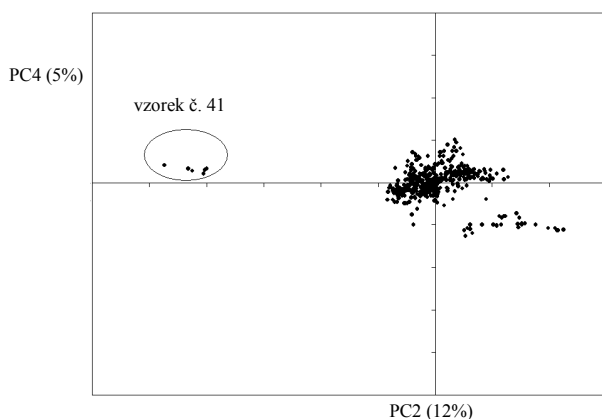
V tabulce I jsou uvedeny výsledky kalibrace pro parametry obsah tuku a vlhkost.

Z hodnot R^2 pro oba parametry vyplývá, že se jedná o velmi silnou závislost mezi analyticky stanovenými hodnotami a hodnotami předpověděnými NIR spektroskopii. Hodnoty CCV ukazují na velmi spolehlivý kalibrační model. Rozsah naměřených vlhkostí se pohyboval v intervalu 2,43–5,18 %, což jsou hodnoty vyhovující vyhlášce 76/2003 Sb., která povoluje maximálně 9,0 % vlhkosti.

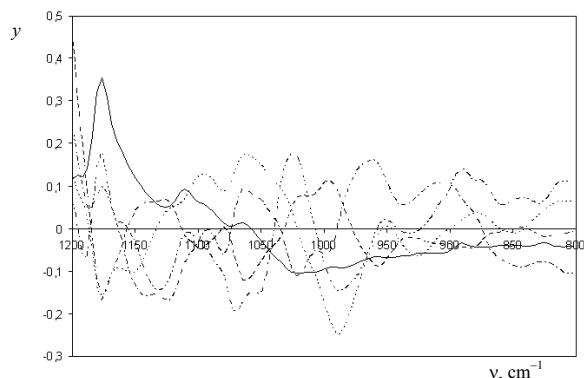
Spektra kakaových prášků byla též vyhodnocena podle Mahalanobisovy vzdálenosti H, což je vlastně statistická míra vzdálenosti spektra od průměrného spektra (GH globální) nebo míra vzdálenosti sousedních spekter (NH sousední). Pokud by hodnota H přesahovala číslo 3, pak spektra nevytváří soubor a jsou příliš odlehlá. Na obr. 1 je trojrozměrný graf, který zobrazuje vzdálenosti GH souboru kakaových prášků. Z tohoto obrázku plyne, že vzorek číslo 41 kakaového prášku leží mimo soubor, což může být způsobeno tím, že tento vzorek obsahuje pouze 3,74 % tuku. Vzorek č. 41 se také liší ve složení a množství polysacharidů, což je podrobněji rozebráno v odstavci o FT-IR spektroskopii.

FT-IR spektroskopie

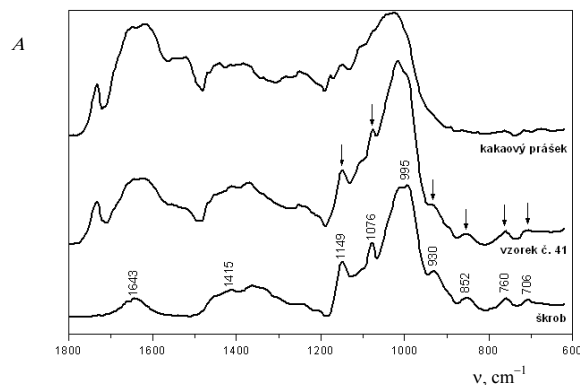
Naměřená spektra byla v oblasti vlnočtů $1200\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ upravena a zpracována v programu GNU Octave, verze 2.1.36 (cit.⁷) analýzou hlavních komponent. Cílem analýzy hlavních komponent (PCA) je transformace dat z původních proměnných (hodnoty absorbancí naměřených spekter při významných vlnočtech) do menšího počtu latentních proměnných, které popisují větší část proměnlivosti původních dat. Výsledky analýzy PCA jsou uvedeny na obr. 2 (graf komponentního skóre), kde každý bod v grafu představuje jedno zredukované spektrum kakaového prášku. I zde je vzorek číslo 41 odlišný od ostatních, leží v záporné oblasti PC2 (vlevo od osy PC2). V rozptylovém grafu komponentního skóre byly objekty rozříděny do shluků a v grafu komponentních vah (obr. 3) neboli zátěží by měly být nalezeny vzájemné vazby (korelace) proměnných. V grafu komponentních zátěží je patrné výrazné minimum komponenty PC2 při 987 cm^{-1} . V oblasti $1200\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ se vyskytují pásy odpovídající



Obr. 2: Graf komponentního skóre pro FT-IR spektra



Obr. 3: Graf komponentních zátěží; y – komponentní zátěž, — PC1, PC2, -.-.- PC3, --- PC4, -.-.- PC5



Obr. 4. Spektra kakaových prášků a bramborového škrobu

polysacharidům. Při pohledu na obr. 4 jsou patrné rozdíly mezi vzorkem č. 41 a spektrem průměrného vzorku kaka. Ze spektra vzorku č. 41 v oblasti $1200\text{ až }800\text{ cm}^{-1}$ je možno usoudit, že vzorek má ve srovnání s ostatním souborem vyšší obsah škrobu. Pro porovnání je na obr. 4 uvedeno také spektrum bramborového škrobu, které vykazuje shody při vlnových délkách 1149 cm^{-1} , 1076 cm^{-1} , 930 cm^{-1} , 852 cm^{-1} , 760 cm^{-1} a 706 cm^{-1} se spektrem vzorku kaka č. 41. Zvýšená přítomnost škrobu byla potvrzena analýzou vodného extraktu vzorku č. 41. Extrakce a analýzy vysokomolekulárních látek ještě nejsou dokončeny u všech vzorků, proto byly pro porovnání se vzorkem 41 vybrány vzorky 1 až 10. Výtěžek extrakce vzorku 41 byl 24 % a průměrný výtěžek extrakce vzorků 1 až 10 byl 6 %. Extrakt vzorku 41 obsahoval 86 % glukosy, z porovnání s užším výběrem vzorků 1 až 10, které obsahovaly průměrně 33 % glukosy, je patrné, že obsah glukosy vzrostl více než 2,5krát.

Závěr

Spektroskopické techniky ve spojení s multivariací analýzou se jeví jako velice užitečné při analýze kakaového prášku. Byla započata kalibrace NIR spektroskopu pomocí obsahu tuku a vlhkosti. Dalšími parametry pro kalibraci by mohl být obsah dusíku, methylxanthinů, uronových kyselin nebo neutrálních cukrů. FT-IR spektra v oblasti vlnočtů $1200\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ byla vyhodnocena metodou hlavní komponenty. Předpokládáme, že většina rozdílů mezi vzorky je způsobena složením neutrálních cukrů.

Práce byla naměřena v rámci projektu MSM 6046137305.

Seznam použitých zkratk

- A absorbance
- ATR zeslabená úplná reflektance (Attenuated Total Reflectance)

CCV	kalibrační koeficient variace
FID	plamenový ionizační detektor
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GH	Mahalanobisova vzdálenost – globální
H	Mahalanobisova vzdálenost
MPLS	modifikovaná metoda nejmenších částečných čtverců
NH	Mahalanobisova vzdálenost – sousední
NIR	blízká infračervená oblast
PC	principal component, hlavní komponenta
PCA	principal component analysis, analýza hlavní komponenty
R^2	korelační koeficient
SEC	standardní chyba kalibrace vypočtená programem WINISI II
X_p	průměrná laboratorní hodnota změřená nezávislou metodou
y	komponentní zátěž
v	vlnočet

LITERATURA

1. ČSN 56 0146: *Metody zkoušení cukrovinkářských výrobků a trvanlivého pečiva – Část 3: Stanovení vlhkosti* (leden 1984).
2. Nunes F. M., Coimbra M. A., Duarte A. C., Delgadil-

- lo I.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 3238 (1997).
3. Nunes F. M., Coimbra M. A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 1773 (2001).
4. Selvendran R.R., March J. F., Ring S.G.: *Anal. Biochem.* 96, 282 (1979).
5. Blakeney A. B., Harris P. J., Henry R. J., Stone B. A.: *Carbohydr. Res.* 113, 291 (1983).
6. Harris P. J., Blakeney A. B., Henry R. J., Stone B. A.: *J. AOAC Int.* 71, 272 (1998).
7. Barros A. S.: soukromé sdělení.

A. Trilčová^a, J. Čopíková^a, M. A. Coimbra^b, A. S. Barros^b, H. Křístková^a, L. Egert^a and A. Synytsya^a
(^aDepartment of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic, ^bDepartment of Chemistry, University of Aveiro, Aveiro, Portugal): Application of Infrared Spectroscopy in Cocoa Powder Quality Monitoring

At present the use of reliable control methods for checking the label quality of food becomes very important. The article describes the results of common analytical methods, near-infrared spectrometry and Fourier transformation infrared spectrometry applied to cocoa powder. The two spectrometric techniques are statistically processed allowing the quality monitoring.

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

DOPORUČENÍ IUPAC

In this document, we define a data exchange format initially formulated from discussions of an IUPAC limited-term task group at the 35th Royal Society of Chemistry – ESR conference in Aberdeen 2002. The definition of this format is based on the IUPAC Joint Committee on Atomic and Molecular Physical Data Exchange (JCAMP-DX) protocols, which were developed for the exchange of infrared spectra and extended to chemical structures, nuclear magnetic resonance data, mass spectra and ion mobility spectra. This standard of the JCAMP-DX was further extended to cover year 2000 compatible date strings and good laboratory practice and the next release will cover the information needed for storing n-D data sets. The aim of this paper is to adapt JCAMP-DX to the special requirements for EMR, electron magnetic resonance.

Otiskujeme synopsi návrhu z oboru chemické informatiky, který byl připraven komitétém IUPAC pro tištěné a elektronické publikace. Návrh je nyní určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o text návrhu se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2,
162 06 Praha 6
tel. 296 809 322, fax 296 809 410, e-mail kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese <http://www.iupac.org/reports/provisional/index.html>
Připomínky k návrhu je třeba zaslat do 31. ledna 2006 na adresu:

Prof. Robert J. Lancashire
University of the West Indies
Department of Chemistry
Mona Campus
Kingston 7,
Jamaica
E-mail: robert.lancashire@uwimona.edu.jm

XML-based IUPAC Standard for Experimental, Predicted, and Critically Evaluated Thermodynamic Property Data Storage and Capture (ThermoML)

ThermoML is an XML-based emerging IUPAC standard for storage and exchange of experimental, predicted, and critically evaluated thermophysical and thermochemical property data. The basic principles, scope, and description of all structural elements of ThermoML are discussed. ThermoML covers essentially all thermodynamic and transport property data (more than 120 properties) for pure compounds, multicomponent mixtures, and chemical reactions (including change-of-state and equilibrium reactions). Representations of all quantities related to the expression of uncertainty in ThermoML conform to the Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). The ThermoMLEquation schema for representation of fitted equations with ThermoML is also described and provided as Supporting Information together with specific formulations for several equations commonly used in the representation of thermodynamic and thermophysical properties. The role of ThermoML in global data communication processes is discussed. The text of a variety of data files (use cases) illustrating the ThermoML format for pure compounds, mixtures, and chemical reactions, as well as the complete ThermoML schema text, are provided as Supporting Information.

Otiskujeme synopsi návrhu z oboru chemické informatiky, který byl připraven komitétém IUPAC pro tištěné a elektronické publikace. Návrh je nyní určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o text návrhu se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2,
162 06 Praha 6
tel. 296 809 322, fax 296 809 410, e-mail kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese <http://www.iupac.org/reports/provisional/index.html>
Připomínky k návrhu je třeba zaslat do 31. ledna 2006 na adresu:

Michael Frenkel
National Institute of Standards & Technology
Physical and Chemical Properties Division, 838
325 Broadway
Boulder, CO 80305-3328
USA
E-mail: frenkel@boulder.nist.gov



Asociace českých chemických společností
a Asociácia slovenských chemických a farmaceutických spoločností
ve spolupráci se společností

Spolek pro chemickou a hutní výrobu a.s.

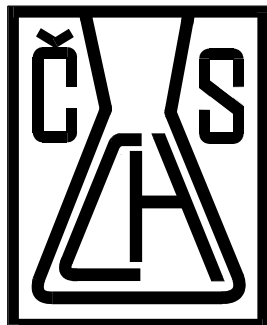
a

Univerzitou J. E. Purkyně v Ústí nad Labem
pořádají

58. Sjezd chemických společností

4.–8. září 2006, Ústí nad Labem

Odborná skupina organické, bioorganické a farmaceutické chemie ČSCH



Sborník abstraktů

Konference
Pokroky v organické, bioorganické
a farmaceutické chemii

40. Konference

18. - 20. listopadu 2005

redakce sborníku
Irena Valterová, Vladimír Pouzar a Pavel Drašar

Organizátoři konference si dovoluují uvést na tomto čestném místě firmy a instituce, které významnou měrou pomohly k uskutečnění této tradiční akce. Budiž jim za to v této formě vysloven dík.



časopis Collection of Czechoslovak Chemical Communications

časopis Chemické listy

IVAX Pharmaceutical, spol. s r. o., Opava

Zentiva, a.s., Praha

Merck, spol. s r.o., Praha

SciTech, spol. s r.o., Praha

Sigma-Aldrich, spol. s r.o., Praha

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha

Vysoká škola chemicko-technologická, Praha



PYRIDINIOVÉ SOLI ESTROGENU A DERIVÁTY ω -(1-FENYL-5-TETRAZOLYLSULFANYL)HEPTYL-ETHERŮ ESTROGENŮ: NOVÉ SLOUČENINY S ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITOU

JAN ADAMEC^a, RAINER BECKERT^b, DIETER WEIB^b, VĚRA KLIMEŠOVÁ^a, JARMILA KAUSTOVÁ^c a KAREL WAISSER^a

^aKatedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bInstitut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Lessingstr. 8, D- 07743 Jena, ^cStátní zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Oddělení pro diagnostiku Mycobacterií, Laboratoř pro Mycobacterium kansasii, Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava
adamec@faf.cuni.cz; Rainer.Beckert@uni-jena.de; jarmila.kaustova@zuvoa.cz

ω -Pyridiniumheptylethery estrogenu byly syntetizovány jako sloučeniny s potenciální antimykobakteriální aktivitou¹. 3-Hydroxy-estra-1,3,5(10)-trien-17-on reaguje s přebytkem α,ω -dibromheptanu za vzniku 3-(ω -bromoheptyloxy)-estra-1,3,5(10)-trien-17-onu. Následnou reakcí s pyridinem se získá příslušná bromidová sůl žádané steroidní ω -pyridiniumheptylové sloučeniny (stejně reakci byly také podrobeny benzylsulfanylderiváty pyridinu). Dále byly připraveny deriváty ω -(1-fenyl-5-tetrazolylsulfanyl)heptyl-etherů estrogenu reakcí 3-(ω -bromoheptyloxy)-estra-1,3,5(10)-trien-17-onu s příslušným 1-fenyl-5-tetrazolylthiolem^{2,3} za použití triethylaminu jako báze.

Antimykobakteriální aktivita byla testována *in vitro* na kmenech *Mycobacterium tuberculosis*, *M.kansasii* a *M.avium*.

Tento projekt byl uskutečněn za finanční podpory: výzkumný záměr MSM 0021620822, grant FRVŠ 42/G6/2005 a Deutsche Forschungsgemeinschaft SFB 436.

LITERATURA

- Lange C., Holzhey N., Schönecker B., Beckert R., Möllmann U., Dahse H.-M.: *Bioorg. Med. Chem.* 12, 3357 (2004).
- Waisser K., Adamec J., Kuneš J., Kaustová J.: *Chem. Papers* 58, 214 (2004).
- Adamec J., Waisser K., Kuneš J., Kaustová J.: *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 338, 385 (2005).

SYNTHETIC STUDIES LEADING TO HELICALLY CHIRAL COMPOUNDS

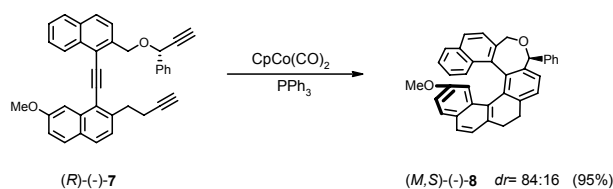
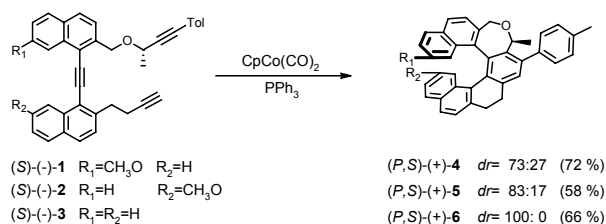
ZUZANA ALEXANDROVÁ, IVO STARÝ*, IRENA G. STARÁ*, PETR SEHNAL, and DAVID ŠAMAN

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague 6
alexa@uochb.cas.cz

We have recently disclosed an original approach to helically chiral compounds that is based on intramolecular

[2+2+2] cycloisomerization of aromatic triynes under cobalt(I) catalysis¹. Utilizing this synthetic methodology we prepared a variety of helically chiral compounds (*P,S*)-(+)-**4** and (*M,S*)-(-)-**8**. We focused on stereoselective cyclization of substituted triynes containing asymmetric carbon atom². In the case of the cyclization of triyne (*S*)-(-)-**3** we obtained compound (*P,S*)-(+)-**6**, whose structure was derived from helicenes³, with excellent diastereoselectivity (100 % *de*).

Efforts aimed at structural modifications leading to enhanced diastereoselectivity are currently under way.



Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Reg. No. 203/02/0248), Ministry of Industry and Trade/Zentiva (Reg. No. FI-IM/073), and Ministry of Education, Youth and Sports (Center for Biomolecules and Complex Molecular Systems, Reg. No. LC05A57).

REFERENCES

- (a) Teplý F., Stará I.G., Starý I., Kollárovič A., Šaman D., Rulíšek L., Fiedler P.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 9175 (2002). (b) Teplý F., Stará I.G., Starý I., Kollárovič A., Šaman D., Vyskočil Š., Fiedler P.: *J. Org. Chem.* 68, 5193 (2003).
- Stará I.G., Alexandrová Z., Teplý F., Sehnal P., Starý I., Šaman D., Buděšínský M., Cvačka J.: *Org. Lett.* 13, 2547 (2005).
- Urbano A.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 42, 3986 (2003).

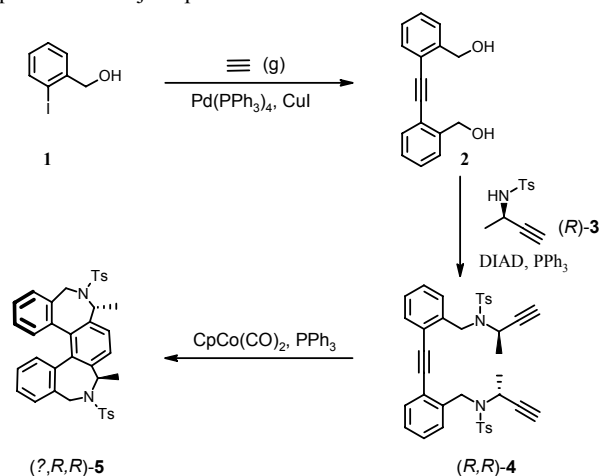
SYNTEZA NOVÉHO TYPU NERACEMICKÝCH HELICENŮ PODOBNÝCH LÁTEK SE DVĚMA CHIRÁLNÍMI CENTRY

ANGELINA ANDRONOVA, IRENA G. STARÁ* a IVO STARÝ*

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
stara@uochb.cas.cz

Heliceny jako inherentně chirální látky jsou potenciálně zajímavé pro využití např. v enantioselektivní katalýze či při přípravě nových materiálů. Ukazuje se, že širší aplikaci zatím brání jejich obtížná dostupnost v neracemické formě.

Látka **5** byla připravena pomocí asymetrické syntézy, jejíž principy jsme nedávno publikovali¹. Použitá strategie je založená na diastereoselektivní [2+2+2] cykloisomerizaci triynů^{2,3} katalyzované komplexy Co^I . Ukázali jsme, že tento postup je vhodný i pro přípravu neracemických molekul s helikálním uspořádáním obsahujících se dva dihydroazepinové kruhy. Syntéza vychází z komerčně dostupného jodfenylmethanolu **1**, který po Sonogashirově homocouplingu poskytuje ve vysokém výtěžku diol **2**. Ten je převeden na neracemický triyn (*R,R*)-**4** Mitsunobu reakcí se sulfonamidem (*R*)-**3**. Klíčovým krokem syntézy je cykloisomerizace triynu (*R,R*)-**4** v přítomnosti $\text{CpCo}(\text{CO})_2$ za vzniku neracemického produktu (*?,R,R*)-**5**. Určení stereochemického průběhu reakce stejně jako konverze (*?,R,R*)-**5** na substituovaný derivát pentahelicenu jsou předmětem dalšího studia.



Schema 1

Podporováno Grantovou agenturou České republiky (č. grantu 203/02/0248), Ministerstvem průmyslu a obchodu/Zentiva (č. grantu FI-IM/073) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (Centrum pro biomolekuly, a komplexní molekulární systémy, reg. č. LC05A57).

LITERATURA

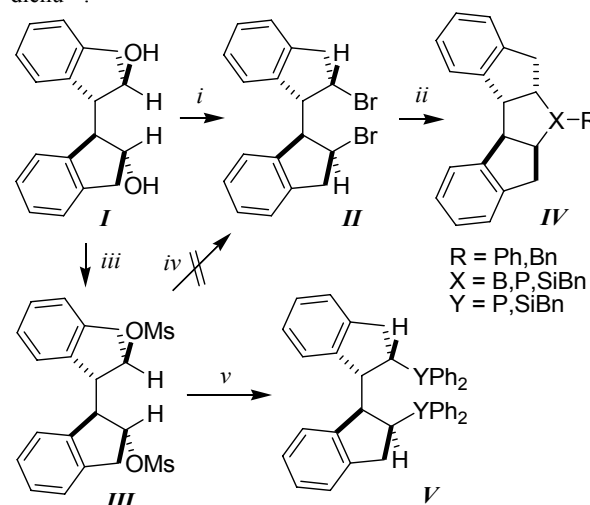
1. Stará, I. G.; Alexandrová, Z.; Teplý, F.; Sehnal, P.; Starý, I.; Šaman, D.; Buděšinský, M.; Cvačka, J.: *Org. Lett.* **7**, 2547 (2005).
2. Teplý, F.; Stará, I. G.; Starý, I.; Kollárovič, A.; Šaman, D.; Vyskočil Š.; Fiedler, P.: *J. Org. Chem.* **68**, 5193 (2003).
3. Teplý, F.; Stará, I. G.; Starý, I.; Kollárovič, A.; Šaman, D.; Rulišek, L.; Fiedler, P.: *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 9175 (2002).

2,2'-DIBROM-1,1'-BIINDAN: PŘÍPRAVA, REAKCE A TEORETICKÁ STUDIE

ONDŘEJ BASZCZYŃSKI a JAROSLAV KVÍČALA

Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; baszczyo@vscht.cz

C_2 -symetrické heterosloučeniny patří mezi perspektivní chirální činidla a ligandy. Klíčovým krokem pro jejich přípravu je regio- a stereoselektivní hydroborace cyklických dienů^{1,2}.



Schema 1. *i* CBr_4 , PPh_3 ; *ii* 1. Mg, 2. RXCl_2 ; *iii* MsCl , NEt_3 ; *iv* NaBr , DMF ; *v* Ph_2YLi

Reakcí 3,3'-biindenu s thexylboranem a následným oxidativním zpracováním reakční směsi vzniká přednostně racemický ($1R^*,1'R^*,2R^*,2'R^*$)-1,1'-biindan-2,2'-diol **I**. Jeho bromace směsí trifenylfosfin-tetrabrommethan poskytla racemický ($1R^*,1'R^*,2S^*,2'S^*$)-2,2'-dibrom-1,1'-biindan **II** jako hlavní stereoisomer v přijatelném výtěžku. Bromace odpovídajícího mesylátu **III** NaBr v DMF byla neúspěšná. Vzniklý racemický dibromid **II** byl transformován na odpovídající bifunkční Grignardovo činidlo a reagován se sérií bifunkčních elektrofilů na C_2 -symetrické heteracyklopentany **V**, zatímco mesylát **III** poskytl diheterosloučeniny **IV**.

Klíčem pro identifikaci jednotlivých stereoisomerů dibromidu **II** bylo porovnání experimentálně získaných ^1H NMR spekter se spektry vypočtenými pomocí DFT metod.

Děkujeme Grantové agentuře České republiky (Grant č. 203/03/0496) a Ministerstvu školství České republiky (Projekt č. MSM223100001) za finanční podporu tohoto projektu.

LITERATURA

1. Zhu G., Cao P., Jiang Q., Zhang X.: *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 1799 (1997).
2. Yang X., Shen J., Da C. Wang H., Su W., Liu D., Wang R., Choi M.C.K., Chan A.S.C.: *Tetrahedron Lett.* **42**, 6573 (2001).

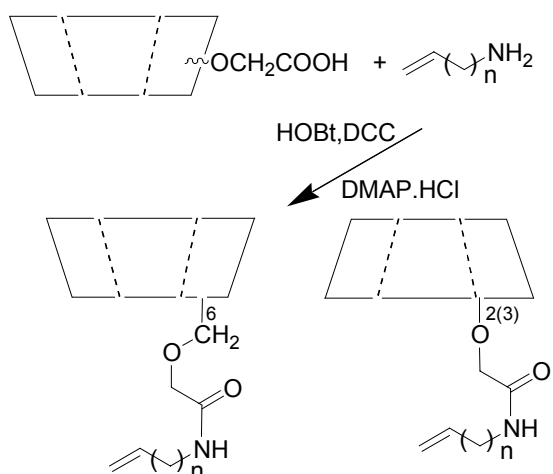
SYNTÉZA POLOHOVÝCH IZOMERŮ DERIVÁTŮ β -CYKLODEXTRINU K NAVÁZÁNÍ NA PORÉZNÍ KŘEMÍK PRO CHEMOSENZORICKÉ APLIKACE

ANTONÍN BERAN a JINDŘICH JINDŘICH

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2 jindrich@natur.cuni.cz

Cyklodextriny¹ (CD) jsou cyklické oligosacharidy ve tvaru komolého kužele s vnitřní dutinou, jejichž významnou vlastností je schopnost vytvářet komplexy s různými organickými molekulami. Komplexaci se mění mimo jiné i spektrální vlastnosti obou látek. Proto je možné využít CD pro chemosenzorické aplikace.

Porézni křemík (PS) po ozáření, při laboratorní teplotě, vyzařuje fotoluminiscenční záření². Ukotvením CD na PS se jeho povrch stabilizuje a vzhledem ke komplexačním vlastnostem CD je možné při interakci s analytem pozorovat specifickou spektrální odezvu. Při tom může hrát roli prostorová orientace CD, délka připojovacího raménka a způsob jeho ukotvení.



Cílem této práce bylo syntetizovat polohové izomery β -CD, kdy v polohách 2¹-O-, 3¹-O- a 6¹-O- budou navázány různě dlouhé lineární aminy³ s terminální dvojnou vazbou, která bude sloužit k připojení na PS.

Projekt je podporován grantem GAUK 424/2004/B-CH/PfF.

LITERATURA

1. Szejtli J.: Chem. Rev. 98, 1743 (1998).
2. Canham L. T.: Appl. Phys. Lett. 57, 1046 (1990).
3. Pudilvá H.: Bakalářská práce, PfF UK Praha (2003).

TRANSFORMACE ISOTHIURONIOVÝCH SOLÍ PYRROLIDIN-2-ONŮ: NOVÁ MOŽNOST KONSTRUKCE THIAZOLIDINDIONOVÉHO CYKLU

LUDMILA HEJTMÁNKOVÁ^a, JIŘÍ HANUSEK^b a MILOŠ SEDLÁK^b

^aVýzkumný ústav farmacie a biochemie, Dolní Měcholupy 130, 102 01 Praha; ^bKatedra organické chemie, FCHT, Univerzita Pardubice, Čs.legií 532 10 Pardubice
Ludmila.Hejtmankova@zentiva.cz

Thiazolidindiony, **I**, jsou jednou z nejperspektivnějších skupin léků k léčbě diabetu 2. typu. Na trh byla první látka tohoto typu uvedena v roce 1997. Látka cíleně působí na inzulinovou resistenci, tedy zvyšují citlivost k inzulinu. Jsou řazeny do nové skupiny tzv. inzulinových senzitizerů. Mohou

také snižovat tvorbu glukózy v játrech. První účinnou látkou z této skupiny byl Troglitazon, **Ia**, který byl však po třech letech stažen z důvodu hepatotoxicity. V České republice jsou v současnosti registrovány dvě látky této skupiny, Rosiglitazon, **Ib** a Pioglitazon, **Ic** (Schéma 1).

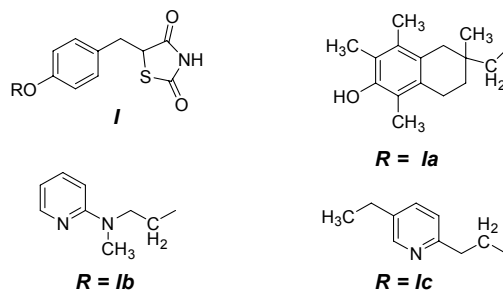


Schéma 1

V naší laboratoři jsme navrhli a ověřili nový způsob konstrukce thiazolidinonového cyklu: reakcí thioamocoviny se substituovanými 3-brom-1-fenylpyrrolidin-2-ony vznikají nejprve odpovídající isothiuroniové soli **II**, které následně v bazickém prostředí kvantitativně podléhají transformační reakci za vzniku iminiothiazolidinonového cyklu **III**¹⁻³ (Schéma 2).

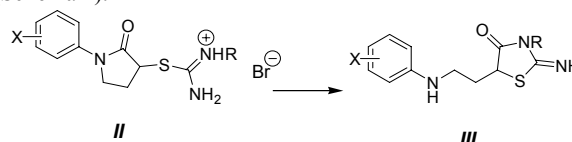


Schéma 2

Práce byla podpořena projektem MŠMT ČR, MSM 002 162 7501.

LITERATURA

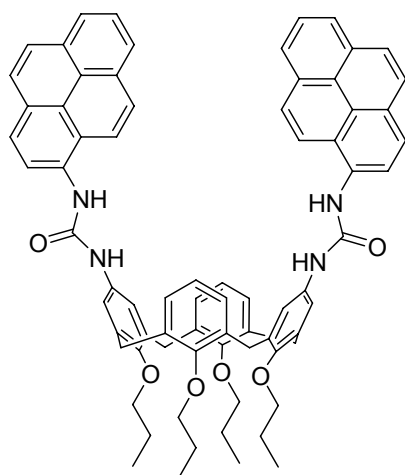
1. Sedlák M., Hejtmánková L., Hanusek J., Macháček V.: J. Heterocyclic Chem. 39, 1105 (2002).
2. Sedlák M., Hanusek J., Hejtmánková L., Kašparová P.: Org. Biomol. Chem. 1, 1204 (2003).
3. Hanusek J., Hejtmánková L., Štěrba V., Sedlák M.: Org. Biomol. Chem. 2, 1756 (2004).

UREA-BASED FLUORESCENT ANION RECEPTOR

MICHAL BOŽOŇ^a, MARTIN KÁŠ^a, KAMIL LANG^b, and PAVEL LHOTÁK^a

^aDepartment of Organic Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bInstitute of Inorganic Chemistry, Academy of Sciences of the CR, 250 68 Řež
bozonm@vscht.cz

New bis(ureido)calix[4]arene based fluorescent anion receptor containing two pyrene units was prepared. Its complexation properties towards chloride anion were measured using the combination of ¹H NMR, UV-Vis and fluorescence spectroscopy.



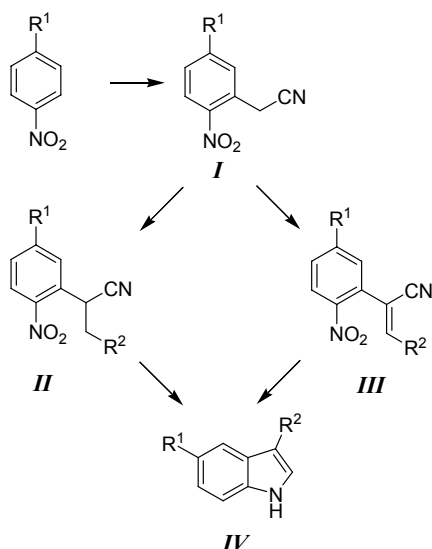
Fluorescent spectra of the receptor in dichloromethane exhibit remarkable changes on addition of the chloride anion – monomer band intensity decreases, while the excimer band intensity increases. The stoichiometry of complex (1:1) was proven using the Job plot analysis and the corresponding complexation constant was determined ($K = 3,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, CH_2Cl_2 , 25°C).

This work is supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 203/03/1566).

VYUŽITÍ ZÁSTUPNÉ NUKLEOFILNÍ SUBSTITUCE (VNS) PRO PŘÍPRAVU 3,5-DISUBSTITUOVANÝCH INDOLŮ

JOSEF ČERNÝ a STANISLAV RÁDL

ZENTIVA-VÚFB a.s., Dolní Měcholupy 130, 10201 Praha 10
josef.cerny@zentiva.cz.



Řada 3,5-disubstituívaných indolů vykazuje významné biologické aktivity. Příkladem mohou být antimigrenika ze

skupiny triptanů. Obvyklá syntéza těchto látek spočívá ve využití Fisherovy indolové syntézy.

Naším záměrem bylo vyvinutí alternativní cesty vedoucí k přípravě 3,5-disubstituívaných indolů. Prvním krokem bylo využití zástupné nukleofilní substituce (VNS)¹ pro přípravu substituovaných acetonitrilových derivátů *I*. V následujícím kroku byly tyto látky alkylací² převedeny na intermediáty *II*, nebo Knoevanegelovou kondensací³ na alkylden deriváty *III*. Konečné 3,5-disubstituívané indoly *IV* byly připraveny reduktivní cyklizací látek *II* a *III*.

Práce byla podpořena z grantu MPO ČR FI-IM/073.

LITERATURA

1. Makosza M., Wojciechowski K.: *Heterocycles* 54, 445 (2001).
2. Makosza M., Danikiewicz W., Wojciechowski K.: *Liebigs Ann. Chem.* 1988, 203.
3. Makosza M., Tyrala A.: *Synth. Commun.* 13, 419 (1986).

SYNTÉZA A VYUŽITÍ *N*-DONOROVÝCH LIGANDŮ A JEJICH KOMPLEXŮ S IONTY PŘECHODNÝCH KOVŮ

RADEK CIBULKA

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5,
16628 Praha 6
cibulka@vscht.cz.

Jednu z největších skupin organických ligandů tvoří sloučeniny, které se koordinují k iontu kovu prostřednictvím atomu dusíku¹. Donorový atom dusíku je v takových sloučeninách obsažen nejčastěji ve formě aminoskupiny (aminy, azacykly apod.), iminoskupiny (Schiffovy báze), hydroxyiminoskupiny (oximy) nebo jako součást heterocyklu (deriváty pyridinu). Mezi nejznámější dusíkaté ligandy patří dimethylglyoxim, 2,2'-bipyridin, fenantrolin, cyklen, cyklam, salen nebo porfyriny. *N*-donorové ligandy se využívají jako analytická či extrakční činidla, pro konstrukci homogenních katalyzátorů, modelů metaloenzymů nebo se přímo zúčastňují dějů v organismech. Dusíkaté ligandy rovněž tvoří důležitou skupinu stavebních bloků v supramolekulární chemii.

Alkyl(pyridin-2-yl)ketoximy *I*, jejichž přípravu a studiem se dlouhodobě zabýváme v naší laboratoři, představují dusíkaté chelatovné ligandy, ve kterých vystupuje jako donorový atom dusík pyridinu a dusík hydroxyiminoskupiny (schéma 1). Koordinací oximové skupiny k iontům kovů dochází ke snížení pK_a této skupiny o několik řádů². Toto zvýšení kyselosti způsobuje, že již při neutrálním pH se koordinovaná hydroxyiminoskupina vyskytuje převážně v deprotonované formě, která je účinným nukleofilem schopným štěpit esterovou vazbu. Tato aktivace nukleofilní skupiny účinkem koordinace představuje analogii aktivace hydroxylové skupiny zinkem v hydrolasách³. Proto byly komplexy ketoximů *I* s ionty přechodných kovů využity k přípravě metalomicelárních systémů urychlujících hydrolýzu esterů⁴. Kromě efektu aktivace oximové skupiny účinkem koordinace se v těchto systémech uplatňuje také micelární katalýza.

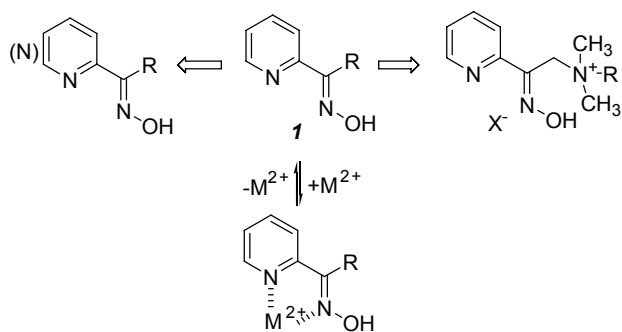


Schéma 1. Koordinace iontů kovů v alkyl(pyridin-2-yl)ketoximech

Ve snaze zvýšit účinnost těchto komplexů byla struktura ketoximů modifikována jednak zavedením druhého dusíkového atomu na pyridinové jádro⁵, jednak zavedením kvarterní amoniové skupiny do postranního řetězce ligandu⁶ (schéma 1). Výzkum v této problematice nakonec vyústil ve studium vztahu struktura vs hydrolytická účinnost u různých komplexů imino-oximových ligandů.

Lipofilní deriváty alkyl(pyridin-2-yl)ketoximů byly rovněž testovány jako ligandy pro selektivní extrakce iontů kovů z vodných roztoků do organických rozpouštědel^{7,8}. Tyto ligandy velmi dobře transportují ionty tvořící čtvercově planární komplexy (Cu^{2+} , Pd^{2+}). Na druhou stranu netransportují ionty Ni^{2+} tvořící oktaedrické komplexy.

Vazba substrátu na volné vazebné místo iontu přechodného kovu ve stabilních komplexech představuje další možnou aplikaci *N*-donorových ligandů. Tímto způsobem jsou vázány či aktivovány substráty v metaloenzýmech. Komplex 2 obsahující ve své molekule flavin kovalentně vázaný ke komplexu Zn^{2+} s cyklenem byl navržen jako nový typ ve vodě rozpustného fotomediátoru (senzibilizátoru) s vazebným místem pro substrát⁹. Flavinová část molekuly představuje chromofor snadno excitovatelný viditelným zářením. Po excitaci se flavin stává silným oxidačním činidlem (pokud je v redukované formě tak redukčním činidlem) schopným intramolekulární a tedy efektivní výměny elektronů se substrátem vázaným reverzibilní koordinační vazbou k cyklenové jednotce. Tento komplex byl testován jako mediátor fotooxidace benzylalkoholů⁹ a jako model fotolyasy¹⁰.

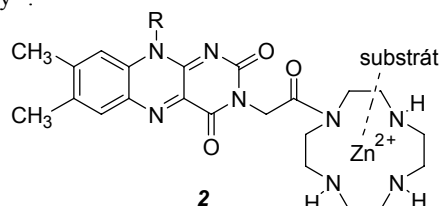


Schéma 2. Interakce substrátu s vazebným místem fotomediátoru 2

LITERATURA

1. Cotton F. A., Wilkinson G., Murillo C. A., Bochmann M.: *Advanced Inorganic Chemistry*, 6th ed., John Wiley, NY 1999.
2. Breslow R., Chipman D.: *J. Am. Chem. Soc.* 87, 4195 (1965).

3. Lippard S. J.: *Principles of Bioinorganic Chemistry*. University Science Book, Mill Valley, CA 1994.
4. Hampl F., Liška F., Mancin F., Tecilla P., Tonellato U.: *Langmuir* 15, 405 (1999).
5. Cibulka R., Hampl F., Martinů T., Mazáč J., Totevová S., Liška F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 64, 1159 (1999).
6. Cibulka R., Dvořák D., Hampl F., Liška F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 62, 1342 (1997).
7. Cibulka R., Hampl F., Šmidrkal J., Liška F.: *Tetrahedron Lett.* 40, 6849 (1999).
8. Svobodová E., Cibulka R., Hampl F., Šmidrkal J., Liška F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 70, 441 (2005).
9. Cibulka R., Vasold R., König B.: *Chem. Eur. J.* 10, 6223 (2004).
10. Wiest O., Harrison C. B., Saettel N. J., Cibulka R., Sax M., König B.: *J. Org. Chem.* 69, 8183 (2004).

NOVÉ IZOSTERY ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍCH SALICYLANILIDŮ

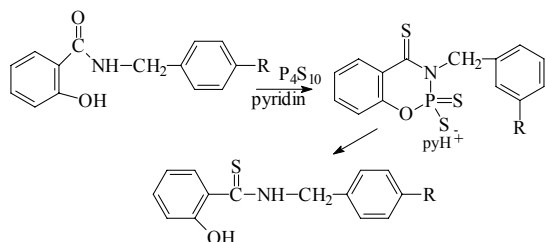
RAFAEL DOLEŽAL, KAREL WAISSER a LENKA KUBICOVÁ

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové, dolezalr@faf.cuni.cz

Při vývoji nových léčiv k volbě předlohy struktury se používá struktura úspěšného léčiva, sledování vedlejších vlastností léčiv a dedukce ze systematického screeningu, dedukce z farmakoforové analýzy. Méně často se přihlíží k mechanismům biologické aktivity. Náš přístup sleduje poslední myšlenku. Antibakteriální aktivita salicylanilidů má rozdílný mechanismus účinku, kterými se odlišuje od všech používaných antituberkulotik. V předchozích našich pracích jsme zaváděli substituenty do obou fenylů a dusíkový atom do acylové i amidové části molekuly, případně jsem zaměňovali v amidové části fenylu za různé heterocykly nebo benzyl. Předložené sdělení si vzalo za cíl: a) studovat *N*-3-pyridylmethyl-salicylamidy (substituční obměny byly prováděny na acylu), b) syntetizovat deriváty *N*-benzylthiosalicylamidů, substituované na benzylu. Syntézy první skupiny látek byly prováděny přímou reakcí kyseliny salicylové (respektive substituované kyseliny salicylové) s 3-aminomethylpyridinem. Reakce vedla ke dvěma produktům, očekávaného *N*-3-pyridylmethylsalicylamidu a jemu odpovídajícího amidinu. V některých případech byl amidin převládajícím produktem a *N*-3-pyridylmethylsalicylamid se nám nepodařilo izolovat. Protože antimykobakteriální aktivita připravených látek nebyla vysoká, uvedený směr výzkumu jsme opustili.

Protože záměna oxoskupiny za thioxoskupinu je zpravidla spojena se zvýšením antimykobakteriální aktivity, v druhé části studie jsme se věnovali přípravě *N*-benzylsalicylamidům. Pro syntézu jsme použili postupů vypracovaných na našem pracovišti¹, jejichž hlavní předností je, že není třeba blokovat hydroxyl. Substituční obměny jsme prováděli na benzylu, a to podle řady navržené Topplisem (H,

4-CH₃, 4-Cl, 4-OCH₃, 3,4-Cl₂). V dalších postupech budeme pokračovat až po ukončení biologického hodnocení látek..



Projekt byl podporován VZ MŠMT 0021620822, a grantem FRVŠ 42/G6/2005.

LITERATURA

- Šustr M.: Disertační práce, Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové 2005.

VYUŽITÍ CHIRÁLNÍCH PYRIDINIMIDAZOLINONŮ JAKO ENANTIOSELEKTIVNÍCH KATALYZÁTORŮ ALLYLOVÉ OXIDACE A HENRYHO REAKCE

PAVEL DRABINA^a a MILOŠ SEDLÁK^a

^aKatedra organické chemie, fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Nám. Čs. legií 565, 532 10 Pardubice pavel.drabina@upce.cz

Byly připraveny chirální pyridinimidazolinonové ligandy, jejichž struktura je velmi podobná oxazolinovým ligandům¹. Tyto ligandy vytvářejí stabilní komplexy s měďnatými a měďnými solemi. Struktura těchto komplexů byla podrobně studována pomocí X-ray spektroskopie.

Měďnaté komplexy pyridinimidazolinonových ligandů byly studovány jako enantioselektivní katalyzátory Henryho reakce (Schéma 1). Použitím 5 mol % katalyzátorů na reakci nitromethanu se substituovanými benzaldehydy byly získány příslušné nitroaldoly s celkovými výtěžky v rozmezí 41 – 81% a maximálními optickými výtěžky 19%.

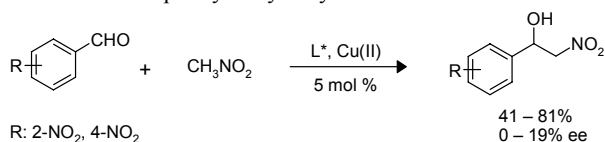


Schéma 1

Měďné komplexy pyridinimidazolinonových ligandů byly použity jako enantioselektivní katalyzátory Karashovy allylové oxidace olefinů². Příprava těchto měďných komplexů byla provedena redukcí měďnatých komplexů fenylhydrazinem *in situ*. Oxidací cyklopentenu, cyklohexenu a cykloheptenu *tert*-butyl peroxybenzoátem za přítomnosti 5 mol % měďného katalyzátoru byly získány příslušné opticky aktivní allyl benzoáty s maximálním optickým výtěžkem 22% (Schéma 2).

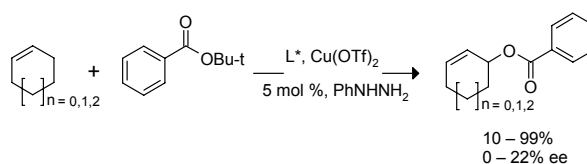


Schéma 2

Práce byla podpořena projektem MŠMT ČR, MSM 002 162 7501 a GA ČR (grant č. 203/04/0646).

LITERATURA

- Sedlák M., Drabina P., Císařová I., Růžička A., Hanusek J., Macháček M.: Tetrahedron Lett. 45, 7723 (2004).
- Malkov A. V., Pernazza D., Bell M., Bella M., Massa A., Teplý F., Meghani P., Kočovský P.: J. Org. Chem. 68, 4727 (2003).

STUDIUM INTERAKCÍ MEZI DNA A INTERKALÁTORY POMOCÍ NMR TECHNIK

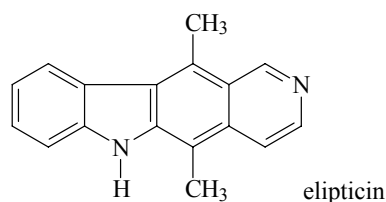
MARTIN DRAČÍNSKÝ a JAN SEJBAL

Katedra organické chemie PŘF UK, Albertov 6, 12843 Praha 2, martindraca@yahoo.com

Jednou z možností jak studovat interakce biomakromolekul, například DNA a proteinů, s malými molekulami (ligandy) je NMR spektroskopie¹. Použití technik NOESY umožňuje zjištění třídimenzionální struktury molekul v roztoku za fyziologických podmínek (pH, iontová síla)^{2,3}.

Většina protinádorových léčiv se vyznačuje vysokou afinitou k DNA, mnohá z nich (například elipticin^{4,5}) se vmezeují mezi páry bází DNA. Tyto látky se označují jako interkalátory.

V této práci byly studovány interakce derivátů elipticinu s krátkými duplexy oligonukleotidů. Duplexy obsahovaly osm párů deoxyribonukleotidů. Konkrétně byly studovány oligonukleotidy d(CGCTAGCG)₂ a d(ATAGCTAT)₂. Prvním úkolem bylo přiřazení všech ¹H NMR signálů oligonukleotidů. K tomuto účelu byla použita dvoudimenzionální spektra NOESY, TOCSY a DQF COSY. Spektra byla měřena jak v H₂O, tak v D₂O. Měření v H₂O umožňuje sledovat i signály vodíků, které se rychle vyměňují s rozpouštědlem (amino a imino vodíky). Poté byly roztoky oligonukleotidů titrovány elipticinem a byly sledovány změny ¹H NMR spekter způsobené přidávkou interkalátoru. Přidávek elipticinu způsobuje změnu chemických posunů oligonukleotidů, změnu tvaru signálů a ve spektrech se objevují nové signály. Interpretací těchto změn bylo zjištěno, že elipticin tvoří s oligonukleotidy komplexy, jejichž střední doba života se pohybuje v řádu milisekund, geometrie komplexů odpovídá interkalaci. Dále byla zjištěno, že elipticin způsobuje destabilizaci dvojšroubovicové struktury oligonukleotidu bohatého na AT páry a naopak stabilizaci dvojšroubovicové struktury oligonukleotidu bohatého na GC páry.



LITERATURA

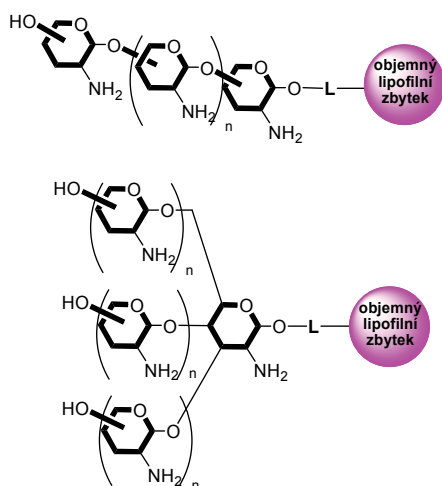
1. Feigon J., Denny W. A., Leupin W., Kearns D. R.: *J. Med. Chem.* **27**, 450 (1984).
2. Fede A., Labhardt A., Bannwarth W., Leupin W.: *Biochemistry* **30**, 11377 (1991).
3. Gao X., Patel D. J.: *Biochemistry* **28**, 751 (1989).
4. Fosse P., Rene B., Charra M., Paoletti C., and Saucier J.M.: *Mol. Pharm.* **42**, 590 (1992).
5. Dračinský M., Castaño O.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**, 1799 (2004).

**SYNTEZA GLYKOSYL DONORŮ OBSAHUJÍCÍCH
2-DEOXY-2-{{(2,2,2-TRICHLOROETHOXY)-
KARBONYL}AMINOVOU} SKUPINU**

LUKÁŠ DRAŠAR^{a,b} a MIROSLAV LEDVINA^a

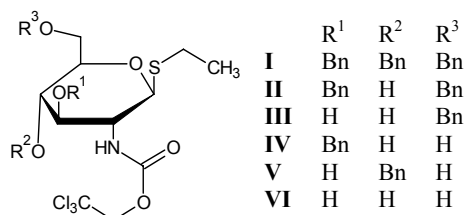
^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6; ^bÚstav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5, PŠČ 166 28, Praha 6

Pro syntézu polykationických lineárních a větvených oligosacharidů D-glukosaminového typu a od nich odvozených glykolipidů, jako vektorů DNA plasmidů při genové terapii byla vyvinuta série stavebních kamenů.



Byly navrženy stavební jednotky **I-VI** s ortogonálním systémem chránících skupin (tj. schopných nezávislého štěpení nebo transformace).

Jako řídicí skupina glykosylačního procesu byla zvolena 2-deoxy-2-{{(2,2,2-dichloroethoxy)karbonyl}aminová} skupina (Troc), která řídí tento proces jako 1,2-*trans* glykosylaci, a je odstranitelná za mírných podmínek.



Projekt je podpořen granty MZ ČR QF3115/2003 MŠMT IP04OCD31.001 a výzkumnými záměry Z4 055 0506 a MSM6046137305.

LITERATURA

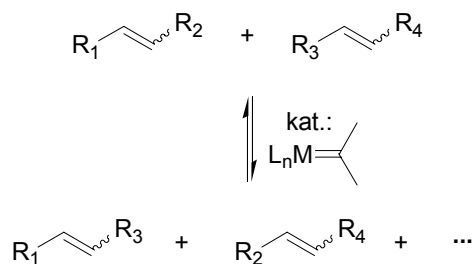
1. Kirby A.J., Camilleri P., Engberts J.B.F.N., Feiters M.C., Nolte R.J.M., Soderman O., Bergsma M., Bell P.C., Fielden M.L., Rodriguez C.L.G., Guedat P., Kermer A., McGregor C., Perrin C., Ronsin G., van Eijk M.C.P.: *Angew. Chem, Int. Ed. Engl.* **42**, 1448 (2003).
2. Miller A.D.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **37**, 1769 (1998).
3. Ellervik U.: Magnusson G.: *Carbohydr. Res.* **280**, 251 (1996).

**SYNTECKÉ VYUŽITÍ METATHESY ALKENŮ
A ALKYNŮ**

DALIMIL DVOŘÁK

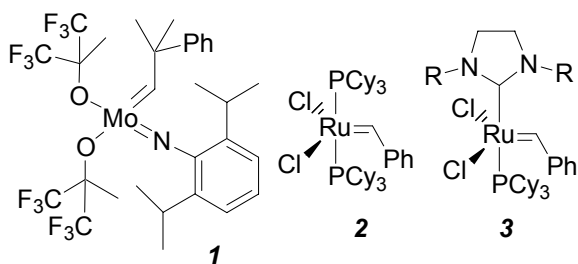
Ústav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6
dalimil.dvorak@vscht.cz

Metathesa alkenů¹ je reakce, při které dochází k výměně alkyldenových zbytků mezi dvěma alkeny. Reakce je katalyzována karbenovými komplexy přechodných kovů a meziproductem je metalacyklobutan.



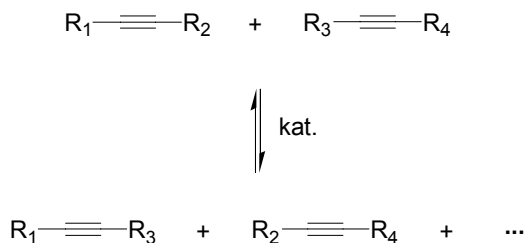
V současné době jsou využívány převážně tři typy katalyzátorů metathesy, které dobře tolerují řadu funkčních skupin. Molybdenové katalyzátory byly zavedené Schrockem a jsou to tetrakoordinované alkyldenové komplexy obecné struktury $[M(=CHCMe_2Ph)(=NAr)(OR)_2]$ ($M = Mo, W$) s velkými substituenty Ar a R. Katalyzátor **I** patří mezi nejaktivnější² a je komerčně dostupný. Komplexy tohoto typu jsou citlivé na vzduch, vlhkost a stopy nečistot obsažené v rozpouštědlech použitých při reakci. Tyto nevýhody jsou vyváženy vysokou reaktivitou - umožňují metathesu di- a trisubstituovaných alkenů a tolerují některé funkční skupiny,

kteří inhibují rutheniové katalyzátory. Rutheniové katalyzátory zavedené Grubsem mají obecnou strukturu $L_2X_2Ru=CH-R$ ($L = PR_3$, N-heterocyklický karbenový ligand, $X = Cl, Br, CF_3CO_2$, $R = CH=CPh_2, Ph, \dots$). Aktivita těchto katalyzátorů je ve většině případů nižší než u „Schrockových“ molybdenových katalyzátorů. Komplex **2**³ je známý "Grubsov katalyzátor první generace", zatímco komplex **3**⁴, nesoucí heterocyklický karbenový ligand, patří mezi "Grubsovy katalyzátory druhé generace". Díky toleranci k mnoha funkčním skupinám, stabilitě na vzduchu a necitlivosti ke stopovým znečištěninám v rozpouštědle se oba tyto typy katalyzátorů široce využívají.



Nejčastější oblasti využití metathesy alkenů jsou: metathesa za uzavření kruhu RCM (Ring-closing metathesis), metathesa za otevření a znovuzavření kruhu (Ring-opening-closing metathesis); „cross“ metathesa alkenů a metathesa enynů.

Metathesa alkenů^{1b} je reakce při které dochází mezi dvěma různými alkyly k výměně skupin vázaných na trojnou vazbu. Předpokládá se, že meziproducty této reakce jsou metalacyklobutadieny.



Jednu skupinu katalyzátorů metathesy alkenů tvoří karbynové komplexy jako je Schrockův komplex $[(t-BuO)_3W\equiv CMe_3]$. Předpokládá se, že mechanismus je obdobný mechanismu metathesy alkenů přičemž klíčovým meziproductem je metalacyklobutadien. Druhou skupinu pak tvoří několikasožkové katalyzátory, jejichž struktura je neznámá, např. kombinace $Mo(CO)_6$ s některými fenoly (*p*- ClC_6H_4OH , *p*- $(F_3C)C_6H_4OH$). V organické syntéze našla metathesa alkenů uplatnění teprve nedávno. Tato reakce řeší nevýhodu metathesy alkenů – obtížnost ovlivnit *E/Z* selektivitu na nově vzniklé dvojné vazbě. Trojnou vazbu je možno metodami klasické organické syntézy převést na (*Z*)-alken (např. hydrogenací na Lindlarově katalyzátoru) nebo na (*E*)-alken (redukcí kovem v kapalném amoniaku).

LITERATURA

1. Přehledy: a) Grubbs R. H., Chang S.: *Tetrahedron* 54, 4413 (1998); b) Fürstner A. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 39, 3012 (2000).

2. Přehled: Schrock R. R.: *Acc. Chem. Res.* 23, 158 (1990).
3. Wilhelm T. E., Belderrain T. R., Brown S. N., Grubbs R. H.: *Organometallics* 16, 3867 (1997).
4. a) Huang J., Schanz H.-J., Stevens E. D., Nolan S. P.: *Organometallics* 18, 5375 (1999); b) Chatterjee A. K., Morgan J. P., Scholl M., Grubbs R. H. *J. Am. Chem. Soc.* 122, 3783 (2000); c) Weskamp T., Kohl F. J., Hieringer W., Gleich D., Herrmann W.A.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 38, 2416 (1999).

BIOTRANSFORMACE MONOTERPENICKÝCH SMĚSÍ

MARCELA DVOŘÁKOVÁ^a, IRENA VALTEROVÁ^b
a TOMÁŠ VANĚK^b

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 6, Praha 2

^bÚstav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, Praha 6

Monoterpenické směsi se získávají z rostlin destilací s vodní parou. Používají se v řadě odvětví a jsou základním zdrojem jednotlivých monoterpenů. Monoterpenické směsi obsahují zejména monoterpenické alkeny, jejichž biotransformací lze získat oxidované monoterpeny, které se často používají jako dochucovadla a složky parfémů.

Naše studie se zabývá biotransformací terpeny (monoterpenická frakce pryskyřice jehličnanů, získává se zpracováním dřeva) pomocí *in vitro* kultury *Picea abies*. Soustředí se na identifikaci produktů biotransformace a zjištění závislosti relativního zastoupení produktů ve směsi v průběhu biotransformace.

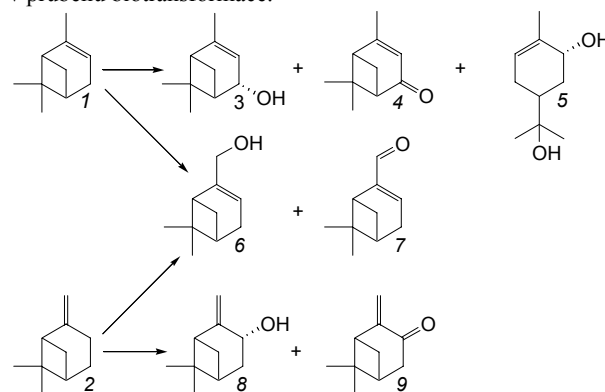


Schéma 1: Hlavní složky terpeny: α -pinen (1), β -pinen (2), a hlavní produkty jeho biotransformace: *trans*-verbenol (3), verbenol (4), *trans*-sobrerol (5), myrtenol (6), myrtenal (7), *trans*-pinocarveol (8), pinocarvon (9)

Bylo zjištěno, že hlavní produkty biotransformace terpeny odpovídají produktům biotransformace jeho jednotlivých složek^{1,2} (viz Schéma 1). Je tedy možné použít pro biotransformace směsi monoterpenů bez jejich předchozího dělení na jednotlivé monoterpeny. Tím je možné získat řadu cenných produktů v jednom biotransformačním kroku.

Studie byla podporována projektem COST 926.10.

LITERATURA

1. Lindmark-Henriksson M., Isaksson D., Sjödin K., Högberg H.-E., Vaněk T., Valterová I., J. Nat. Prod. 66, 337 (2003).
2. Lindmark-Henriksson M., Isaksson D., Vaněk T., Valterová I., Högberg H.-E., Sjödin K., J. Biotechnol. 107, 173 (2004).

NÁZVOSLOVÍ ORGANICKÉ CHEMIE S ANIMOVANÝMI MODELY MOLEKUL

JAROSLAV FIKR

Gymnázium Velké Meziříčí, Sokolovská 27
fikr@gvm

Při výuce názvosloví organické chemie je vhodné studium strukturních vzorců spojit s pozorováním kuličkových modelů. Kliknutím myši na kterýkoliv název nebo vzorec v knize se objeví kuličkový model, se kterým můžeme v prostoru libovolně otáčet.

Např. kuličkový model glukosy se po kliknutí na chirální uhlík sám natáčí tak, aby bylo možno snadno určit konfiguraci na C2 až C5.

Fischerův vzorec fruktosy (ribosy, glukosy) se v animované scéně postupným klikáním mění na Haworthův vzorec tak, aby student lépe pochopil např. souvislost mezi názvem D-glukosa a α - nebo β -D-glukopyranosa.

Dva modely glycerinaldehydu (butan-2-olu, serinu) se můžeme pokusit ztotožnit otáčením, převrácením nebo posouváním. Animované modely těchto molekul se pak klikáním postupně natáčí do takové polohy, aby student mohl snadněji určit konfiguraci podle konvence D/L nebo konvence R/S.

Studium názvů a vzorců organických sloučenin spojené s pozorováním vnitřní architektury těchto molekul pomocí kuličkových modelů vytváří velice dobré předpoklady k lepšímu pochopení chemických vlastností těchto sloučenin při řešení reakcí.

STUDIUM CYKLOKONDENZAČNÍCH REAKCÍ ISOCYKLIČKÝCH I HETEROCYKLIČKÝCH AMINOSLOUČENIN A JEJICH VYUŽITÍ K SYNTÉZÁM NEKONDENZOVANÝCH I KONDENZOVANÝCH HETEROCYKLŮ CHINOXALINOVÉ, TRIAZINOVÉ, PYRAZOLOVÉ, PURINOVÉ A DEZA-PURINOVÉ ŘADY

IVETA FRYŠOVÁ^a, ANTONÍN LYČKA^b a JAN SLOUKA^a

^aKatedra organické chemie, Universita Palackého, Olomouc
Tř. Svobody 8, 771 46 Olomouc; ^bVýzkumný ústav
organických syntéz, Rybitví 296, CZ-532 18 Pardubice 20

K nejzajímavějším principům, na kterých jsou založeny takřka veškeré životní funkce, náleží intramolekulární

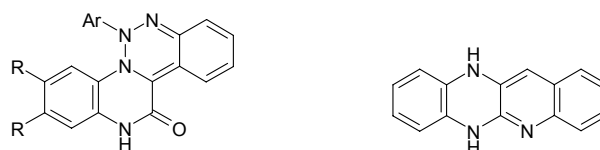
vodíkové vazby N-H...N a N-H...O u DNA a RNA, ale i enzymů a jiných proteinů.

Heterocyklické N-H kyseliny chinoxalinové, 1,2,3-triazinové, 1,2,4-triazinové i pyrazolové řady, které jsou poněkud jiného charakteru než přirozené NH kyseliny pyrimidinové řady (thymín, cytosín) nebo řady purinové (adenín, guanín), mohou s vazebnými centry těchto heterocyklů interferovat a tím zasahovat do jejich funkcí.

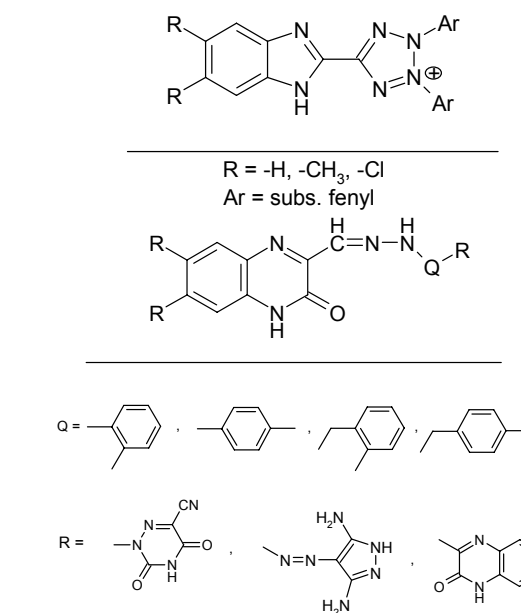
Uvedené heterocykly byly vybrány též i z hlediska možných interakcí jednoho typu, jako jsou donor-akceptorové interakce a hydrofobní interakce methyl-derivátů.

Jako modelové sloučeniny byly vybrány:

- 1) Vícejaderné kondenzované systémy s konstantní vzdáleností N-H skupin^{1,2}



- 2) Vícejaderné nekondenzované heterocyklické N-H kyseliny³⁻⁵



LITERATURA

1. Wiedermannová I., Slouka J., Humpa O., Lemr K.: J. Heterocyclic Chem. 40, 357 (2003).
2. Fryšová I., Lyčka A., Slouka J.: J. Heterocyclic Chem., v tisku (2005).
3. Wiedermannová I., Slouka J.: J. Heterocyclic Chem. 38, 1465 (2001).
4. Wiedermannová I., Slouka J., Lemr K.: Heterocyclic Commun. 8, 479 (2002).
5. Fryšová I., Slouka J., Gucký T.: Arkivoc 11, 1 (2005).

NUKLEOFILNÍ ADICE NA PROTOBERBERINOVÝ A BENZOFENANTHRIDINOVÝ SKELET

LENKA GRÝCOVÁ, DAGMAR HULOVÁ, STANISLAV STANDARA a RADEK MAREK*

Národní centrum pro výzkum biomolekul, PřF, Masarykova univerzita, ILBIT-A4, Kamenice, 625 00 Brno
baracek@chemi.muni.cz, rmarek@chemi.muni.cz

Kvarterní protoberberinové (KPA) a benzo[c]fenantridinové (KBA) alkaloidy patří mezi isochinolinové alkaloidy a jsou součástí velké skupiny sekundárních metabolitů. KPA se vyznačují značnou biologickou aktivitou. Interagují s nukleovými kyselinami a proteiny, vykazují řadu účinků na organismus, např. antibakteriální, antimalarické nebo cytotoxické.

Základem KPA je 5,6-dihydrobenzo[a,g]chinoliniový systém (I) s modifikacemi nejčastěji v polohách 2,3,9 a 10 a KBA 5-methylbenzo[c]fenantridiniový systém (III) se substitucí v polohách 2,3,7 a 8. KPA i KBA jsou charakteristické polární iminiovou skupinou C=N⁺ a její citlivostí na nukleofilní atak. V takovém případě dochází ke vzniku 8- (II) resp. 6- (IV) substituovaných derivátů (viz Schéma 1 a 2).

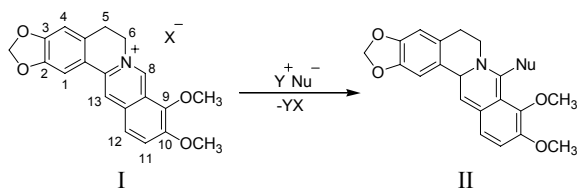


Schéma 1

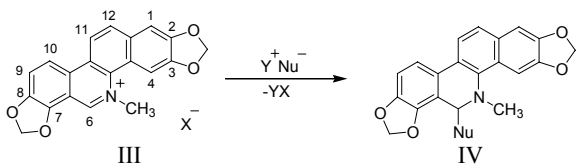


Schéma 2

Práce byla provedena za podpory grantu GA ČR 525/04/0017.

LITERATURA

1. Shamma M.: *The isoquinoline alkaloids*, Academic Press, New York, London 1972.
2. Marek R., Sečkářová P., Hulová D., Marek J., Dostál J., Sklenář V.: *J. Nat. Prod.* 66, 481 (2003).

"IN VITRO" PHYTOEXTRACTION/PHYTODEGRADATION OF CHLORINATED PHENOLS

STANISLAV SMRČEK, VĚRA HABARTOVÁ, ZDEŇKA CHURÁČKOVÁ, and ŠÁRKA PŠONDROVÁ

Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Organic and Nuclear Chemistry, Albertov 6, 128 40 Prague, Czech Republic
smrcek@natur.cuni.cz; verahabartova@centrum.cz

The interaction of pentachlorophenol (PCP) and lower chlorinated phenols with aseptically cultivated plants has been investigated as a model of phytoremediation process. Although the use of PCP is restricted for many years, the low concentrations of this compound are still present in the environment.

The fate of pentachlorophenol in plants has been investigated using non-radioactive and radioactively labelled pentachlorophenol. [U-¹⁴C]Pentachlorophenol was prepared by original reaction sequence which involves chlorination of ¹⁴C-labelled phenol by Ballester-Molinet-Castaner reagent^{1,2} to yield hexachloro-2,5-cyclohexadien-1-one and by subsequent reduction of this compound by sodium iodide.

By using *in vitro* cultivation of various plant species on the PCP contaminated media the phytoextraction curves were obtained and the possibility of PCP extraction demonstrated. The formation of metabolites was investigated using suspension cultures to obtain larger amount of transformed material for subsequent separation and structure elucidation. The storage of PCP in plant tissues was studied using radiolabelled analogue of PCP.

In the studies which are designed as phytoremediation models, it is necessary to investigate the metabolites of primary xenobiotics formed by the microbial attack in rhizosphere as well. Selected lower chlorinated phenols and chlorinated catechols were chosen as possible rhizospheral/microbial metabolites of PCP and their extraction by root system of *in vitro* cultivated various plant species was tested.

In the biological experiments *in vitro* cultivated plant species *Sinapis alba*, *Brassica napus*, *Medicago sativa*, *Zea mays*, and *Avena sativa* were used. All the plant species tested were able to extract PCP or its lower chlorinated analogues. The degree of phytoextraction from nutrient media is time and species dependent. The translocation of pentachlorophenol from roots to shoot plant parts seems to be the best at *M. sativa* and *S. alba* species. PCP and/or its metabolites are stored very fast in unextractable form into cell walls. The dechlorinated and/or hydroxylated PCP analogues were detected in suspension culture biotransformation experiment.

This work is supported by COST 837 action.

REFERENCES

1. Ballester M., Molinet C., Castaner J.: *J. Am. Chem. Soc.* 82, 4254 (1960).
2. Deinzer M., Miller T., Lamberton J., Arbogast B.: *J. Org. Chem.* 46, 4800 (1981).

ALKALOIDY A JEJICH SYNTÉZA

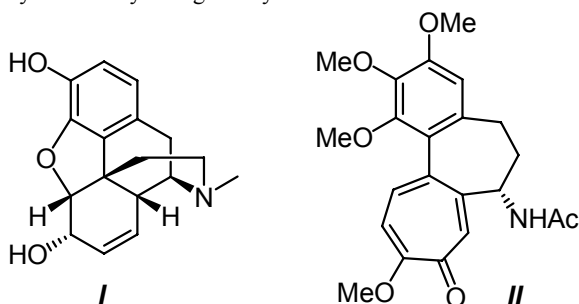
JOSEF HÁJÍČEK

Zentiva VÚFB, a.s., U Kabelovny 130, 10237 Praha 10
josef.hajicek@zentiva.cz

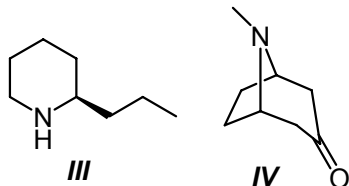
Alkaloidy, které můžeme definovat jako dusíkaté látky přirozeného původu, představují nejrozsašlejší a strukturně nejrozmanitější skupinu přírodních látek i přesto, že některé

typy sloučenin jsou z nich vyčleněny ze specifických důvodů (peptidy a j.).

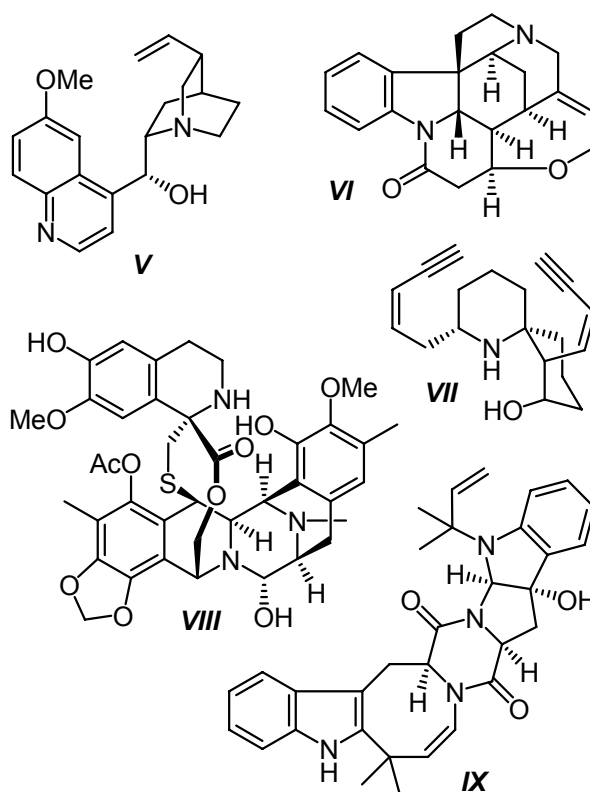
Chemie alkaloidů má zhruba dvoustletou historii; její počátky můžeme klást do doby na počátku 19. století, kdy byly izolovány první alkaloidy v čistém stavu. Vzhledem ke složitým skeletům však často trvalo mnoho let, i více než století, než byla definitivně určena jejich struktura (např. (-)-morfin (**I**), 1804-1925). Termín alkaloid, poprvé užitý Meissnerem v r. 1819, odrážel představu, že tyto základní dusíkaté látky jsou rostlinné alkálie. Význam pojmu alkaloid se postupně měnil v souvislosti s pokrokem v této oblasti, a zahrnul i takové látky, jako je (-)-kolchicin (**II**). V současnosti můžeme řadit k alkaloidům dusíkaté látky produkované jakýmkoli živými organismy.



Postupně se začala rozvíjet i totální syntéza alkaloidů^{1,2}. Prvním syntetizovaným alkaloidem (Ladenburg, 1886) byl patrně racemický i opticky aktivní koniin (**III**), velkým krokem vpřed byla Robinsonova biomimetická syntéza symetrického tropinonu (**IV**), jehož molekula byla elegantně sestavena z jednoduchých stavebních kamenů (1917). Po éře, z níž jasně čnějí syntetické práce Woodwarda a spolupracovníků, následuje dosud pokračující období systematického rozvoje organické syntézy a jejich aplikací v syntéze přírodních látek.



Těžištěm přednášky bude stručný nástin potenciálu obecných syntetických metod v totální syntéze alkaloidů, který bude ilustrován na vybraných příkladech z literatury, např. na (-)-chininu (**V**), (-)-strychninu (**VI**), (-)-histrionikotoxinu (**VII**), ekteinascidinu 743 (**VIII**) a okaraminu N (**IX**). Diskutována bude Mannichova reakce a příbuzné procesy, které mají klíčový význam v syntéze těchto metabolitů; zmíněny budou i další metody, jako jsou Michaelova adice, či [4+2]- a [3+2]-cykloadiční reakce, a rovněž aplikace kovů, které jsou stále významnějším prostředkem při konstrukci alkaloidních skeletů (Heckova reakce, kruhotvorná metatéza ...).



Je nepochybné, že syntéza alkaloidů (a přírodních látek obecně) bude nadále uměním, v němž chemická logika a invence budou spolupůsobit v dalším rozvoji této disciplíny.

LITERATURA

1. Hájiček J.: Chem. Listy 98, 1096 (2004).
2. Hájiček J.: Chem. Listy 99, 298 (2005).

CHEMICKY MODIFIKOVANÉ ANALOGY RESVERATROLU A JEJICH IMUNOMODULAČNÍ VLASTNOSTI

JURAJ HARMATHA^a, JAN ŠMIDRKAL^b, EVA KMONÍČKOVÁ^c a ZDENĚK ZÍDEK^c

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, 16610 Praha 6;

^bVysoká škola chemicko-technologická, Ústav technologie mléka a tuků, 16628 Praha 6; ^cÚstav experimentální medicíny AVČR, 142 20 Praha 4

harmatha@uochb.cas.cz; zidekz@biomed.cas.cz;

Jan.Smidrkal@vscht.cz; kmonickova@biomed.cas.cz

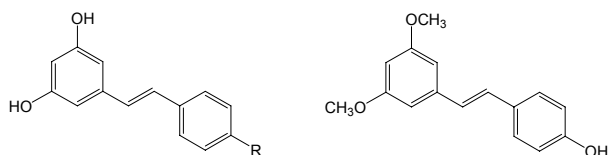
Polyhydroxystilbeny jsou sice malou, ale svým biologickým působením významnou skupinou rostlinných sekundárních metabolitů polyfenolického typu a kombinovaného fenylypropan-polyketidového původu¹. Plní různé chemo-ekologické, především obranné funkce rostlin v interakci s mikroorganismy nebo s nepřízní svého životního prostředí. Tato obrana má často fytoalexinový charakter, to znamená, že rostlina produkuje dané látky v účinné koncentraci teprve až po stresu vyvolaném takovýmto

napadením či nepříznivým působením. Příkladem může sloužit pinosylvin (**1**) u borovic nebo jeho hydroxylový analog resveratrol (**2**) u révy vinné.

Resveratrol a jeho různorodé biologické aktivity² se staly předmětem rozsáhlého výzkumu a využití v potravinářské i farmaceutické praxi. Resveratrol a jeho deriváty jsou uznávanou aktivní složkou mnoha funkčních potravinových doplňků (nutraceutik). Antioxidační vlastnosti a rozsáhlé farmakologické působení s potenciálně chemoprotektivními účinky řadí resveratrol do postavení významného přídatku kvalitní lidské výživy. Řadí ho také k nejvíce zkoumaným polyfenolům posledních let.

Poměrně novým poznatkem je biologická účinnost a z toho vyplývající nezanedbatelná role resveratrolu a příbuzných stilbenoidů v chemické interakci mezi rostlinami a hmyzem. Mnohé ze stilbenoidů se projevují ve specifických testech prováděných na hmyzích buňkách jako antagonisté metamorfózního hormonu ekdysonu³. Takovéto působení na ekdysteroidním receptoru hmyzu svědčí i o jiných než jenom oxido-redukčních mechanismech účinku stilbenoidů. Otvírá úvahy o širších možnostech působení i na některé další receptory.

Zde bylo testováno působení tří vybraných strukturně příbuzných stilbenů, pinosylvinu (**1**), *trans*-resveratrolu (**2**) a pterostilbenu (**3**), na imunobiologickou odezvu iniciovanou lipopolysacharidem a interferonem- γ v podmínkách *in vitro* za použití myších peritoneálních makrofagů. Zejména byla zkoumána produkce oxidu dusnatého a sekrece cytokinů a chemokinů. Série testovaných látek obsahovala stilbeny lišící se počtem, polohou a charakterem substituentů na fenolických jádrech (s různou kombinací hydroxy- a methoxy-skupin). Účinnost stilbenoidů byla porovnávána s biogeneticky příbuznými fenylypropanoidy lignanového typu⁴.



1. pinosylvin, R = H
2. *trans*-resveratrol, R = OH

3. pterostilben

Testované látky byly připraveny chemickou syntézou¹. Svoji chemickou strukturou ovšem představují přírodní stilbeny, obsažené většinou jen v minoritním zastoupení v rostlinách rodu *Vitis* (*trans*-resveratrol) či *Pinus* (pinosylvin). Resveratrol, tvořící se v révě vinné (*Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*)), dostává se zásluhou technologie výroby červených vín (2-10 mg.l⁻¹) i do konečného produktu této výroby, do vína samotného. V řádově menších koncentracích se ovšem nachází i ve vínech bílých (0,2-0,8 mg.l⁻¹). Předpokládá se, že právě resveratrol spolu s některými flavonoidy je účinnou složkou odpovědnou za blahodárné působení vína na zdraví (tzv. francouzský paradox).

Nejvyšší imunomodulační aktivitu projevil ve vyšších koncentracích *trans*-resveratrol (**2**), u nižších koncentrací se pak aktivita všech tří stilbenů téměř vyrovnala. Z dosavadních výsledků lze usoudit, že strukturně-aktivitní vztahy nejsou nijak znatelně ovlivněny přítomností volného fenolického hydroxyly a jeho chemickou reaktivitou. Je to v souladu

s poznatky, které jsme získali i u aktivit lignanů⁴, kde dokonce methoxy- či methylenedioxyderiváty vykazovaly vyšší aktivity než jejich analogy s volnými fenolickými hydroxyly.

Práce byla podpořena grantem GAČR č. 203/04/0298 a částečně i výzkumnými projekty Z4 055 0506 a AV0Z50390512.

LITERATURA

- Harmatha J.: Chem. Listy 99, 622 (2005).
- Šmidrkal J., Filip V., Melzoch K., Hanzlíková I., Buckiová D., Křisa B.: Chem. Listy 95, 602 (2001).
- Harmatha J., Dinan L.: Phytochem. Rev. 2, 321 (2003).
- Harmatha J., Kmoníčková E., Zídek Z. ve sborníku: *Polyphenols Communications 2004*, str. 217, Gummerus Printing, Helsinky 2004.

ECDYBASE [<http://ecdybase.org>] – DATABASE PŘÍRODNÍCH ECDYSTEROIDŮ, AKTUALIZOVANÁ PRO ROK 2005

JURAJ HARMATHA^a a RENÉ LAFONT^b

^aÚstav organické chemie a biochemie, AVČR, 16610 Praha 6,

^bLaboratoire des Proteines: biochimie structurale et fonctionnelle, Université Pierre et Marie Curie, 75252 Paris 6, France
harmatha@uochb.cas.cz; rene.lafont@snv.jussieu.fr

Příručku „The Ecdysone Handbook“, původně vytvořili René Lafont a Ian D. Wilson. Její první vydání¹ bylo v roce 1992 publikováno ve formě skript. Toto vydání obsahovalo obecná data o 170 tehdy známých přírodních ekdysteroidech. Každá položka obsahovala tehdy dostupná biologická, chemická, strukturní, spektroskopická (UF, IČ, HS, JMR) a chromatografická data jednotlivých látek, spolu s odkazy na příslušnou vybranou literaturu. Rodina přírodních ekdysteroidů se ovšem v průběhu dalších let postupně rozrůstala, takže druhé rozšířené vydání², publikované v roce 1996, už obsahovalo přes 260 látek. Počet nových látek však neustále rostl (například na sklonku roku 2000 jich už bylo 312) a žádal si tudíž nového aktualizovaného vydání. Pokusné zpracování a vytištění 312 položek (minimálně dvoustránkových pro každou látku) ukázalo, že toto vydání by už vlastně představovalo skripta přinejmenším dvoudílná a tudíž i vyšší finanční náklady pro jejich vydání. Protože však počet zájemců o takto specializované dílo zůstával i nadále poměrně omezený, k dalšímu vydání této příručky už nedošlo. Navíc, trvalým problémem by i nadále zůstala neustálá potřeba další a další aktualizace takovéto příručky. To vedlo k nápadu přetvořit příručku na databasi, volně dostupnou všem zájemcům o ekdysteroidy a zároveň umožňující neustálou aktualizaci. Proto byla všechna původně sebraná a i nově aktualizovaná data převedena do formy Ecdybase³, která pak byla prezentována v roce 2002 na 15th Ecdysone Workshop⁴ a zároveň byla i volně zpřístupněna na URL <http://ecdybase.org>. Návrh a tvorba příslušného rozhraní, obsluha souborů, umístění dat na serveru a jeho provoz, jakož i sledování statistiky zákaznických přístupů, byly vytvořeny, udržovány a jsou i nadále rozvíjeny firmou Cybersales a.s. v Praze.

Současná aktualizace se týče doplnění Ecdybase o nové látky publikované na přelomu let 2004-5 a o dodatky

nových dat k již zařazeným látkám z minulých let, získaných ovšem z nejnovější literatury nebo z vlastních měření. K současné aktualizaci patří i rozšíření tabulky preparátů s obsahem ekdysteroidů, včetně přímých spojení na domovské stránky jejich producentů. Tato aktualizace se provedla již podruhé v letošním roce. Zdokonalena byla také funkce umožňující vyhledávání látek podle jejich jména, nebo i jen části jména (s výslednou nabídkou seznamu jmen všech látek obsahujících zvolenou část, či jen fragment jména, obsahující alespoň řadu 3 po sobě následujících písmen). Vyhledávání je formálně nezávislé (case-insensitive), takže i chybně napsané jméno vede k nalezení správného výsledku. Současný systém umožňuje taktéž vyhledávání podle molekulové hmotnosti, podle elementárního složení $C_{nx}H_{ny}O_{nz}$ (nebo selektivně jen podle počtu jednotlivých prvků, například C_{nx} nebo O_{nz}), ale také podle výskytu v biologických zdrojích (vyhledávání je i zde „case-insensitive“, a tudíž i zde sada alespoň 3 po sobě následujících písmen umožní vyhledávání i jen podle neúplného jména, jeho fragmentu, nebo i chybného přepisu, či zkomoleného názvu). Vyhledávání je možné i podle jmen autorů (z nabídnutého seznamu všech spoluautorů podílejících se na publikování dat zahrnutých v Ecdybase). Vyhledávání podle jmen umožní vlastně získat i přehled o tom, kdo které látky má, nebo by mohl mít k dispozici jako standardy nebo vzorky pro další biologická bádání.

Ze statistiky zákaznických přístupů, lze získat zajímavé informace o vývoji sledovanosti i o současném využití Ecdybase. Celkový počet návštěv od zveřejnění Ecdybase (včetně její zkušební verze od prosince 2001) dosahuje již počtu 65 tisíců. Do její prezentace na 15th Ecdybase Workshop⁴ šlo ovšem jen o desítky návštěv měsíčně, po něm ovšem již o stovky. Návštěvnost pak neustále a plynule rostla. Od března 2003 měsíční návštěvnost již stabilně přesahovala jednoho tisíce návštěv, od září 2004 pak dvou tisíců a od února 2005 trvale překračuje 2500 návštěv, s maximem 3795 návštěv v dubnu 2005. Distribuce návštěvnosti podle zemí je značně nerovnoměrná. Například v dubnu 2005 vykazuje zastoupení zemí v rozmezí od USA - komerční zájemci (18%), přes Německo (8%), Švýcarsko (4%), Itálii, Kazachstan a USA - akademická obec (po 3%), až po Nizozemsko a ČR (po 2%). Dalších 51 zemí se podílelo na návštěvnosti souhrnně 13%, přímá vyhledávání ze sítě 13% a z nezjištěných nebo neznámých adres 31%. Přímý dopad (tzv. real impact) lze jen těžko posoudit. Podle Web of Science byla Ecdybase citovaná různými autory dosud jen 8 krát, zatím co předešlá vydání The Ecdybase Handbook 61 krát (druhé, z r. 1996) a 20 krát (první, z r. 1992). Počet návštěv Ecdybase z akademických adres (přímo zjištěných i těch odhadovaných) je ve velkém nepoměru ke skutečné citovanosti, což znamená, že mnozí autoři buď ještě stále nepovažují za závazné odkazovat na své internetové zdroje informací, nebo je využívají především k orientaci pro nalezení zdrojů původních, které pak citují.

Práce byla podpořena grantem GAČR č. 203/04/0298 a částečně i výzkumným projektem Z4 055 0506.

LITERATURA

1. Lafont R., Wilson I.D.: *The Ecdybase Handbook*, 1st Edition, The Chromatographic Society Press, Nottingham, 1992, pp. 1-392.

2. Lafont R., Wilson I.D.: *The Ecdybase Handbook*, 2nd Edition, The Chromatographic Society Press, Nottingham, 1996, pp. 1-525.
3. Lafont R., Harmatha J., Marion-Poll F., Dinan L., Wilson I.D.: *Ecdybase – The Ecdybase Handbook*, 3rd Edition, <http://ecdybase.org>, Cybersales, Prague, 2002.
4. Lafont R., Harmatha J., Marion-Poll F., Dinan L., Wilson I.D.: *Ecdybase – The Ecdybase Handbook*, 3rd Edition, <http://www.insectscience.org/2.16/index.htm>.

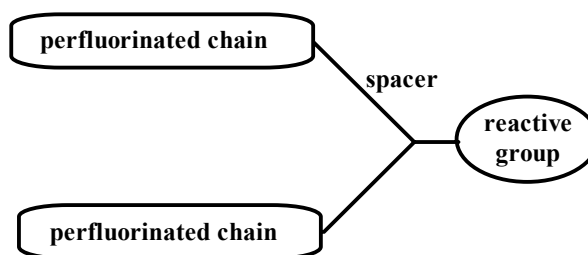
BRANCHED FLUORINATED TRIFLATES – BUILDING BLOCKS FOR THE CONSTRUCTION OF FLUORINATED DENDRONES

MARTIN HAVLÍK^a, ROBERT KAPLÁNEK^{a,b}, TOMÁŠ BŘÍZA^{a,b}, BOHUMIL DOLENSKÝ^a, ZDENĚK KEJÍK^a, PAVEL MARTÁSEK^b, and VLADIMÍR KRÁL^a

^aDepartment of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology in Prague, Technická 5, 16628 Prague 6;
^bFirst Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Kateřinská 32, 12108 Prague 2

One of the several approaches of construction dendrimers is synthesis of corresponding dendrone. This one is connected in final step to chosen core. In this case there are two fundamental problems. At first, to find suitable synthetic route for preparation of dendrone. The second problem is reactivity of such dendrone toward core.

At first we had to developed the synthesis of corresponding fluorinated agent suitable for introducing of fluorinated units. The synthesis starts from commercially available polyfluorinated iodide which is in several steps transformed into branched fluorinated triflate^{1,2}. Its reactivity was tested with alcoholates and amines. Furthermore, this triflate will be used as a building block for construction of fluorinated dendrones.



Authors thank for financial suport. Grant of GAAV No.: KJB401280501

REFERENCES

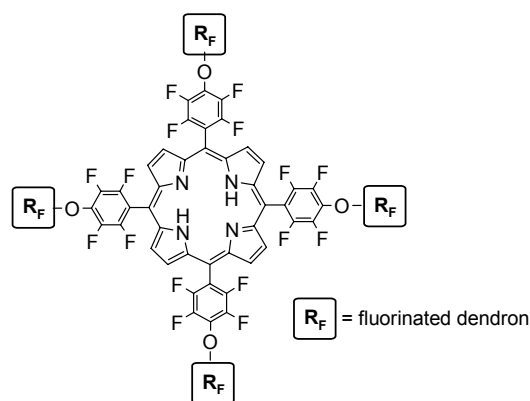
1. Bříza T., Kvíčala J., Mysík P., Paleta O., Čermák J.: *Synlett* 5, 685 (2001).
2. Loiseau J., Fouquet E., Fish R.H., Vincent J.M., Verlhac J.B.: *J. Fluorine Chem.* 108, 195 (2001).

FLUORINATED DENDRIMERS BASED ON PORPHYRINS

MARTIN HAVLÍK^a, TOMÁŠ BRÍZA^{a,b}, ROBERT KAPLÁNEK^{a,b}, BOHUMIL DOLENSKÝ^a, ZDENEK KEJÍK^a, PAVEL MARTÁSEK^b, and VLADIMÍR KRÁL^a

^aDepartment of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology in Prague, Technická 5, 16628 Prague 6, ^bFirst Faculty of Medicine, Charles University in Prague, Kateřinská 32, 12108 Prague 2

Dendrimers constitute one of the major new developments in the field of polymers, very different from linear polymers. Few dendrimers having fluorine in some part of their structure are already described. Three main topics are emerging for applications and uses of fluorinated dendrimers: catalysis, new materials and biomedical applications.



We aimed our effort on synthesis of fluorinated dendrimers based on porphyrines. As a starting porphyrine we have chosen meso-pentafluorophenyl-porphyrin, which serves as a core with four reactive centers. To this core we have tried to connect corresponding small dendrones. We have synthesised porphyrine substituted with twelve fluorinated chains and synthesis of larger dendrimers is in development.

Authors thank for financial suport. Grant of GAAV No.: KJB401280501.

REFERENCES

1. Caminade A.-M., Turrin C.-O., Sutra P., Majoral J.-P.: Curr. Opin. in Colloid Interface Sci. 8, 282 (2003).

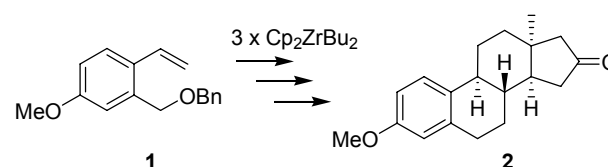
MODULÁRNÍ SYNTÉZA STEROIDŮ S AROMATICKÝM A-KRUHEM

PAVEL HERRMANN^{a,b} a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, a Centrum pro nová antivirotika a antineoplastika, PřF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AVČR, Flemingovo nám. 2, 16610 Praha 6 herrmann@uochb.cas.cz, kotora@natur.cuni.cz

Cílem našeho projektu je vyvinout jednoduchou a jednotnou syntetickou metodiku pro přípravu polycyklických přírodních sloučenin (isoprenoidů). Naše strategie je založena na opakovaném použití jednoho činidla za různých reakčních podmínek. Tímto činidlem je dibutylzirkonocen (Negishiho činidlo), který reaguje s různými substráty za vzniku stabilních organozirkoničitých sloučenin, které mohou být dále využity k tvorbě C-C vazeb¹⁻⁴.

Schůdnost této strategie byla demonstrována na syntéze derivátů estronu. Například steroid **2**, (\pm)-estra-1,3,5(10)-trien-16-on, byl připraven ve třech krocích ze snadno dostupného styrenu **1**. Každý krok je založen na použití Negishiho činidla za vzniku organozirkoničité sloučeniny. Tyto meziproducty jsou následně „in situ“ transmetalovány CuCl na organomědné sloučeniny, které pak reagují s různými elektrofilů. Ve výsledku pak dochází k postupně výstavbě celého steroidního skeletu. Syntetické a stereochemické aspekty celé syntézy budou diskutovány.



Projekt byl financován z Centra pro nová antivirotika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M6138896301) a grantem 322/2005/B-CH/PrF GAUK.

LITERATURA

1. Negishi E., in: *Comprehensive Organic Synthesis* (Trost B.M., Paquette L.A., Eds.) Vol. 5, p. 1163. Pergamon, 1991.
2. Takahashi T., Kotora M., Kasai K. J.: Chem. Soc., Chem. Commun. 1994, 2693.
3. *Titanium and Zirconium in Organic Synthesis*, Ed. Marek, I.; Wiley-VCH, Weinheim, 2002.
4. Ikeuchi Y., Taguchi T., Hanzawa Y.: J. Org. Chem. 70, 756 (2005).

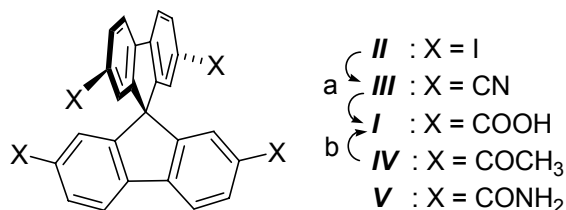
SPIROBIFLUORENOVÉ STAVEBNÍ BLOKY PRO KONSTRUKCI DUTÝCH STRUKTUR

PETR HOLÝ^a, MARTIN HAVLÍK^b, MILOŠ TICHÝ^a, IVANA ČISAŘOVÁ^c a JIŘÍ ZÁVADA^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, ^bVysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^cPřírodovědecká fakulta UK, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2 petrholý@uochb.cas.cz

Ve struktuře 9,9'-spirobifluoren-2,2',7,7'-tetrakarboxylové kyseliny **I** jsou funkční skupiny orientovány ve dvou kolmých směrech, což vytváří předpoklad pro vodíkovými vazbami řízenou asociaci molekul v krystalu do síťovaných vrstev. Cílová kyselina **I** byla připravena z výchozího spirobifluorenu dvěma alternativními postupy (a, b). V prvním byl tetrajódderivát **II** převeden na tetranitril **III** a ten

hydrolyzován, v druhém případě byl připraven tetraacetyl-derivát **IV** a ten oxidován alkalickým bromnanem.



Krystalová struktura tetrakyseliny **I** vykazuje značný podíl volného prostoru, který vzniká vrstvením 2D sítí s rozměrnými čtverovými oky. Systém vodíkových vazeb organizujících molekuly do těchto síťovaných vrstev byl porovnán se strukturou rovněž vodíkovými vazbami utvářených vrstev u dříve studovaných 2,2',6,6'- a 2,2',5,5'-tetra-substituovaných bifenylových stavebních bloků.

Vzhledem k možnosti analogického motivu vodíkových vazeb u karboxylové a amidové funkce byla tetrakyselina **I** převedena na odpovídající tetraamid **V** a jeho krystalová struktura konfrontována s formováním 2D vrstev v krystalu tetrakyseliny **I**.

Autoři děkují za finanční podporu GA ČR (203/03/0087).

LITERATURA

1. Wu R., Schummm J. S., Pearson D. L., Tour J. M.: *J. Org. Chem.* 61, 6906 (1996).
2. Fournier J.-H., Maris T., Wuest J. D.: *J. Org. Chem.* 69, 1761 (2004).
3. Prelog V., Bedekovic D.: *Helv. Chim. Acta* 62, 2285 (1979).

GC × GC/TOF MS TECHNIQUE - A NEW TOOL IN IDENTIFICATION OF INSECT PHEROMONES: ANALYSIS OF THE PERSIMMON BARK BORER SEX PHEROMONE GLAND

BLANKA KALINOVÁ^a, PAVEL JIROŠ^a, JAN ŽDÁREK^a, XIUJUN WEN^b, and MICHAL HOSKOVEC^a

^aDepartment of Natural Products, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the CR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6; ^bHebei Academy of Forestry Sciences, 75 Wugi Road, Shijiazhuang, 050061, China

Conventional gas chromatography with FID and electroantennographic detection (GC-EAD)¹ and comprehensive two-dimensional (GC × GC) system coupled to a time-of-flight mass spectrometric detector (TOFMS)^{2,3} were combined to analyse female sex pheromone gland extract of the persimmon bark borer, *Euzophera batangensis*⁴. GC-EAD analysis showed two EAD responses in GC areas where no compounds were detected by FID detector. GC × GC/TOFMS analysis of this area showed the presence of several compounds including (9*Z*,12*E*)-tetradeca-9,12-dien-1-ol and (9*Z*)-tetradec-9-en-1-ol, pheromone components of

closely related *Euzophera* species. A close correlation of retention behaviour of EAD activity of *E. batangensis* gland extract with synthetic (9*Z*,12*E*)-tetradeca-9,12-dien-1-ol and (9*Z*)-tetradec-9-en-1-ol, respectively, confirmed the identification. Synthetic (9*Z*,12*E*)-tetradeca-9,12-dien-1-ol and (9*Z*)-tetradec-9-en-1-ol elicited significant EAD responses in GC-EAD experiments. These results qualify (9*Z*,12*E*)-tetradeca-9,12-dien-1-ol and (9*Z*)-tetradec-9-en-1-ol as female sex pheromone candidates in *E. batangensis*. Besides, our experiments clearly show that GC × GC/TOFMS system is an extremely powerful tool in analysis of insect semiochemicals with sensitivity almost at antennal detector (EAD) level.

REFERENCES

1. Struble D.L., Arn H., in: *Techniques in Pheromone Research*, pp. 161-178, Springer Verlag, NY, 1984.
2. van Deursen M., Beens J., Janssen H.-G., Leclercq P., Cramers C.: *J. Chromatogr., A* 878, 205 (2000).
3. Deursen M. van, Beens J., Reijenga J., Lipman P., Cramers C.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 23, 507 (2000).
4. Cho H.Y., Paek M.K., Bae Y. S.: *Insecta Koreana* 15, 23 (1998).

SYNTÉZA A BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI DERIVÁTŮ 2,3-DISUBST. 4(1H)-CHINOLONŮ – DUSÍKATÝCH ANALOGŮ FLAVONŮ.

PAVEL HRADIL^{a,b} a JAN HLAVÁČ^b

^aFarmak a.s., Na Vlčinci 3, 771 17 Olomouc; ^bKatedra organické chemie, Universita Palackého, Olomouc Tř. Svobody 8, 771 46 Olomouc
hradil@farmak.cz, hlavac@prfnw.upol.cz

2-Substituované 4(1*H*)-chinolony jsou poměrně studovanou skupinou látek a existuje řada prací popisujících jejich syntézu. Syntéza větší skupiny chinolonů je popsána v pracích^{1,2}. Mezi nejlepší metody přípravy patří reakce substituovaných anilinů s benzoyloctanem ethylnatým za kyselých katalýz poskytující výtěžky 57-85% (cit.¹).

Oproti tomu syntéza 3-hydroxyderivátů je mnohem méně prostudována. Nejstarší práce³ pochází z roku 1972. Syntéza je založena na reakci 2-nitrobenzaldehydu, který poskytuje základní 2-fenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-chinolon ve třech stupních ve výtěžku 78 % teorie.

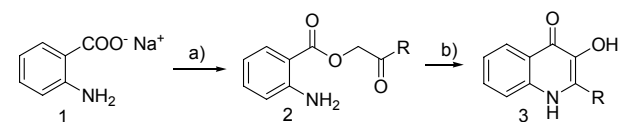


Schéma 1

a) 2-halogenketon; b) kyselina polyfosforečná 120 °C.

Námi popsaná syntéza (Schéma 1), vychází ze snadno dostupných surovin a celkový výtěžek reakce dosahuje až 90% teorie⁴. Reakce je obecně využitelná jak pro syntézu „chinolonů“ substituovaných v aromatické části, tak pro syntézu 2-aryl a 2-alkyl derivátů. Byla rovněž úspěšně použita pro syntézu chinolonů se dvěma jádry propojenými

aromatickým kruhem. V případě že jsou k reakci využity heteroanaloga kyseliny anthranilové, reakce ztrácí obecný charakter a ke vzniku odpovídajících heteroanalog chinolonů dochází jen v některých případech.

Mechanismus reakce se doposud nepodařilo zcela objasnit. V poslední době se podařilo dokázat, že reakce probíhá přes stadium sedmičlenného kruhu. Důkazy o mechanismu této reakce budou v průběhu přednášky diskutovány.

Jak již bylo řečeno, 4(1*H*)- chinolony jsou dusíkaté analogy přírodních flavonů. Ty se vyskytují v rostlinách a společně s dalšími rostlinnými látkami se používají k léčbě celé řady chorob už od starověku. Rovněž u celé řady flavonů a flavonolů byla prokázána řada biologických účinků. Např. acacetin vykazuje účinky protizánětlivé, luteolin a kampferol vykazují účinky antileukemické. Široce sledovanou látkou je quercetin, který vedle již zmiňovaných aktivit vykazuje vlastnosti analgetické a rovněž jsou studovány i jeho účinky antidiabetické⁵.

Biologická aktivita 2-subst. 4(1*H*)- chinolonů byla studována méně, přesto je u některých derivátů popsán účinek cytotoxický¹. Biologická aktivita 3-hydroxyderivátů zatím zůstává na pokraji zájmu. Případně použití 2-alkyl derivátů jako látek potlačující imunitní odpověď⁶.

U námi připravených sloučenin byly v závislosti na substituci, pozorovány vysoké účinky cytostatické, antiprotozoální či antivirové, studované *in vitro*. Ačkoliv velká většina látek je netoxická, byly mezi nimi pozorovány i látky vykazující mimořádnou toxicitu. Biologická účinnost a její závislost na struktuře budou rovněž během přednášky diskutovány.

Práce byla vypracována za podpory grantu Ministerstva mládeže a tělovýchovy ČR, grant č. MSM6198959216.

LITERATURA

1. Kuo S. Ch., Lee H. Z., Juang J.P., Lin Y. T., Wu T. S., Chang J. J., Lednicer D., Paull K. D., Lin C. M., Hamel E., Lee K. H.: *J. Med. Chem.* 36, 1146 (1993).
2. Chen B., Huang X., Wang J.: *Synthesis* 1987, 482.
3. Spence T. W., Tennant G.: *J. Chem. Soc. C* 1971, 3712.
4. Hradil P., Jirman J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 60, 1357 (1995).
5. Middleton E.J., Kadaswami C.: *The Flavonoids: Advances in Research since 1986.* (Harborne J. B., ed.) Chapman and Hall, London 1993.
6. Idris D.: (The University of Nottingham) WO 02/47686 (2002).

PŘÍPRAVA NESYMETRICKY SUBSTITUOVANÝCH BIPYRIDINŮ A JEJICH VYUŽITÍ

RADIM HRDINA^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

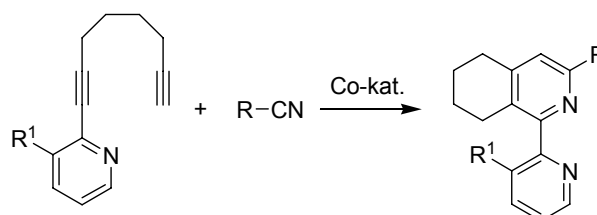
^aKatedra organické a jaderné chemie, PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6 kotora@natur.cuni.cz radimhrdina@email.cz

Jednou z možností přípravy nesymetricky substituovaných bipyridinů je [2+2+2] cyklotrimerizace

pyridyldiynů s nitrily. Takto vzniklé bipyridiny jsou vhodnými prekurzory atropoizomerních sloučenin s vysokou racemizační bariérou. Tyto sloučeniny, konkrétně pyridin N-oxidy resp. bipyridin N,N-dioxydy, mohou sloužit v enantioselektivní katalýze jako tzv. organokatalyzátory (chirální lewisovské báze)¹. Dále lze těchto sloučenin využít v NMR spektroskopii jako tzv. posuvová činidla pro určení enantiomerního přebytku u sloučenin s „kyselým“ vodíkem (alkoholů, kyselin...)².

Cílem naší práce bylo připravit řadu nesymetricky substituovaných bipyridinů (Schema 1), tyto látky převést na jejich příslušné N-oxidy, nalézt způsob jejich dělení na enantiomery a otestovat jejich využití ve zmíněných metodách.

Schema 1



R = Ph; R¹ = H, Me, OMe, CN, F, CF₃, aryl

Projekt byl financován z grantu 203/05102 GAČR.

LITERATURA

1. Chelucci G., Murineddu G., Pinna G. A.: *Tetrahedron Asymmetry*, 15, 1373 (2004).
2. Nakajima M., Sasaki Y., Shiro M., Hashimoto S.: *Tetrahedron Asymmetry*, 8, 341 (1997).

NOVÝ POLYMERNÍ MICELÁRNÍ PH-SENSITIVNÍ “DRUG DELIVERY” SYSTÉM PRO PROTINÁDOROVÉ ANTIBIOTIKUM DOXORUBICIN

MARTIN HRUBÝ*, ČESTMÍR KOŇÁK a KAREL ULBRICH

Ústav makromolekulární chemie Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 6, 162 06 Praha 6 mhruby@centrum.cz

Byl připraven a charakterizován nový polymerní pH-senzitivní micelární nosičový systém¹ vhodný pro dopravu protinádorového antracyklinového antibiotika doxorubicinu (DOX) do nádorové tkáně. Polymerní micely byly připraveny spontánní agregací amfifilních diblokových kopolymerů ve vodných roztocích. Kopolymery jsou složeny z biokompatibilního hydrofilního polyethylenoxidového bloku a hydrofobního bloku obsahujícího kovalentně vázaný DOX. Blokové kopolymery poly(allyl glycidyl ether)-*block*-polyethylenoxidu o různé délce bloků a velmi úzké distribuci molekulových hmotností (M_w/M_n cca 1,05), připravené aniontovou polymerizací allyl glycidyl etheru za použití sodné soli polyethylenoxid monomethyletheru jako makroiniciátoru², byly kovalentně modifikovány transformacemi reaktivních dvojných vazeb adicí methyl sulfanylacetátu. Výsledný

polymer s esterovými skupinami byl převeden hydrazinolýzou hydrazinhydrátem na polymerní hydrazid. Tento hydrazid dále reagoval s DOX.HCl za vytvoření pH-senzitivní hydrazonové vazby mezi nosičem a léčivem. Výsledný konjugát s cca. 3 hmotnostními % DOX tvoří v PBS pufru micely s $R_h^a = 104$ nm (QELLS), což by mělo zaručit dostatečně efektivní pasivní cílení léčiva do tkáně pevných nádorů EPR (Enhanced Permeation and Retention) efektem. Uvolňování DOX je rychlejší při 5,0 (model prostředí v endosomech a intersticiálního prostoru mezi nádorovými buňkami; 43 % DOX uvolněno během 24 h) než při pH 7,4 modelujícímu podmínky při transportu (pH krevní plasmy; 16 % DOX uvolněno během 24 h). Hydrolyza hydrazonových vazeb pokračuje i po dosažení zdánlivého plateau na křivce znázorňující uvolňování DOX z micel do pufru. Uvolňováním DOX dochází k hydrofilizaci polymerního řetězce a rozpadu micel na krátké polymerní sekvence vyloučitelné z organismu.

Studie byla vypracována za finanční podpory Grantové agentury Akademie věd České republiky, grant č. KJB 4050408, a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, grant č. IM 4635608802.

LITERATURA

- Hrubý M., Koňák Č., Ulbrich K.: J. Controlled Release 103, 137 (2005).
- Hrubý M., Koňák Č., Ulbrich K.: Appl. Polym. Sci. 95, 201 (2005).

OBSAHOVÉ LÁTKY VACCINIUM MYRTILLUS LISTU A STONKU

SIMONA HYBELBAUEROVÁ, JAN SEJBAL a MARTIN DRAČÍNSKÝ

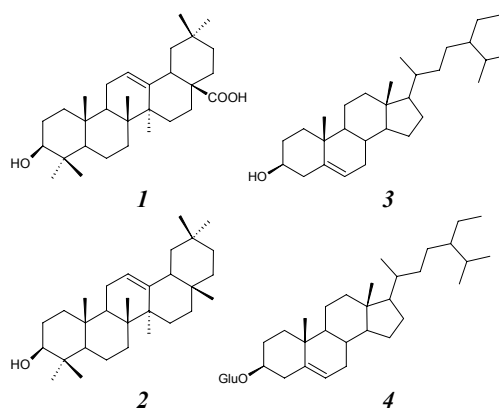
Katedra organické chemie a jaderné chemie PFF UK, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
simona.hybelbauerova@gmail.com

Listy brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*) mají léčivé účinky. V lidovém léčitelství se užívá odvar z listů při průjemových onemocněních, žaludečních obtížích i při zánětech močových cest, jako pomocný lék při cukrovce, kloktadlo při zánětech ústní dutiny a horních cest dýchacích. Obklady z odvaru se užívají při kožních onemocněních, např. lupénce, na oční záněty, spáleniny.

Methanolicke extrakty sušených listů a stonků brusnice borůvky jsou v této práci podrobně studovány. Extrakty byly zbaveny barevných složek považením s aktivním uhlím. Následně byly oba extrakty hrubou frakcionací rozděleny na polární a nepolární frakci. Nepolární frakce byly dále chromatograficky děleny.

Z methanolickeho extraktu listu brusnice borůvky byly získány a identifikovány oleanová kyselina **1**², urs-12-en-3 β -ol **2**, β -sitosterol **3**¹, sitosterol glykosid **4**. Všechny uvedené struktury byly potvrzeny pomocí ¹H a ¹³C NMR spekter a pomocí korelačních spekter.

Z methanolickeho extraktu stonku brusnice borůvky byly získány a identifikovány oleanová kyselina **1**, urs-12-en-3 β -ol **2**, β -sitosterol **3**¹.



LITERATURA

- Madhavi D.L., Bomser J., Smith M.A.L., Singletary K.: Plant Sci. 131, 95 (1998).
- www.chromadex.com/Phytosearch/bilberry.htm

NOVÉ DERIVÁTY ISONIAZIDU A PYRAZINAMIDU

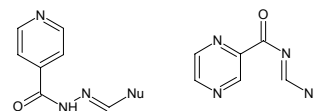
ALEŠ IMRAMOVSKÝ^a, JARMILA VINŠOVÁ^a, SLOVENKO POLANČ^b a JOSEF JAMPÍLEK^c

^aFarmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bUniversity of Ljubljana, Faculty of Chemistry and Chemical Technology, Ljubljana, Slovenia; ^cZentiva a.s., Praha
imramovsky@faf.cuni.cz

Tuberkulóza zůstává i na počátku 21. století problémovou infekční chorobou. V roce 2003 na ni zemřelo více než 8,8 mil. lidí. Nakažena je přibližně jedna třetina světové populace a i když se jedná ve většině případů o latentní formu, je tento stav velkým potenciálním nebezpečím pro budoucnost. Výzkum se zaměřuje zejména na nové látky se zcela odlišným mechanismem účinku oproti klasickým antituberkulotikům a na chemickou modifikaci stávajících antituberkulotik se snahou o vylepšení klinických vlastností a oslabení nárůstu rezistence bakterií tuberkulózy.

Hlavní roli ve druhé kategorii zaujímají Schiffovy báze¹ a aminohydrazony² strukturně odvozené od isoniazidu (INH). Tyto látky se vyznačují vysokou hodnotou aktivity proti atypickým kmenům a zároveň vyšší hodnotou parametru lipofility. Lipofilita však není rozhodujícím faktorem pro účinek. Vliv patrně hrají také synergické interakce s navázanou organickou molekulou.

V této práci představujeme sérii nových typů hydrazonů strukturně odvozených od isoniazidu a derivátů pyrazinamidu.



Východí látky pro syntézu těchto derivátů jsou meziproducty snadno dostupné z INH a diethoxymetylacetátu, dále pyrazinamidu a *N,N*-dimethylformamid-dimethylacetalu. Následuje reakce s vhodným N-nukleofilem. Tímto může být

i molekula biologicky aktivní látky. Výsledná sloučenina pak obsahuje dva farmakofory, u nichž lze předpokládat potenciaci účinku. Zároveň je zvýšena hodnota parametru lipofility oproti výchozím sloučeninám, což může ovlivnit prostup přes značně lipofilní buněčnou stěnu a zvýšení koncentrace v místě působení. Za vhodných podmínek (enzymatické, hydrolytické) dojde k uvolnění jednotlivých vázaných molekul a látky pak mohou vystupovat jako proléčiva.

V příspěvku budou prezentovány nové syntetizované deriváty výše uvedených typů sloučenin spolu s jejich chemickými vlastnostmi a biologickými aktivitami.

Autoři příspěvku děkují za finanční podporu grantu FRVŠ 297/2005, MSM 0021620822 a IGA MZ 1A/8238-3.

LITERATURA

1. Sinha N., Jain S., Tilekar A., Upadhayaya R.S., Kishore N., Jana G.H., Arora S.K.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 1573 (2005).
2. De Logu A., Onnis V., Saddi B., Congiu C., Schivo M.L., Cocco M.T.: *J. Antimicrob. Chemother.* 49, 275 (2002).

HYDROPHOBIC PROPERTIES OF SOME ANTIMICROBIALY ACTIVE ESTERS OF SALICYLANILIDES

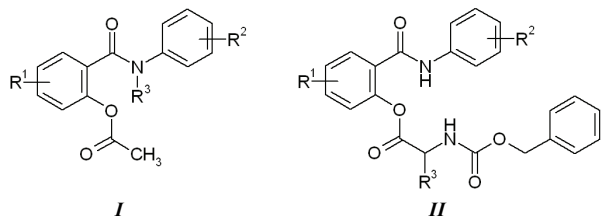
JOSEF JAMPÍLEK^a, JARMILA VINŠOVÁ^b, ALEŠ IMRAMOVSKÝ^b, TAĀJANA GRAFNETTEROVÁ^a, and JIŘÍ DOHNAL^a

^aZentiva a.s., U kabelovny 130, 102 37 Prague 10

^bDepartment of Inorganic and Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové;
josef.jampilek@zentiva.cz; vinsova@faf.cuni.cz.

One of the major goals for the physicochemical screening is the prediction of absorption, e.g. the transport of a molecule through cellular membranes. The most frequent one is the passive transport through the cellular membrane, which strongly depends on the lipophilicity. Therefore hydrophobicity is the most important physical property of biologically active compounds¹.

Twenty-seven substituted salicylanilide esters of acetic acid **I** and amino acids **II**, which showed significant antifungal and antimycobacterial activity², were analyzed using the reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method for the lipophilicity measurement. The procedure was performed under isocratic conditions with methanol as an organic modifier in the mobile phase using end-capped non-polar C₁₈ stationary RP in column.



In the present study the correlation between RP-HPLC retention parameter Log *K* (the logarithm of capacity factor *K*) and various calculated Log *P* values are shown, as well as the relationships between the lipophilicity and the chemical structure of the studied compounds are discussed.

This study was supported by IGA Ministry of Health of the Czech Republic No. 1A/8238-3 and MSM 0021620822.

REFERENCES

1. Avdeef A.: *Curr. Topics Med. Chem.* 1, 277 (2001).
2. Vinšová J., Imramovský A., Buchta V., Doležal M., Jampílek J.: *ESOC-14*, Helsinki, July 4-8, 2005, p. 258.

PŘÍPRAVA DEWAROVÝCH BENZENŮ A STUDIUM JEJICH TERMICKÉHO PŘESMYKU

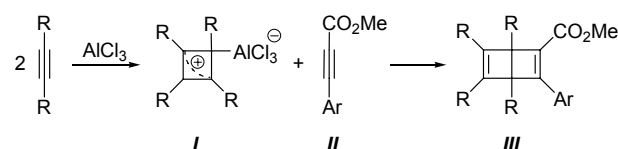
ŠTĚPÁNKA JANKOVÁ^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, a Centrum pro nová antivirotika a antineoplastika, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2;

^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6
katora@natur.cuni.cz JankovaS@seznam.cz

Dewarovy benzeny jsou prvními izolovanými valenčními izomery benzenu. Lze je připravit cykloadicí cyklobutadienu na trojnou vazbu¹, fotochemickým nebo termickým přesmykem benzenu. Na druhou stranu lze z Dewarových benzenů termickým, popř. fotochemickým přesmykem připravit benzeny.

Cílem naší práce bylo vyvinout nový postup přípravy stericky bráněných biarylů přesmykem Dewarových benzenů **III**. Ty byly připraveny reakcí cyklobutadienového komplexu AlCl₃ **I** s arylpropynoáty **II** v přítomnosti Lewisovy kyseliny (Schéma 1)¹.



Ar = *ortho*-, *para*- substituovaný fenyl

Schéma 1

U takto připravených derivátů **III** byla studována kinetika jejich termického přesmyku² na biaryly **IV** pomocí NMR (Schéma 2). V této studii bylo potvrzeno, že se přesmyk řídí kinetikou prvního řádu, byly získány hodnoty rychlostních konstant Dewarových benzenů pro jednotlivé teploty, z nich pak byly zjištěny hodnoty aktivační energie *E_A*, aktivační enthalpie *H_A* a aktivační entropie *S_A*.

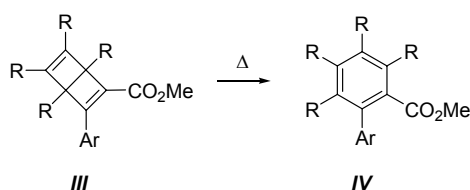


Schéma 2

Projekt byl financován z Centra pro nová antivirotika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M613889630).

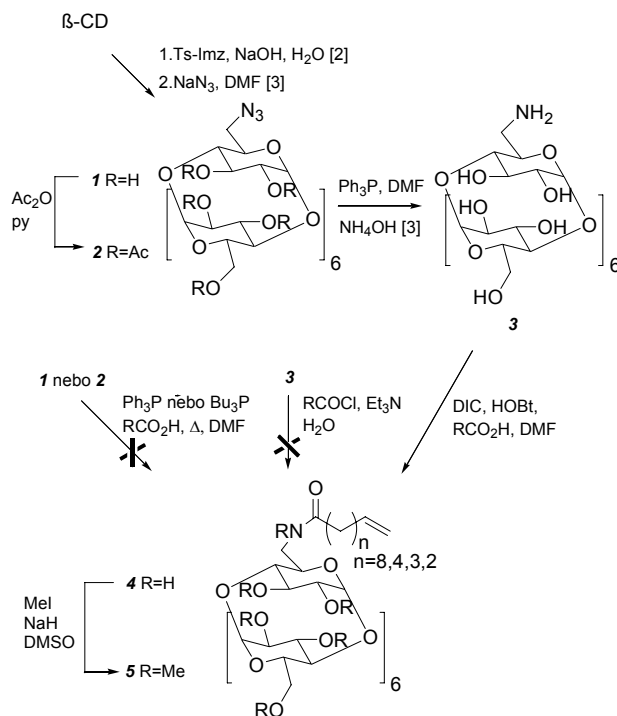
LITERATURA

1. Koster J. B., Timmermans G. J., van Bekkum, H.: *Synthesis* 1971, 139.
2. van Tamelen E. E., Pappas S. P.: *J. Am. Chem. Soc.* 85, 3297 (1963).

SYNTÉZA NENASYCENÝCH 6'-ACYLAMINO-6'-DEOXY DERIVÁTŮ β -CYKLODEXTRINU JAKO MODIFIKÁTORŮ SENZORICKÉ ODEZVY PORÉZNÍHO KŘEMÍKU¹

TOMÁŠ TROJAN a JINDŘICH JINDŘICH

Katedra organické a jaderné chemie, PřF UK Praha, Hlavova 8, 128 43, Praha 2; e-mail: jindrich@natur.cuni.cz



Cyklodextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy. Významnou vlastností CD a jejich derivátů je schopnost tvořit inkluzní komplexy s organickými molekulami. Vzhledem k jejich selektivním komplexačním schopnostem je možno CD

deriváty použít jako rozpoznávací element chemosenzoru, kde transducery jsou nejčastěji optické. Lze předpokládat, že CD navázaný na povrch porézního křemíku (PS), bude ovlivňovat luminiscenci, kterou PS vykazuje při osvětlení UV zářením. PS má na svém povrchu Si-H vazby, na které je možno hydrosilylační reakcí ukotvit CD deriváty nesoucí koncovou dvojnou vazbu. Syntézu těchto derivátů ukazuje schéma.

Projekt je podporován grantem GAUK 424/2004/B-CH/PřF.

LITERATURA

1. Trojan T.: *Diplomová práce*, PřF UK Praha, 2005.
2. Brady B., Lynam N., O'Sullivan T., Ahern C., Darcy R.: *Org. Synth.* 77, 220 (2000); Coll. Vol. 10, 686 (2004).
3. Baugh S. D. P., Yang Z., Leung D. K., Wilson D. M., Breslow R.: *J. Am. Chem. Soc.* 123, 12488 (2001).

ALTERNATIVNÍ SYNTÉZA TRICYKLO[3.2.0.0^{2,6}]HEPTAN-1,6-DIKARBOXYLOVÉ KYSELINY

JIRÍ KALETA a CTIBOR MAZAL

Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně, Kotlářská 2, 611 37 Brno 63938@mail.muni.cz

V souvislosti s výzkumem přípravy a vlastností nových derivátů bicyklo[1.1.1]pentanu byla syntetizována tricyklo[3.2.0.0^{2,6}]heptan-1,6-dikarboxylová kyselina (1), která je prekurzorem nové skupiny 1,2,3,4-substituívaných derivátů bicyklo[1.1.1]pentanu s definovanou konfigurací (*cis-endo*) substituentů v polohách 2 a 4. Protože původní syntéza této dikyseliny využívající tetracyklo[4.1.0.0^{1,5}.0^{2,6}]heptanu (2)¹ a snadné adice biacetylu na jeho „vnitřní“ vazbu C(1)-C(6) poskytuje nepříliš uspokojivé úhrnné výtěžky (méně jak 25 %, počítáno na výchozí tricyklohexan 3), byla navržena alternativní syntéza, která využívá vedlejší produkt přípravy tetracykloheptanu 2, halogenderivát 4² (Schéma 1).

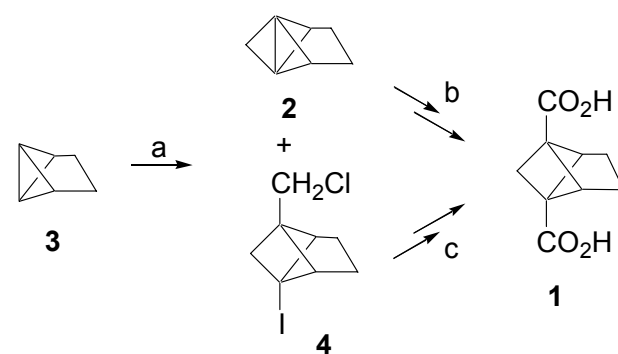


Schéma 1 a) 1. 2 ekv. BuLi, Et₂O; 2. CH₂Cl₂. b) 1. (CH₃CO)₂, hv, hexan-Et₂O; 2. Haloformová reakce. c) 1. BuLi, Et₂O; 2. CO₂; 3. NaI, aceton; 4. Na₂O₂, H₂O; 5. KMnO₄, H₂O.

Vedlejší produkt 4 vzniká nevyhnutně v důsledku snadné adice chlorjodmethanu na vznikající 2 v reakční směsi, a to v množství dosahujícím až 15 %. Sekvence reakcí vycházejících

z halogenderivátu **4** (Schema 1) poskytuje dikyselinu **1** v celkovém výtěžku větším jak 40 %. Využití **4** pro přípravu dalšího podílu dikyseliny **1** nejen že zvyšuje celkovou efektivitu zpracování tricyklohexanu **3**, ale je i užitečnou sondou do transformací funkčních substituentů na vnitřně napnutém tricyklo[3.2.0.0^{2,6}]heptanovém skeletu.

Grantový projekt č. 203/05/0961, Grantová agentura ČR.

LITERATURA

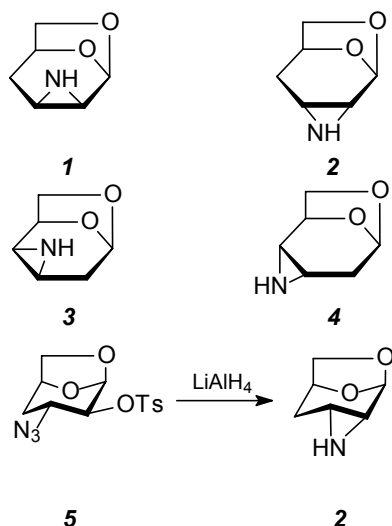
1. Belzner J., Gareiss B., Polborn K., Schmid W., Semmler K., Szeimies G.: Chem. Ber. 122, 1509 (1989).
2. Mazal C., Paraskos A. J., Michl J.: J. Org. Chem. 63, 2116 (1998).

SYNTEZA 1,6-ANHYDRO-2,3,4-TRIDEOXY-2,3-EPIMINO- A 1,6-ANHYDRO-2,3,4-TRIDEOXY-3,4-EPIMINO- β -D-HEXOPYRANOS

JINDŘICH KARBAN^a a **JIŘÍ KROUTIL^b**

^aÚstav chemických procesů AV ČR, Rozvojová 135, 165 02 Praha 6; karban@icpf.cas.cz.; ^bKatedra organické a jaderné chemie, Universita Karlova, 128 40, Praha 2 kroutil@natur.cuni.cz;

Připravili jsme úplnou serii 2,3,4-trideoxy-2,3-epimino a 2,3,4-trideoxy-3,4-epiminoderivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos **1** – **4** redukcí vicinálních *trans*-azidosylátů. Pozorovali jsme rovněž neobvyklé uzavření aziridinového cyklu z prekurzorů s *trans*-diekvatoriální orientací azidoskupiny a tosyloxyskupiny¹, jako je například vznik epiminu **2** z azidosylátu **5**.



LITERATURA

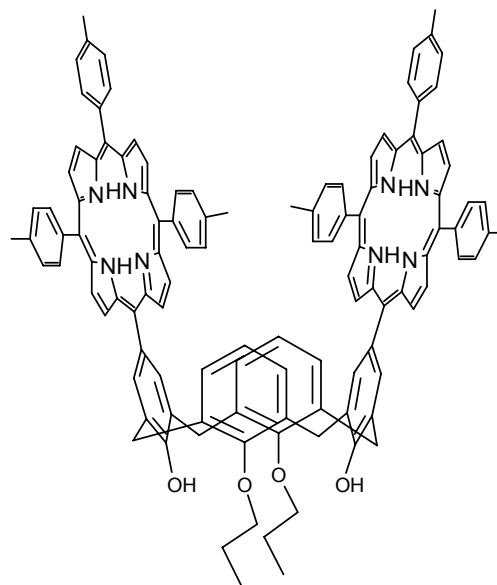
1. Karban J., Buděšínský M., Kroutil J.: Collect. Czech. Chem. Commun. 69, 1939 (2004).

UPPER RIM APPENDED CALIX[4]ARENE PORPHYRIN CONJUGATE

MARTIN KÁŠ, **PAVEL LHOTÁK,** and **IVAN STIBOR**

Department of Organic Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic; kasmartin@seznam.cz.

A new synthetic approach to a bis-porphyrine calix[4]arene conjugates with direct covalent connection between the meso-porphyrine position and the calixarene upper rim has been applied. A mixed condensation of aromatic aldehydes with pyrrole in chloroform under boron trifluoride etherate catalysis leads to a thermodynamic mixture of the corresponding porphyrinogens. In accordance with this fact we used an excess of pyrrole and tolualdehyde to calix[4]arene dialdehyde to improve bis-porphyrine yield. As a result, the yields were increased successfully from the trace amounts in stoichiometric reaction to acceptable 15% without the necessity of using dipyrromethane building blocks. The complexation ability of bis-porphyrine towards fullerenes C₆₀ and C₇₀ has been studied using the combination of UV/vis and NMR spectroscopy.



REFERENCES

1. Arimura T., Nishioka T., Suga Y., Murata S., Tachiya M.: Mol. Cryst. Liq. Cryst. 379, 413 (2002).
2. Tremblay-Morin J.-P., Faure S., Samar D., Stern C., Guillard R., Harvey P. D.: Inorg. Chem. 44, 2836 (2005).
3. Khoury R.G., Jaquinod L., Aoyagi K., Olmstead M.M., Fisher A.J., Smith K.M.: Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 36, 2497 (1997).
4. Asfari Z., Vicens, J, Weiss J.: Tetrahedron Lett. 34, 627 (1993).

STUDIUM HYDROLÝZY A AMINOLÝZY SUBSTITUOVANÝCH 4,5-DIHYDRO-1,3-OXAZOL-5-ONŮ

ROMAN KEDER, PAVEL SKÁLA, JIŘÍ HANUSEK a MILOŠ SEDLÁK

Katedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Nám. Čs. legií 565, 532 10 Pardubice
roman.keder@upce.cz

Substituované 4,5-dihydro-1,3-oxazol-5-ony (azlaktony) patří mezi významné pětičlenné heterocyklické sloučeniny s řadou aplikací, např. můžou sloužit jako prekurzory v syntéze 4,5-dihydro-1*H*-imidazol-5-onů, které jsou důležitými herbicidy, farmaceutiky a chirálními ligandy.

Byla studována kinetika a mechanismus kyselého katalyzované hydrolyzy substituovaných 4-alkyl-4-methyl-2-aryl-4,5-dihydro-1,3-oxazol-5-onů (**1**) na odpovídající 2-alkyl-2-benzoyl-aminopropanové kyseliny (**2**)¹. Taftova korelace rychlostních konstant kyselého katalyzované hydrolyzy v závislosti na alkylsubstituci v poloze 4- 1,3-oxazol-5-onového cyklu je nelineární. U Hammettovy korelace dochází v závislosti na rostoucí sterické náročnosti alkylsubstituentu k snižování hodnoty ρ konstanty ($R = i\text{-C}_3\text{H}_7$ $\rho = -0.63$ a $R = t\text{-C}_4\text{H}_9$ $\rho = -0.32$). Kinetika aminolýz **1a**, **1b** a **1f** ($R = \text{H}$, OCH_3 , NO_2) na příslušné benzamidy (**3**) byla studována v propylaminových v pufrách ve vodném prostředí. V případě aminolýzy derivátu **1a** a **1b** propylaminem je rychlost určujícím krokem rozpad intermediátu In^\pm katalyzovaný jak bazickou, tak kyselou složkou pufru. Bazicky katalyzovaná cesta je v obou případech cca 4 × rychlejší. V případě aminolýzy **1f** propylaminem je rychlost určujícím krokem vznik intermediátu In^\pm , následně reakční stupně jsou urychlovány substitucí respektive intramolekulární katalýzou.

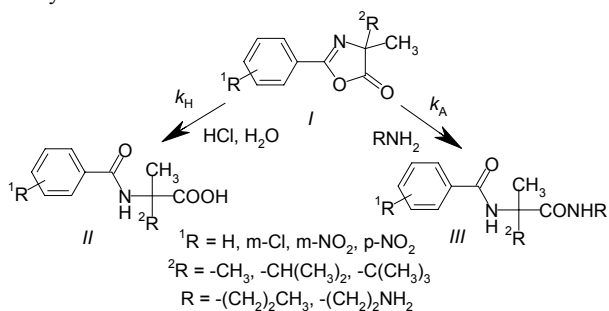


Schéma 1. Hydrolyza a aminolýza substituovaných 4-alkyl-4-methyl-2-aryl-4,5-dihydro-1,3-oxazol-5-onů

Práce byla podpořena projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR, CI MSM 002 162 7501.

LITERATURA

- Sedlák M., Keder R., Skála P., Hanusek J.: J. Phys. Org. Chem. 18, 743 (2005).

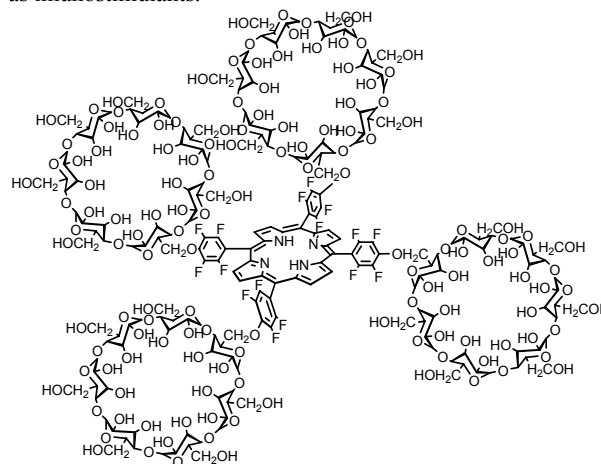
CYCLODEXTRIN PORPHYRIN - NOVEL ANTICANCER AGENTS

ZDENEK KEJÍK^a, TOMÁŠ BRÍZA^{a,b}, MARTIN HAVLÍK^a, ROBERT KAPLÁNEK^{a,b}, BOHUMIL DOLENSKÝ^a, JARMILA KRÁLOVÁ^c, PAVEL MARTÁSEK^b, and VLADIMÍR KRÁL^a

^aDepartment of Chemical Technology in Prague, Technická 5, 16628 Praha 6; ^bFirst Medical Faculty of Charles University in Prague, Kateřinská 32, 12108 Praha 2; ^cInstitut of Molecular Genetics, Academy of Sciences in Prague, Flemingovo nám. 2, 16637 Praha 6

Large amount of anticancer agents are known in the present time. The problem of them are high toxicity, low selectivity and poor solubility in water. This problem can be solved by using suitable transport systems.

We prepared cyclodextrin-porphyrin derivative for transport of hydrophobic therapeutics such as taxol. Advantage of our system is using porphyrin as photosensitizer, which produce singlet oxygen for destruction of cancer cells. Cyclodextrine part complex hydrophobic drug and give good solubility in water. Its metallocomplex was used for preparation of protein conjugate. This conjugate will be used as immunostimulants.



Authors thank for financial suport. Grant of GAAV No.: MSM6046137307.

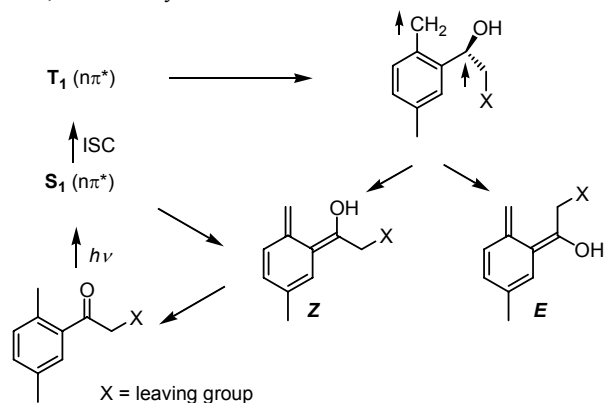
RECENT PROGRESS IN THE DEVELOPMENT OF PHOTOREMOVABLE PROTECTING GROUPS

PETR KLÁN, JAROMÍR LITERÁK, TOMÁŠ POSPÍŠIL, LUKÁŠ PLÍŠTIL, and ANNA DOSTÁLOVÁ

Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, CZ - 611 37 Brno
klan@sci.muni.cz.

Photochemically removable protecting groups (PPGs)¹ for various functional groups have a wide span of applications including synthetic organic chemistry², photolithography³, biochemistry, or cell biology⁴. To date the major effort has

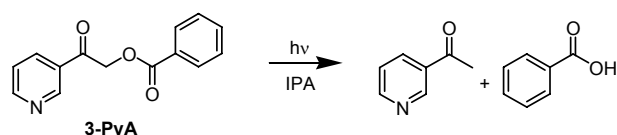
been devoted to mask phosphates, carboxylates, and alcohols as biologically the most significant functional groups. The hydroxy group-containing molecules can be effectively protected by a variety of PPGs, for example, as 2-nitrobenzyl⁵, or 3,5-dimethoxybenzoin⁶.



Scheme 1

Our study of the photochemistry of 2,5-dimethylphenacyl (DMP) derivatives have reported high chemical and moderate quantum yields of carboxylic acid release and a subsequent laser flash photolysis study elucidated a detailed mechanism of this photochemical transformation.⁷ The DMP group was found to have superior properties as a photoremovable protecting group for phosphoric and sulfonic acid esters.⁸ Various new applications of the DMP chromophore, such as combinatorial chemistry or synthesis of biologically active compounds, will be discussed.

While many other substituted phenacyl compounds have been studied in the past decade⁹, we wish to report on a highly efficient photocleavage of an analogous pyridinylethanone (pyridacyl; PyA) protecting group for carboxylic acids and phenols (Scheme 2). This protecting group is easily incorporated by chemical coupling of the corresponding pyridacyl bromide or alcohol to the functional group. The cleavage quantum yields of 3-PyA carboxylates, for example, have been found significantly higher than 2 in the presence of H-atom donors because of a free radical chain process, the kinetic chain length of which was determined by investigation of a thermal radical reduction. The presence of byproducts, strongly absorbing transients, however, lower the quantum efficiency. It will be shown that PyA group derivatives can also be useful in photochemical organic synthesis.



Scheme 2

Financial support from the Grant Agency of the Czech Republic (203/05/0641) is acknowledged.

REFERENCES

- Pelliccioli A. P., Wirz J.: *Photochem. Photobiol. Sci.* **1**, 441 (2002).
- Pillai V.N.R.: *Synthesis* **1980**, 1.

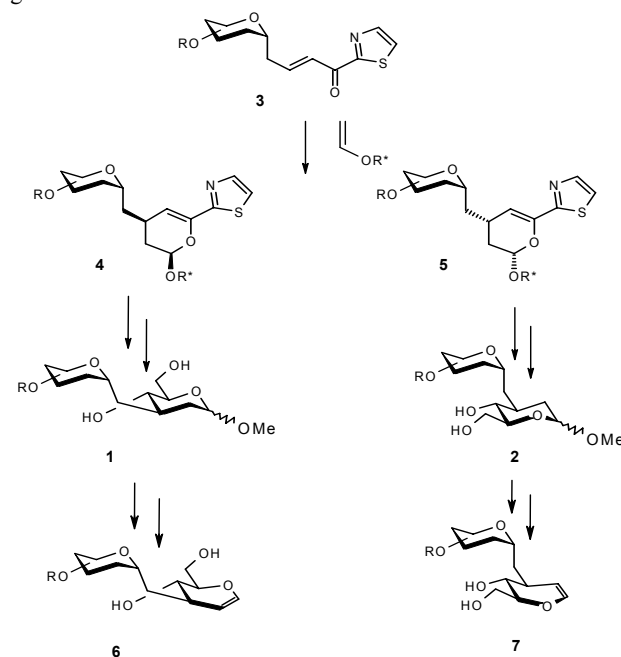
- Pirrung M.C.: *Chem. Rev.* **97**, 473 (1997).
- Abelson J., Simon M., Marriott G.: *Caged Compounds*; Academic Press, 1998.
- Bochet C.G.: *J. Chem. Soc.-Perkin Trans. 1*, **2002**, 125.
- Pirrung M.C., Bradley J.C.: *J. Org. Chem.* **60**, 1116 (1995).
- Zabada M., Pelliccioli A.P., Klan P., Wirz J.: *J. Phys. Chem. A* **105**, 10329 (2001).
- Klan P., Pelliccioli A. P., Pospisil T., Wirz J.: *Photochem. Photobiol. Sci.* **1**, 920 (2002).
- Banerjee A., Lee K., Falvey D.E.: *Tetrahedron* **55**, 12699 (1999).

STEREOSELEKTIVNÍ PŘÍPRAVA ANALOGŮ DISACHARIDŮ

LADISLAV KNEŽO, ONDŘEJ VÍCH a PETR ŠTĚPÁNEK

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
Ladislav.Knez@vscht.cz

Bude prezentována jednoduchá a stereoselektivní příprava diastereoisomerních α -C-(1 \rightarrow 3)-disacharidů **1** a **2**, které obsahují na neredukujícím konci monosacharidy různé konfigurace (*gluko*, *galakto* nebo *manno*) a na redukujícím konci 2,3-dideoxy-*arabino*-hexopyranosu v D-, nebo L-konfiguraci.



Výchozími látkami jsou vhodně chráněné α -D-pyransylprop-2-eny, které byly ve dvou krocích transformovány na substituované 1-oxa-1,3-butadieny **3**. Jejich cykloadiční reakce s ethylvinyletherem poskytla směs (1:1) dvou diastereoisomerních derivátů dihydroxyacetanu **4** a **5** ($R^* = Et$), zatímco stejná reakce s chirálními vinylethery vedla ke vzniku jenom jednoho cykloaduktu **2**, nebo **3** ($R^* =$ zbytek R nebo S

kyseliny mandlové). Získané cykloadukty **4**, nebo **5** byly ve dvou dalších krocích převedeny na finální α -C-(1 \rightarrow 3)-disacharidy **1**, nebo **2**. 2,3-Dideoxy-*arabino*-hexopyranosa v získaných C-disacharidech **1** a **2** může být dále transformována na příslušné glykaly **6** a **7**, které jsou vhodnými prekursory např. pro přípravu derivátů 2-aminosacharidů.

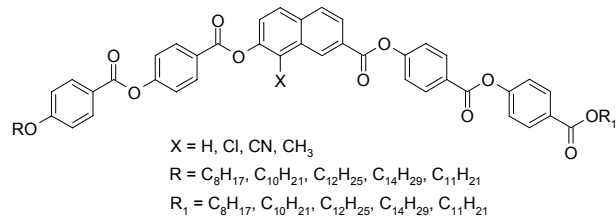
Práce byla finálně podporována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (VZ 6046137305 a FRVŠ 342-14-5030) a Grantovou agenturou ČR (č.grantu 203/03/0497).

SYNTÉZA A MESOMORFNÍ VLASTNOSTI LOMENÝCH KAPALNÝCH KRYSTALŮ NA BÁZI DERIVÁTŮ 7-HYDROXYNAFTALEN-2-KARBOXYLOVÉ KYSELINY

MICHAL KOHOUT^a, VÁCLAV KOZMÍK^a, JIŘÍ SVOBODA^a, VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b a MILADA GLOGAROVÁ^b

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^bFyzikální ústav Akademie věd ČR, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8
michal.kohout@email.cz

Studium lomených kapalných krystalů prochází bouřlivým rozvojem. Nedávno jsme v této oblasti zavedli nový typ centrálního jádra a využili jej pro syntézu nových typů kapalně-krytalických materiálů¹. Cílem této práce bylo připravit nové typy nesymetrických lomených kapalných krystalů odvozených od 7-hydroxynaftalen-2-karboxylové kyseliny (Obr. 1) a studovat jejich mesomorfní chování pomocí DSC, studiem textur a rentgenostrukturní analýzou.



Obr. 1

Budou diskutovány rozdíly způsobené záměnou centrálního jádra, vliv substituce tohoto jádra a délky postranních řetězců na celkové změny v mesomorfním chování jednotlivých kapalných krystalů v připravených seriích nových látek.

Práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt č. 202/05/0431) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt COST OCD14.50).

LITERATURA

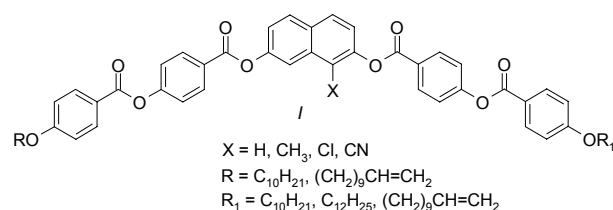
1. Svoboda J., Novotná V., Kozmík V., Glogarová M., Weissflog W., Diele S., Pelzl G.: J. Mater. Chem. 13, 2104 (2003).

SYNTÉZA NOVÝCH KAPALNĚ KRYSTALICKÝCH MATERIÁLŮ ODVOZENÝCH OD NAFTALEN-2,7-DIOLU

ANNA KOVÁŘOVÁ^a, VÁCLAV KOZMÍK^a, JIŘÍ SVOBODA^a, VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b a MILADA GLOGAROVÁ^b

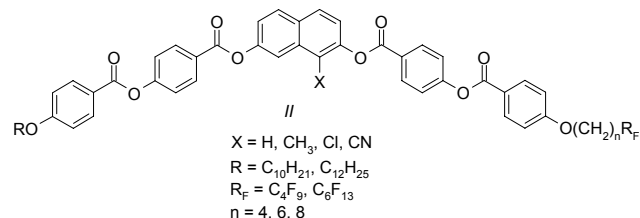
^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^bFyzikální ústav AV ČR, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8
kovarova@vscht.cz

V posledních letech jsme připravili řadu lomených kapalných krystalů odvozených od 1-substituovaných naftalen-2,7-diolů, které vykazovaly různé typy mesofází^{1,2}.



V návaznosti na získané výsledky bude v této práci diskutována syntéza a fyzikální vlastnosti nesymetrických kapalně-krytalických monomerů **I** a dále pak látek s parciálně perfluorovaným jedním laterálním řetězcem **II**.

Mesomorfní chování nových látek bylo studováno pomocí DSC, studiem textur a rentgenostrukturní analýzou.



Práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt č. 202/05/0431) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt COST OCD 14.50).

LITERATURA

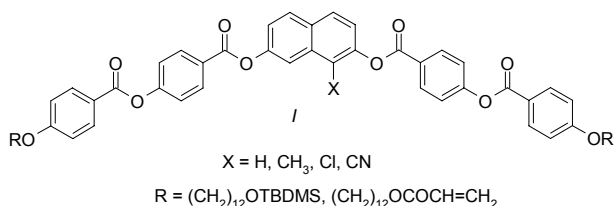
1. Svoboda J., Novotná V., Kozmík V., Glogarová M., Weissflog W., Diele S., Pelzl G.: J. Mater. Chem. 13, 2104 (2003).
2. Kozmík V., Kovářová A., Kuchař M., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Kroupa J.: Liq. Cryst. 32, v tisku (2005).

SYNTÉZA KAPALNÝCH KRYSTALŮ LOMENÉHO TVARU S TERMINÁLNÍ FUNKČNÍ SKUPINOU

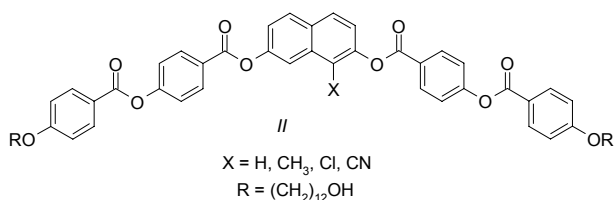
VÁCLAV KOZMÍK^a, JIŘÍ SVOBODA^a, VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b a MILADA GLOGAROVÁ^b

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^bFyzikální ústav AV ČR, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8
Vaclav.Kozmik@vscht.cz

V nedávné době jsme zavedli nový typ centrálního jádra pro konstrukci banánovitých kapalných krystalů, které vykazovaly různé typy tzv. B-fázi¹. V rámci systematického studia mesomorfních vlastností těchto krystalů jsme rozšířili spektrum připravených derivátů 1-substituovaných naftalen-2,7-diolů o sloučeniny obecného vzorce **I**, které obsahovaly ve své molekule snadno polymerizovatelnou složku (silylová skupina, akrylátová jednotka)². U takto připravených derivátů docházelo ke snadné polymerizaci a bylo velmi obtížné stanovit mesomorfní chování těchto monomerů.



Cílem naší práce bylo připravit odpovídající deriváty obecného vzorce **II** a u těchto připravených sloučenin stanovit pomocí DSC, studií textur a rentgenostrukturní analýzou jejich strukturu fází a mezomorfní vlastnosti.



Práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt č. 202/05/0431) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt COST OCD 14.50).

LITERATURA

1. Svoboda J., Novotná V., Kozmík V., Glogarová M., Weissflog W., Diele S., Pelzl G.: J. Mater. Chem. 13, 2104 (2003).
2. Kozmík V., Kovářová A., Kuchař M., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Kroupa J.: Liq. Cryst. 32, v tisku (2005).

TRIGLYCERIDY EXTRAHOVANÉ Z TUKOVÝCH TĚLES ČMELÁKŮ

EDITA KRAFKOVÁ, JOSEF CVAČKA, JIŘÍ KINDL, OLDŘICH HOVORKA, PAVEL JIROŠ a IRENA VALTEROVÁ

ÚOCHB AVČR Praha, Flemingovo náměstí 2, 16600, Praha 6
edita.krafkova@centrum.cz

Na základě předchozího výzkumu se zdá, že existuje určitá podobnost mezi složením alifatických látek v samých značkových feromonech¹ a zastoupením mastných kyselin (včetně od nich odvozených látek) v jejich tukových tělesech. Proto jsme pomocí různých chromatografických technik analyzovali složení tukových těles samců u vybraných druhů čmeláků a pačmeláků (*Bombus pratorum*, *B. sylvarum*, *B. subterraneus*, *Psithyrus bohemicus*, *P. rupestris*).

Tkáňový extrakt byl rozdělen na tenké vrstvě, odkud byly vybrány a zpracovány pouze triglyceridy (TAG). Připravené vzorky byly analyzovány metodou LC/MS s chemickou ionizací za atmosférického tlaku. Pro lepší separaci TAG byla optimalizována metoda s nevodným chromatografickým systémem s použitím dvou reverzních kolon C18 (15 cm a 30 cm) zapojených do série. Po transesterifikaci TAG byla pro identifikaci a kvantifikaci jednotlivých mastných kyselin použita metoda GC/MS. Ze získaných informací o složení tukových těles vyplývá, že mezi nejhodněji zastoupené mastné kyseliny v čmeláčích triglyceridech patří šestnácti a osmnáctiuhlíkové kyseliny. Ve většině vzorků převládá kyselina olejová. Složení mastných kyselin i triglyceridů se zdá být druhově specifické, mezi jedinci stejného druhu existují jen malé rozdíly.

Práce byla provedena za podpory Grantové agentury AV ČR (grant číslo A4055403 a výzkumného záměru číslo Z4 055 905).

LITERATURA

1. Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O., Svatoš A.: Chemoecology 13, 81 (2003).

RTG STRUKTURNÍ ANALÝZA A ČESKÁ ORGANICKÁ CHEMIE

BOHUMIL KRATOCHVÍL

Ústav chemie pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
bohutil.kratochvil@vscht.cz

Čeští organičtí chemici rozumí pod pojmem strukturní analýza převážně aplikaci spektrálních metod, především NMR. Strukturní analýza založená na difrakci RTG záření na monokrystalu organické látky v české organické chemii příliš nezdomácněla i když se jedná o nejdokonalejší způsob poznání konfigurace, konstituce, konformace a pakování organických molekul.

Důvody tohoto stavu jsou historické, personální, odborné i časové. Rozvoj RTG difrakčních metod v ČR byl a je spojen s fyziky, mineralogy a anorganickými chemiky. Mezi českými organickými chemiky nikdy nedošlo k prolnutí organika a RTG krystalografa v jedné osobnosti, jako např. ve Švýcarsku (prof. Jack Dunitz), v Maďarsku (prof. Alajos Kálmán) a jinde. Zatímco rutinní NMR spektrum si troufne interpretovat naprostá většina organických chemiků, RTG difrakční experiment a jeho zpracování je považováno za složitější a je vyhrazeno pouze krystalografům. Ještě donedávna byla hlavní překážkou širší aplikace RTG strukturní analýzy její časová náročnost, která se nezdá

protáhla na měsíce a v začátcích i na roky. Pochopitelně tak dlouho nechtěl žádný organický chemik čekat.

Dnes jsou časově RTG strukturní studie srovnatelné s NMR v pevné fázi. RTG strukturní analýza má bohužel ještě jeden kámen úrazu, který brání její širší aplikaci, a to přípravu vstupního monokrystalu. V současnosti se sice rychle rozvíjí strukturní analýza z práškovitého (polykrystalického) vzorku, ale tato aplikace bude vždy limitována velikostí studované molekuly a požadavkem její značné vnitřní rigidity a tím i přesností získaného strukturního modelu. Přinutit organickou molekulu krystalovat bývá někdy svízelné a bohužel tato zručnost se netěší mezi českými organiky oblibě. Původně čiré monokrystaly se občas zakalí vlivem povrchové hydratace a tím jsou nepoužitelné, zrovna jako extrémně vláknité a lístkovité krystaly atd. Kultivace vhodných monokrystalů je záležitostí organické syntetiky a nikoliv krystalografie. Organického chemika však daleko více zajímá izolovaná molekula než její pakování v krystalu a proto si většinou vystačí s NMR a MS, ale podvědomě cítí, že by bylo vhodné občas okrášlit výsledky svých syntéz RTG difrakcí.

RTG strukturní analýza je nedestruktivní metodika a účelem předložené, lehce ironické a nadnesené, prezentace je zvýšit prestiž strukturně difrakčních studií mezi českými organickými chemiky.

PŘÍPRAVA PRODRUG BETULININŮ PRO *IN VIVO* TESTOVÁNÍ

**Z. KŘESINOVÁ^a, B. MARTINOVÁ^a, J. ŠAREK^a,
M. KVASNICA^a a M. HAJDÚCH^b**

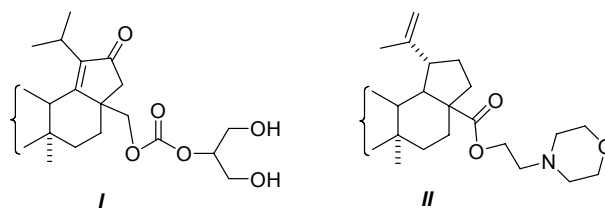
^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha; ^bLab. experiment. medicíny, Dětská a Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc
zdena.kresinova@volny.cz

V rámci rozsáhlého výzkumu cytotoxických derivátů lupanu a 18 α -oleananu, označovaných jako betuliny¹, byly na našem pracovišti připraveny glyceryl-karbonáty a dusíkaté deriváty cytotoxicky významných triterpenoidů. V minulosti již bylo prokázáno^{2,3}, že oba typy derivátů mají pozitivní vliv na cytotoxickou aktivitu sloučeniny, neboť výrazně zvyšují její hydrofilitu a navíc jsou snadno enzymaticky hydrolyzovatelné. Tyto vlastnosti je předurčují pro přípravu prodrug aktivních derivátů.

V rámci této práce byl připraven chloroformiát 1,3-dibenzylglycerolu a jeho užitím byl získán nový typ karbonátů betulininů - 2'-glyceryl-karbonáty (např. *I*). V případě 2'-glyceryl-karbonátů, na rozdíl od 1'-glyceryl-karbonátů, nevznikají směsi diastereoizomerů.

V rámci druhé skupiny prodrug, kterou reprezentují dusíkaté estery triterpenoidních kyselin s ethylovým spacerem, byly připraveny heterocyklické estery 2-morfolino-ethan-1-olu (typ *II*), 2-pyrrolidino-ethan-1-olu a 2-piperidino-ethan-1-olu.

Připravené sloučeniny vykázaly významné *in vitro* cytotoxické aktivity vůči nádorové linii CEM. Struktury všech připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.



Chemikálie, adsorbenty a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, HPLC kolony a extrakce březové kůry byla placena z grantu MPO FT-TA/027, kdežto testování cytotoxicity bylo hrazeno z grantu GA ČR 301/03/1570.

LITERATURA

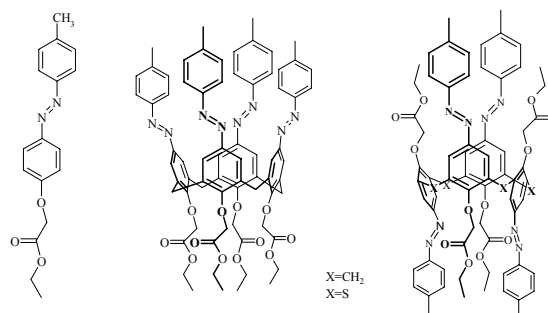
- Šarek J., Klinot J., Džubák P., Klinotová E., Nosková V., Křeček V., Kořínková G., Thomson J.O., Janošáková A., Wang S., Parsons S., Fischer P.M., Zhelev N.Z., Hajdúch M.: *J. Med. Chem.* 46, 5402 (2003).
- Biedermann D., Kvasnica M., Šarek J., Klinot J., Tišlerová I.: *Chem. Listy* 95, 743 (2001).
- Urban M., Šarek J., Klinot J., Tišlerová I.: *Chem. Listy* 95, 771 (2001).

BINDING OF CATIONS BY AZOBENZENE-FUNCTIONALIZED (THIA)CALIX[4]ARENES

**JAN KROUPA^a, JIŘÍ MORÁVEK^a, PAVEL LHOTÁK^a,
IVAN STIBOR^a, and KAMIL LANG^b**

^aDepartment of Organic Chemistry, ICT Prague, Czech Republic; ^bInstitute of Inorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

Azoderivatives of (thia)calix[4]arenes are highly preorganized receptors for complexation of cations. Due to the presence of chromophoric azo group on the upper rim of (thia)calix[4]arene it is possible to measure the complexation process using UV/VIS spectroscopy. Tetra-*O*-alkylated azoderivatives of (thia)calix[4]arenes have been synthesized in the cone and 1,3-alternate conformations and the complexation constants with alkali metal cations have been calculated for conformers where the complexation process has occurred. A monomeric model compound has been also synthesized and as expected the complexation process with alkali metal cations was not observed.



REFERENCES

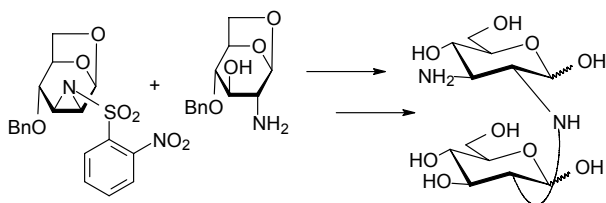
1. Shinkai S., Araki K., Shibata J., Tsugawa D., Manebe O.: Chem. Lett. 1989, 931.
2. Lhoták P., Morávek J., Stibor I.: Tetrahedron Lett. 43, 3665 (2002).
3. Haghbeen K., Eng Wui Tan E. W.: J. Org. Chem. 63, 4503 (1998).

SYNTEZA PSEUDODISACHARIDŮ Z 1,6-ANHYDROHEXOS

JIŘÍ KROUTIL

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 6, 128 40 Praha 2; kroutil@natur.cuni.cz

Byly provedeny reakce 4 isomerních epiminoderivátů 1,6-anhydro- β -D-hexopyranos (*allo*, *manno* a *galakto* konfigurace) s 2-, 3- a 4-aminoderiváty 1,6-anhydro- β -D-glukopyranosy. Tyto reakce vedly k otevření aziridinového kruhu podle Fürstova-Plattnerova pravidla za vzniku derivátů pseudodisacharidů *gluko*-*gluko* konfigurace ve výtěžcích 66-93%.



Nukleofilní štěpení aziridinového kruhu vyžadovalo použití *o*-nitrobenzensulfonylové chránicí skupiny jakožto aktivujícího substituentu na dusíku aziridinového kruhu a tzv. *ionic-liquid* prostředí (*N*-methylpyridinium-tosylát) pro dosažení dobrých výtěžků produktů otevření.

o-Nitrobenzensulfonylová skupina byla následně odštěpena účinkem benzethiolu v alkalickém prostředí, *O*-benzylová skupina odstraněna hydrogenací na 5% palladiu na uhlí ve směsi HCl/methanol a získaný volný amin byl dvoufázově peracetylován. Další transformace peracetylovaných derivátů vedla ke vzniku hydrogensíranů substituovaných aminoglukopyranos a zahrnovala acetolýzu obou 1,6-anhydromůstků a dvoustupňovou deacetylaci. Takto byla získána kompletní série 12 polohových isomerů diaminoderivátů pseudodisacharidů.

Tato práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (grantový projekt č. 203/02/D047).

LITERATURA

1. Kroutil J.: Eur. J. Org. Chem., zasláno do redakce.

VYUŽITÍ SONOGASHIROVY REAKCE K PŘÍPRAVĚ NOVÝCH 6-ALKYNYLPURINŮ

MARTIN KŘOVÁČEK^a a DALIMIL DVOŘÁK^a

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, PSC 166 28, Praha 6; martin.krovacek@vscht.cz

Modifikované purinové báze nesoucí substituenty v polohách C2, C6 nebo C8 purinového jádra vykazují široké spektrum biologické aktivity¹. Cílem předkládané práce bylo vypracovat metodiku pro syntézu nových 6-alkynylpurinů, nesoucích na trojně vazbě elektronakceptorní funkční skupinu. Protože Sonogashirova reakce v případě propynalu a alkylpropynoátů selhává, použili jsme odpovídající acetal a orthoester (Schéma 1).

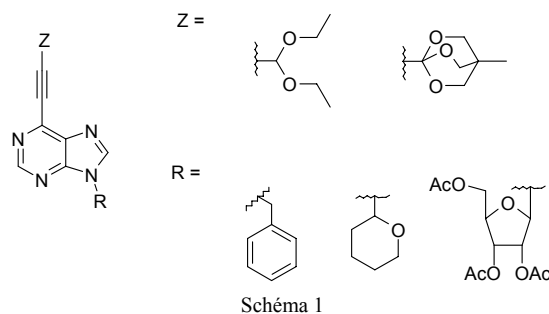


Schéma 1

Dále byla studována reaktivita získaných 6-alkynylpurinů v Diels-Alderových reakcích a v 1,3-dipolárních cykloadicích.

Práce byla financována grantem GA ČR č. 203/03/0035.

LITERATURA

1. Müller C. E.: Curr. Med. Chem. 7, 1269 (2000); Brathe A., Gundersen L. L., Rise F., Eriksen A. B., Vollnes A. V., Wang L. N.: Tetrahedron 55, 211 (1999).

POLYMERNÍ “DRUG DELIVERY SYSTÉMY” S HYDROXYBISFOSFONÁTOVÝMI SKUPINAMI PRO CÍLENÝ TRANSPORT DO KOSTNÍ TKÁNĚ

MARTIN HRUBÝ^{a*}, TOMÁŠ ETRYCH^a, JAN KUČKA^b a KAREL ULBRICH^a

^aÚstav makromolekulární chemie Akademie věd ČR, Heyrovského nám. 6, 162 06 Praha 6; ^bKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2
mhruby@centrum.cz

Kostní tkáň, na rozdíl od jiných tkání lidského organismu, se vyznačuje řadou specifických vlastností, které vyplývají z její primárně mechanické funkce. Hlavním specifikem je přítomnost velkého množství minerálu hydroxyapatitu (HA), který zlepšuje její mechanické vlastnosti.

Nástup používání (hydroxy)bisfosfonátů (HBF; např. alendronátu a zolendronátu), které inhibují činnost osteoklastů, znamenal zásadní průlom v terapii řady onemocnění spojených s patologickou degradací kosti, především Pagetovy choroby, osteoporózy a kostních metastáz nádorových onemocnění. HBF jsou po parenterální aplikaci rychle, z velkého procenta a prakticky ireverzibilně vychytávány v kostní tkáni chelataci

na povrch HA v důsledku sterické podobnosti těchto léčiv s difosfátem normálně přítomným ve struktuře HA. Distribuce HBF podle struktury kostí není homogenní, ale dochází k preferenčnímu vychytávání v oblastech kostí s vysokou remodelační aktivitou, jako jsou např. osteolytické metastatické nádorové leze (až desetinásobně větší koncentrace než v normální kosti¹), pravděpodobně díky větší přístupnosti povrchu HA v těchto místech.

Připravili a charakterizovali jsme nový polymerní nosičový systém umožňující cílený transport radiodiagnostik, radioterapeutik a protinádorových léčiv do kostní tkáně. Systém je založen na kopolymeru N-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu obsahujícímu HBF cílicí skupiny a model radioterapeutika (¹²⁵I), radiodiagnostikum (¹¹¹In) respektive protinádorové léčivo doxorubicin. *In vitro* studie vazby těchto nosičů na HA prokázaly velmi rychlou, na obsahu HBP závislou adsorpci na tento minerál. Modelová léčiva byla navázána následujícími chemickými spojkami: stabilní amidickou, pH-labilní hydrazonovou a v endosomech kathepsinem B enzymaticky štěpitelnou tetrapeptidovou (Gly-Phe-Leu-Gly). Léčivo vázané štěpitelnými vazbami může být efektivně uvolněno z nosiče hydrolyzou na základě změny pH, respektive enzymatického stimulu, jak bylo prokázáno v *in vitro* modelových studiích.

Studie byla vypracována za finanční podpory Grantové agentury Akademie věd České republiky, grant č. KJB 4050408.

LITERATURA

- Stepensky D., Kleinberg L., Hoffmann A.: Clin. Pharmacokinet. 42, 863 (2003).

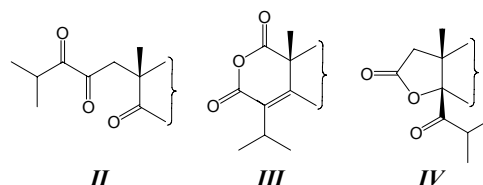
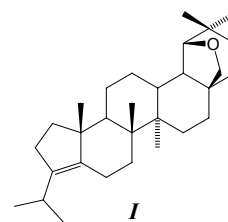
PŘÍPRAVA NOVÝCH OXIDOVANÝCH 18 α -OLEANANOVÝCH DERIVÁTŮ

MIROSLAV KVASNICA^a, IVA TIŠLEROVÁ^a, JAN ŠÁREK^a, JAN SEJBAL^a a IVANA CÍSAŘOVÁ^b

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2;
^bKatedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
mirek.kv@seznam.cz

V rámci našeho rozsáhlého výzkumu cytotoxicity triterpenoidů¹ byla otevřena cesta syntézy nových 18 α -oleananových derivátů oxidovaných převážně na kruhu A. Takto připravené sloučeniny by pak mohly vykazovat slibné cytotoxické účinky nebo by mohly být použity jako prekurzory pro další syntézy².

Jako výchozí sloučenina byl použit α -apoallobetulin **I** s dvojnou vazbou v poloze 3(5). Ten byl následně podroben třem typům reakcí³, a to epoxidaci pomocí MCPBA, allylové oxidaci dichromanem sodným a oxidativnímu štěpení oxidem rutheničelým. Následnými oxidačními reakcemi byly připraveny např. epoxyketony, diketony, triketony (např. **II**), anhydrid **III** a několik strukturně zajímavých sloučenin jako ozonidy, hydroxylakton nebo oxolakton **IV**.



Připravené sloučeniny nevykázaly při *in vitro* testování významnou cytotoxickou aktivitu proti nádorové linii CEM. Struktury všech připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.

Chemikálie a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, HPLC kolony byly zakoupeny z grantu MPO FT-TA/027, kdežto deuterovaná rozpouštědla pro NMR experimenty z grantu GA ČR 203/05/P025.

LITERATURA

- Šarek J., Klinot J., Džubák P., Klinotová E., Nosková V., Křeček V., Kořínková G., Thomson J.O., Janošťáková A., Wang S., Parsons S., Fischer P.M., Zhelev N.Z., Hajdúch M.: J. Med. Chem. 46, 5402 (2003).
- Tišlerová I., Klinotová E., Klinot J., Sejbál J., Rejzek M., Hilgard S.: Collect. Czech. Chem. Commun. 68, 751 (2003).
- Kvasnica M., Biedermann D., Urban M., Šarek J., Klinot J.: Chem. Listy 96, 930 (2002).

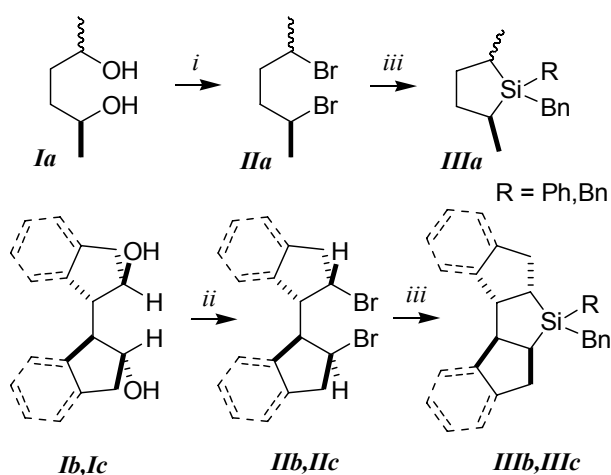
C₂-SYMETRICKÉ SILOLANY

JAROSLAV KVÍČALA a ONDŘEJ BASZCZYŃSKI

Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6;
kvicalaj@vscht.cz

Organokřemičité sloučeniny nacházejí široké využití v organické chemii. Spektrum jejich účinku na organické sloučeniny zahrnuje chránění, redukci, coupling, fluoraci atd. Chirální sloučeniny křemíku ve srovnání s analogickými bórovými nebo fosforovými sloučeninami vykazují mnohem nižší enantioselektivitu z důvodu delší vazby uhlík-křemík. V poslední době dochází k renesanci této oblasti chemie v souvislosti s použitím nových chirálních skupin s výraznou organizací prostoru¹.

V souvislosti se snahou o nalezení nových enantioselektivních nukleofilních fluoračních činidel jsme připravili z C₂-symetrických diolů **Ia-Ic** dibromidy **IIa-IIIc**. Jejich reakcí s hořčíkem a následně s dibenzylchlorosilanem nebo benzyl(dichlor)fenylsilanem jsme získali silolany **IIIa-IIIc**.



Schema 1. *i* PBr₃; *ii* CBr₄, PPh₃; *iii* 1. Mg, 2. R(Ph)SiCl₂

Benzylová skupina v silolanech může být odstraněna redukcí vodíkem na palladiu nebo fluorací fluoridem draselným. Další transformace vzniklých reaktivních intermediátů budou diskutovány.

Děkujeme Grantové agentuře České republiky (Grant č. 203/03/0496) a Ministerstvu školství České republiky (Projekt č. MSM223100001) za finanční podporu tohoto projektu.

LITERATURA

- Oestreich M., Schmid U.K., Auer G., Keller M.: *Synthesis* 2003, 2725.

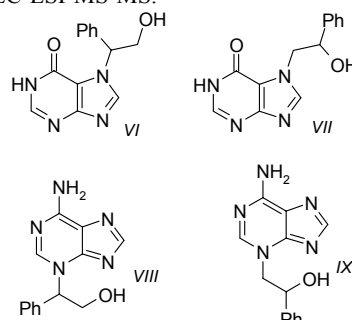
FENYL(HYDROXY)ETHYL-DERIVÁTY ADENINU A GUANINU JAKO INDIKÁTORY EXPOSICE STYRENU, JEJICH SYNTÉZA A STANOVENÍ V MOČI

IGOR LINHART, JAN NOVÁK a JAN KROUŽELKA

*Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha
linharti@vscht.cz*

Aduktů DNA substituované v polohách 7-N guaninu a 3-N adeninu snadno deurinují. Modifikované purinové base se pak vylučují v moči a mohou sloužit jako indikátory expozice genotoxickým látkám, schopným alkylovat DNA¹. Mezi tyto látky náleží také styren-7,8-oxid (*I*), reaktivní metabolit styrenu. Byly vyvinuty syntetické postupy pro deriváty adeninu a guaninu odvozené od *I* využívající vhodných prekurzorů adeninu a guaninu a syntetických ekvivalentů *I*. Jako prekurzor guaninu byl použit 7-methyl-10-oxo-9,10-dihydropyrimido[1,2-*a*]purin² (*II*), jako prekurzor adeninu 8-bromadenin (*III*). Syntetickými ekvivalenty oxiranu *I* byly bromhydriny, 2-brom-2-fenylethanol (*IV*) a 2-brom-1-fenylethanol (*V*) chráněné allylovou nebo benzylovou skupinou. Alkylačními reakcemi s následujícím ochráněním byly získány žádané produkty, 7-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)guanin (*VI*), 7-(2-fenyl-2-hydroxy-ethyl)guanin (*VII*), 3-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)adenin (*VIII*) a 3-(2-fenyl-2-hydroxy-ethyl)adenin (*IX*). Oba deriváty guaninu byly použity pro

vývoj analytické metody stanovení těchto DNA aduktů v moči pomocí HPLC-ESI-MS-MS.



Obr. 1. Struktury připravených aduktů DNA

Autoři děkují za finanční podporu granty 310/03/0437 od GA ČR a MSM 604 613 73 01 z Ministerstva školství ČR.

LITERATURA

- Shuker D.E.G, Farmer P.B.: *Chem. Res. Toxicol.* 5, 450 (1992).
- Kjellberg J., Hagberg C.E., Malm A., Noren J.O., Johansson N.G.: *Acta Chem. Scand. B* 40, 310 (1986).

REAGENCIE PRO VÝVOJ ELISA METODY PRO KUMESTROL

**HANA KRAKOVÍČOVÁ^a, ZUZANA MACKOVÁ^a,
RADKA KOBLOVSKÁ^a, MICHAELA VÍTKOVÁ^b
a OLDŘICH LAPČÍK^a**

*^aÚstav chemie přírodních látek, FPBT, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bÚstav biochemie a mikrobiologie, FPBT, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
lapciko@vscht.cz*

Kumestrol (3,9-dihydroxykumestan) patří mezi estrogeně aktivní látky rostlinného původu (fytoestrogeny). Z hospodářsky významných rostlin se vyskytuje hlavně ve vojtěšce (tolice, rod *Medicago*) a v jetelích (rod *Trifolium*). Fytoestrogeny obsažené v potravě mohou za určitých okolností ovlivňovat zdravotní stav lidí i hospodářských zvířat. Nedávno byla v naší laboratoři připravena RIA metoda pro stanovení kumestrolu v biologických materiálech, založená na protilátkách proti konjugátu 3-*O*-karboxymethylkumestrolu s BSA a využívající jako indikátor konjugát 3-*O*-karboxymethylkumestrolu se ¹²⁵I značeným tyrosylmethyl-esterem¹.

Cílem této práce bylo připravit polohově homologní derivát kumestrolu s alternativním můstkem a jeho konjugáty s nosičovými proteiny a otestovat jejich použitelnost v ELISA metodách. Reakce kumestrolu s ethyl-4-brombutyrátem v dimethylsulfoxidu alkalizovaném uhličitánem draselným poskytla směs jak obou možných monosubstituovaných derivátů, tak disubstituovaný derivát. Po rozdělení reakční směsi preparativní TLC byl požadovaný 3-*O*-karboxypropylkumestrol získán hydrolyzou odpovídajícího ethylesteru 50% kyselinou mravenčí. Konjugáty 3-*O*-karboxypropylkumestrolu s ovalbuminem a s hovězím

sérovým albuminem byly připraveny modifikací karbodiimidové metody podle Yatsimirske². Nejlepší imunochemické charakteristiky vykazoval konjugát s ovalbuminem. Jeho použití umožnilo sestavení nepřímé kompetitivní ELISA jako první neizotopové imunochemické metody pro kumestrol.

Tato studie byla podpořena výzkumným záměrem MŠM č. 604 613 7305.

LITERATURA

- Lapčík O., Štursa J., Kleinová T., Vítková M., Dvořáková H., Klejdus B., Moravcová J.: *Steroids* 68, 1147 (2003).
- Yatsimirskaia E.A., Gavrilova E.M., Egorov A.M., Levashov A.: *Steroids* 58, 547 (1993).

ISOFLAVONOIDY V ČELEDI SOLANACEAE

**ZUZANA MACKOVÁ^a, RADKA KOBLOVSKÁ^a,
MICHAELA VÍTKOVÁ^a, OLDŘICH LAPČÍK^a
a BOŘIVOJ KLEJDUS^b**

^a*Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6;* ^b*Ústav chemie a biochemie, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno
lapciko@vscht.cz; klejdusb@seznam.cz*

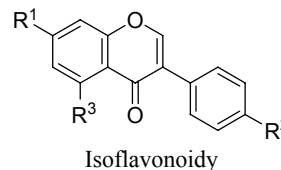
Isoflavonoidy (3-fenylchromony) jsou biologicky aktivní sekundární metabolity rostlin, které byly doposud zaznamenány v omezeném počtu čeledí, mezi nimiž není jasná fylogenetická vazba. Zatímco v bobovitých (*Fabaceae*) jsou isoflavonoidy zastoupeny hojně, v ostatních čeledích často představují minoritní složky komplexu fenolických látek. Nedávno jsme popsali nově výskyt isoflavonoidů v čeledích *Rutaceae* (routovité)¹ a *Myrtaceae* (myrtovité)². V této studii jsme se zaměřili na jejich výskyt u rodu *Nicotiana* z čeledi Solanaceae (lilkovité). Dosud byla přítomnost isoflavonoidů v této čeledi popsána jen jednou, u lilku druhu *Solanum torvum*³. Naše nálezy naznačují, že biosyntéza isoflavonoidů by v čeledi Solanaceae mohla být obecným jevem.

Rostlinný materiál pocházel ze sbírky Botanické zahrady Univerzity Karlovy v Praze. Stonky, listy a květy byly bezprostředně po odběru zmrazeny a do lyofilizace uchovávané při -20 °C. Suché vzorky byly namlety na tříštitivém mlýnku a extrahovány směsí ethanol/voda 8:2 (v/v). Extrakty byly analyzovány HPLC v kombinaci s imunochemickými metodami a HPLC-MS v SIM modu³.

Ve všech studovaných druzích tabáků jsme zaznamenali řadu isoflavonoidů, jak aglykonů, tak glykosylovaných forem, v rozsahu od desítek mikrogramů až jednotek miligramů na kilogram suché váhy. Nejvíce zastoupeným derivátem byl prunetin, následovaný 4'-methoxyisoflavonoidy (formononetin, biochanin A). Nejvyšší imunoreaktivitu vykazovaly květní vrcholy, naopak ve stoncích byly zanedbatelné. Kromě známých isoflavonoidů jsme v HPLC chromatogramech pozorovali několik imunoreaktivních frakcí, které byly prozatím popsány pouze chromatografickými a imunochemickými charakteristikami.

Význam isoflavonoidů v čeledi Solanaceae je zatím nejasný. Odlišný rozsah jejich glykosylace a methylace

v listech a v květních vrcholech naznačuje, že isoflavonoidy hrají určitou roli ve fyziologii rodu *Nicotiana*.



Daidzein: R¹=R²= OH, R³=H; Genistein: R¹=R²=R³=OH; Formononetin: R¹=OH, R²= OCH₃, R³=H; Biochanin: R¹=R³= OH, R²= OCH₃; Prunetin: R¹= OCH₃, R²=R³=OH; Daidzin: R¹= D-glukosyl, R²= OH, R³=H; Genistin: R¹= D-glukosyl, R²=R³=OH; Sissotrin: R¹=Glukosa, R²=OCH₃, R³= OH; Ononin: R¹= D-glukosyl, R²=OCH₃, R³= H;

Tato studie byla podpořena grantem GA ČR 525/03/0352.

LITERATURA

- Lapčík O., Klejdus B., Davidová M., Kokoška L., Kubáň V., Moravcová J.: *Phytochem. Anal.* 15, 293 (2004).
- Lapčík O., Klejdus B., Kokoška L., Davidová M., Afandí K., Kubáň V., Hampl R.: *Biochem. Syst. Ecol.* 33, 983 (2005).
- Arthan D., Svasti J., Kittakoop P., Tanticharoen M., Thebtaranonth Y.: *Phytochemistry* 59, 459 (2002).
- Klejdus B., Vítámvásová-Štěrbová D., Kubáň V.: *Anal. Chim. Acta* 450, 81 (2001).

ANTIFUNGÁLNÍ AKTIVITA 5-BROMTHIOSALICYLANILIDŮ

**LENKA KUBICOVÁ^a, MILOŠ MACHÁČEK^a, MARTIN
ŠUSTR^a, LUÍŠ SILVA^b a VLADIMÍR BUCHTA^b**

^a*Katedra anorganické a organické chemie a* ^b*Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
machacek@faf.cuni.cz.*

Antifungální aktivita thiosalicylanilidů je známa již od 60. let 20. století¹. Teprve poměrně nedávno byla ve skupině derivátů substituovaných chlorem v thioacylové části molekuly nalezena i vysoká aktivita *in vitro* proti *Absidia corymbifera*, jednomu z původců mukormykózy². Cílem tohoto příspěvku bylo připravit sérii 5-bromthiosalicylanilidů substituovaných v anilidové části a studovat jejich antifungální účinnost.

Výchozí 5-bromsalicylanilidy byly syntetizovány reakcí kyseliny 5-bromsalicylové s příslušným anilinem a chloridem fosforitým v chlorbenzenu. Reakcí s ethyl-chlorformiátem byly převedeny na 6-brom-3-fenyl-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-diony. Z nich byly thionací sulfidem fosforečným a následnou alkalickou hydrolyzou připraveny žádané produkty³.

Antifungální aktivita 5-bromthiosalicylanilidů byla testována *in vitro* mikrodiluční bujónovou metodou proti *Candida albicans* ATCC 44859, *C. tropicalis* 156, *C. krusei* E28, *C. glabrata* 20/1, *Trichosporon beigeli* 1188,

Trichophyton mentagrophytes 445, *Aspergillus fumigatus* 231 a *Absidia corymbifera* 272. Byla vyjádřena jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) po 24 a 48 h (u *T. mentagrophytes* po 72 a 120 h) statické inkubace při 35 °C (cit.⁴). MIC byla definována jako IC80, tj. nejnižší koncentrace testované látky, při které dochází k 80% a vyšší inhibici růstu vůči kontrole bez účinné látky.

Připravené 5-bromthiosalicylanilidy se proti *A. corymbifera* ukázaly být účinnější než amfotericin B anebo alespoň srovnatelně účinné jako tento standard. Při porovnání s dříve připravenými látkami² byly většinou také srovnatelně účinné jako odpovídající 5-chlorthiosalicylanilidy, avšak méně účinné než 3,5-dichlorthiosalicylanilidy. Pokud jde o ostatní testované kmeny, byla zjištěna významná účinnost 5-bromthiosalicylanilidů pouze proti *T. mentagrophytes*.

Práce byla podporována grantem GA UK 312/2005/B-CH/FaF a výzkumným záměrem MŠMT MSM 0021620822.

LITERATURA

1. Weuffen W., Wagner G., Singer D., Petermann M.: *Pharmazie* 21, 613 (1966).
2. Šustr M., Macháček M., Kubicová L., Kubanová P.: *Chem. Listy* 95, 760 (2001).
3. Waisser K., Kubicová L., Gregor J., Buďová J., Andrllová A., Dršata J., Odlerová Ž.: *Česk. Slov. Farm.* 47, 84 (1998).
4. Klimešová V., Svoboda M., Waisser K., Macháček M., Buchta V., Odlerová Ž.: *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 329, 438 (1996).

STUDIUM MECHANISMŮ CYKLOADIČNÍCH REAKCÍ DERIVÁTŮ VINYLTHIOFENU S DIMETHYL ACETYLENDIKARBOXYLÁTEM

ALEŠ MACHARA^a a JIŘÍ SVOBODA^a

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, PSC 166 28 Praha 6
ales.machara@seznam.cz

Při výzkumu vhodných syntetických cest vedoucích k různě substituovaným benzothienobenzofuranům a benzothienobenzothiofenům bylo zjištěno, že cykloadiční reakce odpovídajících vinylthiofenů s DMAD kromě očekávaných produktů poskytují i látky s cyklopenta[*b*]thiopyranovým (thialenovým) skeletem¹⁻³. Pro vysvětlení tohoto chování byly připraveny dvě série vinylderivátů umožňující posoudit vliv různých anelovaných jader a elektronodorních skupin na průběh reakce. Na základě analýzy struktur vznikajících látek a jejich distribuce byl navržen nesoučinný mechanismus reakce vedoucí k rozšíření thiofenového kruhu na thiopyranový. Dále budou prezentovány výsledky zjištěné při použití účinných katalyzátorů Dielsových-Alderových reakcí a polárních rozpouštědel.

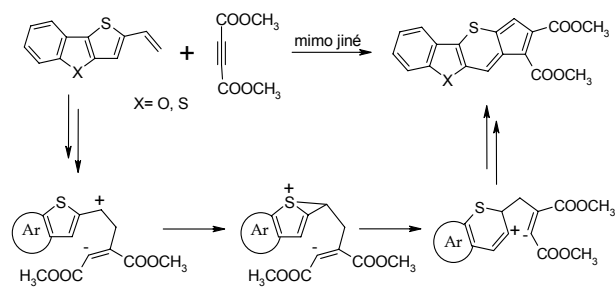


Schéma 1

Práce byly podporovány grantem MŠMT (projekt č. MSM 223100001) a GA ČR (projekt č. 202/05/0431).

LITERATURA

1. Váchal P., Pihera P., Svoboda J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 62, 1468 (1997).
2. Pihera P., Dvořáková H., Svoboda J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 64, 389 (1999).
3. Machara A., Kurfürst M., Kozmík V., Petříčková H., Dvořáková H., Svoboda J.: *Tetrahedron Lett.* 45, 2189 (2004).

PŘÍPRAVA HEMISUKCINÁTŮ BETULININŮ

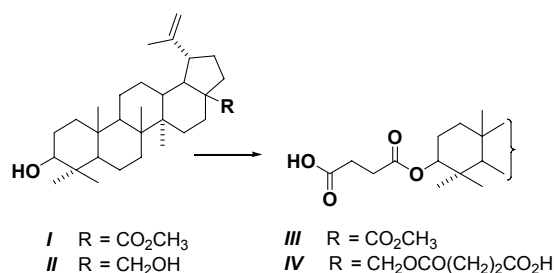
**M. KVASNICA^a, L. MARKOVÁ^a, J. ŠAREK^a,
M. HAJDÚCH^b, K. FRISOŇSOVÁ^a a M. VLK^a**

^aKatedra organické a jaderné chemie, PřF UK, Hlavova 8, 128 43, Praha; ^bLab. experiment. medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20, Olomouc
lmarko@email.cz

Betulininy¹ reprezentují skupinu triterpenoidů připravených na našem pracovišti, odvozených od lupanového, des-E-lupanového a 18 α -oleananového skeletu, které vykazují významnou protinádorovou aktivitu (IC₅₀ < 10 μ mol/l). V souvislosti s dalším výzkumem betulininů bylo zjištěno, že účinné sloučeniny často nemají zcela výhodné farmakologické vlastnosti – zejména stabilitu a rozpustnost v mediích založených na vodné bázi. Proto bylo potřeba vhodnou modifikací připravit deriváty s lepšími vlastnostmi potřebné pro *in vivo* testování, které budou vysoce hydrofilní jako např. hemifitaláty².

V rámci této práce byly připraveny hemisukcináty (např. III, IV) jednoduchou acylací hydroxyderivátů (např. I, II) sukcinanhydridem v pyridinu v přítomnosti DMAPu.

Připravené sloučeniny, které byly dosud testovány na *in vitro* cytotoxickou aktivitu vůči nádorové línii T-lymfoblastické leukemie vykázaly zajímavé výsledky. Struktury všech připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.



Adsorbenty a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, zpracování březové kůry a chemikálie byly financovány z grantu MPO FT-TA/027, kdežto testování cytotoxicity bylo hrazeno z grantu GA ČR 301/03/1570.

LITERATURA

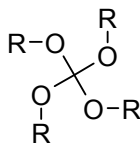
- Šarek J., Klinot J., Džubák P., Klinotová E., Nosková V., Křeček V., Kořínková G., Thomson J.O., Janošťáková A., Wang S., Parsons S., Fischer P.M., Zhelev N.Z., Hajdúch M.: *J. Med. Chem.* 46, 5402 (2003).
- Kvasnica M., Šarek J., Klinotová E., Džubák P., Hajdúch M.: *Bioorg. Med. Chem* 13, 3447 (2005).

KONFORMAČNÍ STUDIE TETRAARYL ORTHOKARBONÁTŮ

MARTIN KRUPÍČKA, SVATAVA VOLTROVÁ a STANISLAV BÖHM

Ústav organické chemie VŠCHT Praha; Technická 5; Praha 6; Martin.Krupicka@vscht.cz, Svatava.Voltrova@vscht.cz, Stanislav.Bohm@vscht.cz

Skupina 10 substituovaných tetraaryl orthokarbonátů je studována pomocí NMR spektroskopie. Předmětem zkoumání je teplotní závislost spekter. Pozorování se zaměřuje na rozštěpení signálu ortho protonu vlivem vymizení symetrie způsobované konformačními změnami. Současně jsou konformační rovnováhy podrobeny studiu metodami kvantové chemie.



R = fenyl, 4-bromfenyl, 4-chlorfenyl, mesityl, 2-chlorfenyl, 2,4,5-trichlorfenyl, 2-fluorfenyl, 2,5-dichlorfenyl, 2,3-dichlorfenyl, 4-nitronaftyl

LITERATURA

- Kandanarachi P.H.: *Hydrolysis of tetraaryl orthocarbonates* Univ. Illinois, Chicago, IL, USA, Dissertation (1994).
- Narasimhamurthy N., Samuelson A.G.: *Tetrahedron Lett.* 27, 991 (1986).

CÍLENÝ VÝZKUM VYSOCE ÚČINNÝCH ANTITUBERKULOTIK: V ACYLOVÉ ČÁSTI HALOGENOVANÉ N-(4-ALKYLFENYL)SALICYLAMIDY

JOSEF MATYK^a, KAREL WAISSER^a a JARMILA KAUSTOVÁ^b

^aUniverzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové;

^bZdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské náměstí 7, 70200 Ostrava, dolezalrjaf.cuni.cz; jarmila.kaustova@zuova.cz

Antibakteriální aktivita salicylanilidů má rozdílný mechanismus účinku, kterým se odlišuje od všech používaných antituberkulotik. V předchozí studii jsme studovali kvantitativní vztahy mezi strukturou a antimykobakteriální aktivitou těchto látek¹. Protože perspektivními se ukázaly deriváty halogensalicylamidů a současně jsme se domnívali, že významnou úlohu může hrát substituce alkylem v poloze 4. V této práci jsme se soustředili na látky s předpokládaným významným účinkem.

Jednotlivé sloučeniny byly připraveny reakcí kyseliny salicylové s příslušnými deriváty anilinu v toluenu za přítomnosti chloridu fosforitého. Získané látky byly předány na antimykobakteriální hodnocení. Zpravidla deriváty 3-chlor- a 4-chlor-salicylanilidů byly aktivnější než deriváty 3,5-dibromsalicylanilidů. Vliv alkylů byl velmi významný, nejúčinnější byly 4-propylderiváty. Výsledky byly analyzovány metodou QSAR. Nejúčinnější látky se účinkem vyrovnávají používaným antituberkulotikům, které však předčí spektrem účinku, zasahujícím také potenciální patogenní kmeny.

Projekt byl podporován VZ MŠMT 0021620822 a grantem FRVŠ 42/G6/2005.

LITERATURA

- Waisser K., Bureš O., Holý P., Kuneš J., Oswald R., Jirásková I., Pour M., Klimešová V., Kubicová L., Kaustová J.: *Arch. Pharm.* 336, 53 (2003).

VLIV CH/ π INTERAKCE NA STEREOSELEKTIVITU 1,3-DIPOLÁRNÍCH CYKLOADIČNÍCH REAKCÍ

PETR MELŠA^a, MICHAL ČAJAN^b a CTIBOR MAZAL^a

^aKatedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně, Kotlářská 2, 611 37 Brno;

^bLaboratoř růstových regulátorů, Společné pracoviště Palackého univerzity a Ústavu experimentální botaniky AV ČR, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc mazal@chemi.muni.cz

1,3-Dipolární cykloadiční reakce jsou významným syntetickým nástrojem chemie pětičlenných heterocyklických sloučenin¹. Popularita těchto reakcí těží z konceptu reakčního mechanismu založeného na teorii hraničních orbitalů (FMO), který se rozvíjí od 60. let minulého století a umožňuje dnes dostatečně spolehlivé předpovědi reaktivity a regioselectivity

v těchto reakcích. V současné době se soustředí pozornost na využití 1,3-dipolárních cykloadicí v „asymetrické“ syntéze, avšak faktory ovlivňující stereoselektivitu těchto reakcí jsou mnohem hůře definované a kromě zpochybňované sekundární orbitalové interakce, vycházející také z teorie FMO, je nutné zvažovat jak sterické efekty, tak coulombické interakce, vodíkové vazby či koordinaci s ionty kovů.

Výsledky našeho předchozího výzkumu 1,3-dipolárních cykloadicí α -methylidenlaktónů naznačily², že jedním z efektů, který může hrát významnou roli v ovlivnění stereoselektivity těchto reakcí je i intermolekulární CH/ π interakce³ mezi dipolarofilem a 1,3-dipolární sloučeninou.

Nyní chceme prezentovat naše nejnovější výsledky, které uvedenou hypotézu potvrzují. Nesporný efekt CH/ π interakce na diastereoselektivitu 1,3-dipolární cykloadice benzonitrilbenzylidu s α -methylidenlaktónem je demonstrován substitučním efektem *p*-substituentu na benzenovém jádře interagujícím s dipolarofilem. Elektronodonornější substituenty upřednostňují tvorbu cykloaduktů vzniklých reakcí přes transitní stav, v němž se uplatní CH/ π interakce. Diastereoselektivní přebytky těchto cykloaduktů významně korelují s hodnotami Hammettových konstant substituentů, což ukazují na určující vliv této interakce.

Geometrie pravděpodobných transitních stavů získané z kvantově chemických výpočtů metodou DFT s využitím hybridního funkcionálu B3LYP jsou v souladu s přítomností CH/ π interakce v transitním stavu většiny cykloaduktů. Konfigurace cykloaduktů byla potvrzena 2D NMR spektroskopii a rentgenovou strukturální analýzou.

P.M. děkuje FRVŠ za poskytnutý grant č. 570/2004.

LITERATURA

1. Padwa A., Pearson W. H. (Eds.) in: *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products*, J. Wiley, NY 2002.
2. Častulík J., Jonas J., Mazal C.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **65**, 708 (2000).
3. Nishio M.: *Tetrahedron* **61**, 6923 (2005).

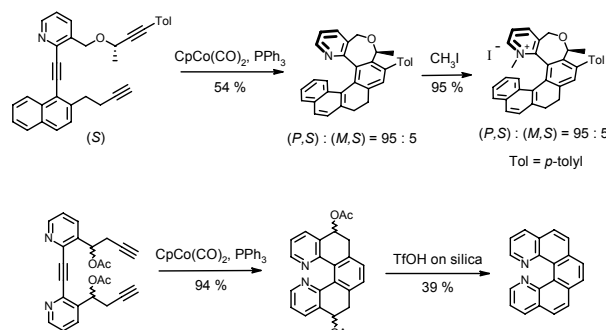
SYNTHESIS OF HELICALLY CHIRAL HETEROAROMATICS: AN EASY ACCESS TO AZAHELICENE DERIVATIVES

JIRÍ MÍŠEK, FILIP TEPLÝ, IRENA G. STARÁ*, IVO STARÝ*, and DAVID ŠAMAN

*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry
Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo nám.
2, 166 10 Prague 6
misek@uochb.cas.cz*

Azahelicenes and their derivatives have been rather rare although they might find interesting applications in various branches of chemistry. As the presence of nitrogen usually disqualifies the photodehydrocyclization approach^{1,2}, we have developed an alternative route using intramolecular [2+2+2] cycloisomerization³⁻⁵ of heteroaromatic triynes under Co(I) or Ni(0)catalysis. We have prepared azahelicene-like

compounds in a nonracemic form. This methodology can also be applied to the synthesis of fully aromatic azahelicenes. The use of helical pyridinium-type salts as PTC catalysts and obtaining of enantiomerically pure azahelicenes is under study.



Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Reg. No. 203/02/0248), Ministry of Industry and Trade/Zentiva (Reg. No. FI-IM/073), and Ministry of Education, Youth and Sports (Center for Biomolecules and Complex Molecular Systems, Reg. No. LC05A57).

REFERENCES

1. Murguly E., McDonald R., Branda N.R.: *Org. Lett.* **2**, 3169 (2000).
2. Martin R.H., Deblecker M.: *Tetrahedron Lett.* **10**, 3597 (1969).
3. Stará I. G., Alexandrová Z., Teplý F., Sehnal P., Starý I., Šaman D., Buděšínský M., Cvačka J.: *Org. Lett.* **13**, 2547 (2005).
4. Teplý F., Stará I. G., Starý I., Kollárovič A., Šaman D., Vyskočil Š., Fiedler P.: *J. Org. Chem.* **68**, 5193 (2003).
5. Teplý F., Stará I.G., Starý I., Kollárovič A., Šaman D., Rulišek L., Fiedler P.: *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 9175 (2002).

SYNTEZA NOVÝCH REAKTIVÁTORŮ ACETYLCHOLINESTERÁZY A JEJICH SCHOPNOST IN VITRO REAKTIVOVAT CHLORPYRIFOSEM INHIBOVANOU ACETYLCHOLINESTERÁZU

KAMIL MUSÍLEK^a, KAMIL KUČA^b, DANIEL JUN^b a MARTIN DOLEŽAL^a

^a*Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové,*
^b*Katedra toxikologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové
musilekk@faf.cuni.cz; kucakam@pmfhk.cz*

Pesticidy (např. parathion, chlorpyrifos) stejně jako nervově paralytické látky (např. soman, sarin, tabun, VX) patří do skupiny organofosfátů. Tyto látky ireverzibilně inhibují enzym acetylcholinesterázu (AChE). Jejich účinek je založen na fosforylaci aktivního místa enzymu, kde se kovalentně váží na serinový hydroxyl. Reaktivátory AChE štěpí vazbu enzym-inhibitor a slouží jako antidota při otravách organofosfáty¹.

Jejich účinek je specifický pro jednotlivou strukturu inhibitoru a žádná dosud známá látka není schopna efektivně reaktivovat strukturně široké spektrum organofosforových inhibitorů².

Byly připraveny nové reaktivátory AChE modifikací známých syntetických postupů. Jejich aktivita byla testována *in vitro* na chlorpyrifosem inhibovanou AChE a porovnána s aktivitami známých reaktivátorů (pralidoxim, methoxim, HI-6, obidoxim, trimedoxim). Z výsledků *in vitro* měření byl vyvozen vztah mezi strukturou a aktivitou. Reaktivční účinnost závisí na přítomnosti a množství kvarterních dusíků, konstituci a délce spojovacího řetězce a poloze a počtu hydroxyiminomethylových skupin v molekule³⁻⁴.

Autoři děkují za podporu Grantové agentury Univerzity Karlovy (grant č. 302/2005/B-CH/FaF) a Ministerstvu obrany České Republiky (grant č. ONVLAJEP 20031).

LITERATURA

1. Bajgar J.: Adv. Clin. Chem. 38, 151 (2004).
2. Kuča K., Patočka J.: J. Enzym. Inhib. Med. Chem. 19, 39 (2004).
3. Cabal J., Kuča K., Kassa J.: Pharmacol. Toxicol. 95, 81 (2004).
4. Musílek K., Kuča K., Jun D., Dohnal V., Doležal M.: J. Enzym. Inhib. Med. Chem., v tisku (2005).

TVORBA VS. ŠTĚPENÍ C-C VAZEB KATALYZOVANÉ KOMPLEXY NIKLU

DAVID NEČAS^a, MATYÁŠ TURSKÝ^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, a Centrum pro nová antivirotika a antineoplastika, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2;

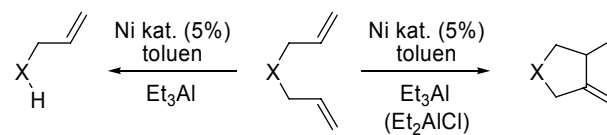
^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6

david.necas@seznam.cz kotora@natur.cuni.cz

V dnešní době je tvorba a štěpení C-C vazeb pomocí katalytických systémů na bázi komplexů přechodných kovů intenzivně studovanou oblastí v oboru organických syntéz¹. Alkeny mohou reagovat s komplexy přechodných kovů za vzniku organokovových sloučenin obsahujících vazbu C-kov a tyto látky většinou reagují dále za vzniku jedné či více nových C-C vazeb. Typickým zástupcem těchto reakcí jsou polymerace² či cyklizace³ dienu. Opačný proces, tj. degradace alkenů na menší celky není příliš prozkoumán. Katalytické štěpení C-C vazeb pomocí komplexů přechodných kovů probíhá většinou pouze s látkami se silným sterickým pnutím, kde hnací silou je snížení tohoto pnutí⁴.

Tento projekt vychází z předešlého studia cyklizací 2-chlor- α,ω -dienu⁵ katalyzovaných komplexy železa, při kterém jsme našli nový a snadno použitelný katalytický systém na bázi komplexů Ni. Vhodnou volbou výchozího dienu, reakčních podmínek a změnou molárních poměrů jednotlivých komponent katalytického systému je možné dosáhnout buď tvorby C-C vazeb (cyklizace), či změnit směr reakce a dosáhnout štěpení C-C vazeb (deallylace)⁶. Tento jev byl

podroben zkoumání z hlediska reakčního mechanismu a vlivu struktury výchozí sloučeniny na přednostní průběh reakce.



Projekt byl financován z Centra pro nová antivirotika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M6138896301) a grantu č. 203/03/H140 GA ČR.

LITERATURA

1. Activation of Unreactive Bonds and Organic Synthesis, Top. Organomet. Chem. 3, 1 (1999).
2. Chen E. Y. X., Marks T. J.: Chem. Rev. 100, 1391 (2000).
3. Trost, B. M., Krische, M. J.: Synlett 1999, 1.
4. Bishop K. C. III.: Chem. Rev. 76, 461 (1976).
5. Nečas D., Kotora M., Císařová I.: Eur. J. Org. Chem. 2004, 1280.
6. Nečas D., Turský M., Kotora M.: J. Am. Chem. Soc. 126, 10222 (2004).

SYNTÉZA C-ARYLRIBOSIDŮ [2+2+2]-KATALYTICKOU CYKLOTRIMERIZACÍ

PETR NOVÁK^a, MICHAL HOCEK^b a MARTIN KOTORA^{a,b}

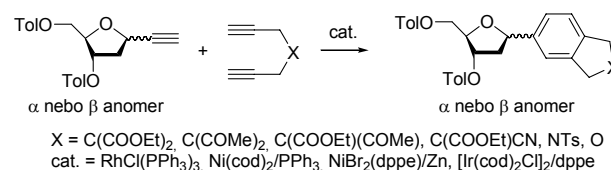
^aKatedra organické a jaderné chemie, a Centrum pro nová antivirotika a antineoplastika, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2;

^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6

kotora@natur.cuni.cz; _petrnovak@centrum.cz

C-arylglykosidy jsou deriváty glykosidů, kde glykosidický O atom je nahrazen atomem uhlíku. Vazba C-C zvyšuje stabilitu vůči enzymatické a chemické hydrolyze. Dále jsou C-arylderiváty odvozené od ribosy a deoxyribosy slibnými kandidáty pro rozšíření genetické abecedy.

Pro přípravu C-arylribosidů jsme zvolili [2+2+2]-cyklotrimerizaci s α,ω -diiny. Tento přístup umožňuje pracovat za mírných a neutrálních reakčních podmínek. Reakce byly provedeny s rozličnými typy katalyzátorů (Rh^I, Ni² atd.), za různých reakčních podmínek a s celou řadou diynů (Schéma 1) jak s α , tak β anomerem. Reakce proběhly dle očekávání a poskytly odpovídající produkty v dobrých výtěžcích.



Projekt byl financován z Centra pro nová antivirovika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M6138896301) a grantem 320/2005/B-CH/PrF GAUK.

LITERATURA

1. McDonald F. E., Zhu H. Y. H., Holmquist C. R.: J. Am. Chem. Soc. 117, 6605 (1995).
2. Turek P., Kotora M., Tišlerová I., Hocek M., Votruba I., Čiřařová I.: J. Org. Chem. 69, 9224 (2004).

SYNTEZA DODECYLESTERŮ DIMETHYLAMINOKYSELIN A HODNOCENÍ JEJICH AKCELERAČNÍ AKTIVITY

**JAKUB NOVOTNÝ, KATEŘINA VÁVROVÁ
a ALEXANDR HRABÁLEK**

Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
novotnyj@faf.cuni.cz

Akceleranty transdermální permeace jsou látky usnadňující přístup léčiva přes kůži¹. Dodecylester kyseliny 2-dimethylaminopropionové (DDAIP) je klinicky používaný akcelerační s vysokou urychlovací aktivitou pro řadu léčiv². Již dříve bylo zjištěno, že velmi účinným akceleračním je také dodecylester kyseliny 6-dimethylaminohexanové (DDAK)³. Cílem této práce bylo zjistit, jak se projeví změna vzdálenosti dimethylaminoskupiny od esterové vazby a jaký je vliv konfigurace na akcelerační účinek těchto látek.

Připravili jsme DDAIP včetně optických izomerů a dodecylestery kyseliny 3-dimethylaminopropionové, 4-dimethylaminobutanové, 5-dimethylaminopentanové a DDAK. Akcelerační účinnost všech nově připravených látek byla vyšší než účinnost klinicky používaného akceleračního DDAIP. Bylo zjištěno, že aktivita je vyšší u lineárního izomeru DDAIP a optimální délka uhlíkatého řetězce mezi aminoskupinou a esterovou skupinou je u dodecylesteru kys. 4-dimethylaminobutanové. Pro potvrzení tohoto faktu se pokusíme připravit a testovat i dodecylester kyseliny 7-dimethylaminoheptanové. Rozdíl akceleračních aktivit enantiomerů DDAIP není statisticky významný, vzhledem k velkému rozptylu hodnot je však nutné srovnání zopakovat.

Práce byla podporována Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (407/2004/B-CH/FaF) a Ministerstvem školství České Republiky (MSM 0021620822).

LITERATURA

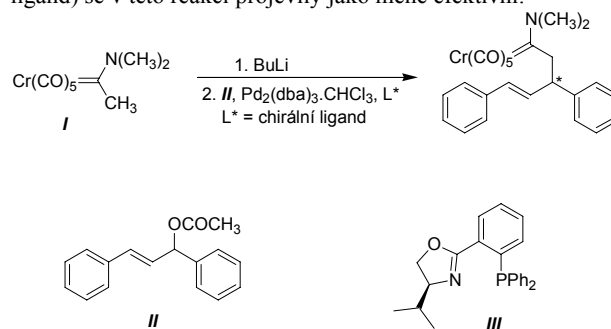
1. Vávrová K., Zbytovská J., Hrabálek A.: Curr. Med. Chem. 12, 2273 (2005).
2. Büyüktimkin S., Büyüktimkin N., Rytting J.H.: Pharm. Res. 10, 1632 (1993).
3. Hrabálek A., Farsa O., Doležal P., Šklubalová Z.: Pharmazie 55, 759 (2000).

AMINOKARBENOVÉ KOMPLEXY CHROMU JAKO NUKLEOFILY V ENANTIOSELEKTIVNÍ PALLADIEM KATALYZOVANÉ ALLYLOVÉ SUBSTITUCI

JAROSLAV PADEVĚT^a, DALIMIL DVOŘÁK^a

^aÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
Dalimil.Dvorak@vscht.cz

Palladiem katalyzovaná reakce karbaniontů aminokarbenových komplexů chromu s allylovými acetáty a karbonáty poskytují odpovídající aminokarbeny¹. Takto připravené γ,δ -nenasycené karbenové komplexy mohou být využity pro přípravu polycyklických systémů². Asymetrická indukce byla studována na reakci aniontu aminokarbenového komplexu **I** s allylacetátem **II** v přítomnosti Pd₂(dba)₃·CHCl₃ a chirálního ligandu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití fosfínoxazolínového ligandu **III** v THF (90% ee). Jiné chirální ligandy (BINAP·PdCl₂, bis-oxazolínové ligandy a Trostův ligand) se v této reakci projeví jako méně efektivní.



Schema 1.

Poděkování Grantové agentuře ČR za finanční podporu projektu (Grant č. 203/00/1240 a č. 203/04/0487).

LITERATURA

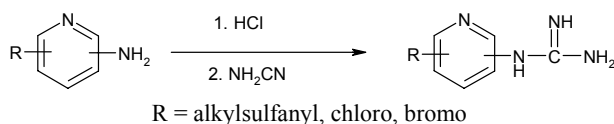
1. Dranoňovský D., Borgo V., Dvořák D.: Tetrahedron Lett. 43, 7867 (2002).
2. Moser W.H., Hegedus L.S.: J. Am. Chem. Soc. 118, 7873 (1996).
Ghoral B. K., Menon S., Johnson D.L., Herndon J. W.: Org. Lett. 4, 2121 (2002).
Hoze T.R., Vyvyan J.R.: J. Org. Chem. 60, 4184 (1995).

ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY OF SUBSTITUTED PYRIDYLGUANIDINES

**KAREL PALÁT^a, GABRIELA BRAUNEROVÁ^a,
EVGHENIJA EMELIN^a, MIROSLAV MILETÍN^b, and
JARMILA KAUSTOVÁ^c**

^aDepartment of Inorganic and Organic Chemistry, and
^bDepartment of Medicinal Chemistry and Drug Control,
Faculty of Pharmacy, Charles University, Heyrovského 1203,
500 05 Hradec Králové; ^c Department for Diagnostics of
Mycobacteria, Regional Institute of Public Health, Ostrava,
Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava
palat@faf.cuni.cz; jarmila.kaustova@zuova.cz

A series of substituted pyridylguanidines was synthesized (see Scheme I). Then the compounds were evaluated for *in vitro* antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* and two strains of *Mycobacterium kansasii*.



Scheme I

The compounds, especially alkylsulfanyl derivatives, are high effective against tested strains of mycobacterium. Particularly, the efficacy of some of them is higher than isoniazid against all strains. It is also similar to the activity of rifampicin (rifampin) tested on *Mycobacterium avium*.

This work was supported by the project No. MSM0021620822 of the Ministry of Education of the Czech Republic, and by the grant of the Grant Agency of the Czech republic No. 203/04/0178.

REFERENCES

- McKee R.H.: Am. Chem. J. 26, 209 (1901).
- Palát K., Čeladník M., Daněk J., Varkonda Š.: Collect. Czech. Chem. Commun. 57, 1127, (1992).
- Braunerová G., Buchta V., Silva L., Kuneš J., Palát K.: Farmaco 59, 443 (2004).

PŘÍPRAVA A HODNOCENÍ ANALOGŮ PYRAZINAMIDU JAKO POTENCIÁLNÍCH ANTIINFektiv

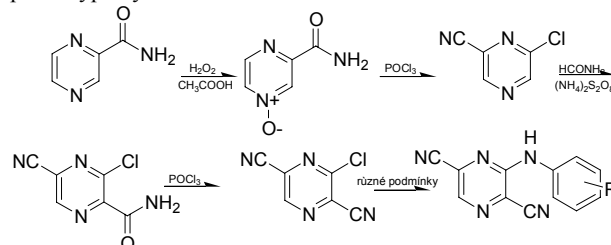
**LUKÁŠ PALEK^a, MARTIN DOLEŽAL^a, VLADIMÍR
BUCHTA^b a MARIÁN MEDŇANSKÝ^c**

^aKatedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv ^bKatedra biologických a lékařských věd, FarmF UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^cÚstav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
palek@faf.cuni.cz

Chemoterapie tuberkulózy zůstává nadále jedním ze stěžejních problémů světového zdravotnictví díky stále vyšší frekvenci výskytu nemoci (imigranti, sociálně slabí) a rostoucímu počtu HIV pozitivních pacientů. Výskyt tuberkulózy je vyšší i v ČR. Ročně u nás touto chorobou onemocní zhruba 2000 lidí, celosvětově 8 milionů. Z tohoto počtu zemře ročně asi 2,9 milionu osob. Alarmující je zvyšující se podíl onemocnění vyvolaných mykobakteriálními kmeny rezistentními vůči stávajícím antituberkulotikům.

Vývoj nových potenciálních atituberkulotik se na našem pracovišti ubírá cestou tvorby analogů již existujících léčiv (pyrazinamidu, jednoho z léčiv první volby viz obr.1), tzn. látek se širším terapeutickým indexem, s aktivitou proti rezistentním kmenům a se zlepšenou biologickou dostupností.

Ze získaných sloučenin je zatím biologicky neaktivnější 3-(3-chlorfenylamino)pyrazin-2,5-dikarbonitril, vykazující MIC = 8 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ proti běžným kmenům *Mycobacterium tuberculosis*, též však - oproti pyrazinamidu - jistou aktivitu proti atypickým kmenům.



Obr. 1

Tato studie vzniká za finanční podpory IGA MZ ČR 1A/8238-3.

LITERATURA

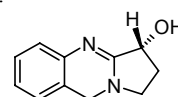
- Zhang Y., Wade M.M., Scorpio A., Zhang J., Sun Z.: J. Antimicrob. Chemother. 52, 790 (2003).
- Boshoff H.I., Mizrahi V., Barry C.E.: J. Bacteriol. 184, 2167 (2002).
- Doležal M., Miletín M., Kuneš J., Králová K.: Molecules 7, 363 (2002).

TŘÍSLŮŽKOVÁ CYKLIZACE V SYNTÉZE ANALOG VASICINU: EXTENZE KRUCIÁLNÍ SLOŽKY CYKLIZACE

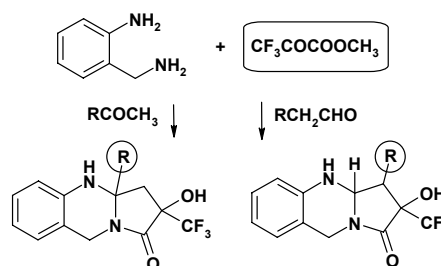
**JIŘÍ PALEČEK, JAROSLAV KVÍČALA a OLDŘICH
PALETA**

Ústav organické chemie, VŠCHT, Technická 5, 16628 Praha 6
jiri.palecek@volny.cz, jaroslav.kvicala@vscht.cz,
oldrich.paleta@vscht

Nedávno jsme objevili tříslůžkovou cyklizační reakci^{1,2}, která poskytuje trifluormethylovaná analoga alkaloidů skupiny Vasicinu (Peganinu)³.



Vasicin (Peganin)



Řada syntetických sloučenin analogických těmto přírodním látkám vykazuje významné farmaceutické vlastnosti. Nová cyklizace spočívá v reakci 2-aminobenzylaminu s methyl-3,3,3-trifluoropyruvát a vhodnou oxosloučeninou (aldehydem, ketonem):

V dalším studiu této cyklizace jsme se zabývali jejím rozsahem z hlediska struktury oxosloučeniny a její vliv na stereoselektivitu tvorby produktů a prokázali jsme hlavní stupně mechanismu cyklizace.

Z hlediska extenze této cyklizační reakce vyvstává otázka, zda je možno nahradit stávající hlavní složku, tj. trifluorpyruvát tak, aby trísložková cyklizace proběhla. Výzkumy, které jsou obsahem tohoto sdělení, ukázaly, že taková záměna je možná v určitých mezích, je-li zachována dostatečná reaktivita karbonylové skupiny v této klíčové složce.

Za podporu výzkumu děkujeme VŠCHT Praha, Grantové agentuře ČR (projekt 203/02/0306) a Ministerstvu školství ČR (projekt MSM 223100001).

LITERATURA

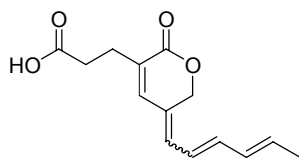
1. Dolenský B.: *Disertace PhD.* VŠCHT Praha, 1999.
2. Paleček J.: *Disertace PhD.* VŠCHT Praha, 2004.
3. Elks J., Ganellin C.R.: *Dictionary of Drugs, Chemical Data, Structures and Bibliographies*; Chapman and Hall, Cambridge, UK, 1991.

SYNTECKÉ STUDIE K TOTÁLNÍ SYNTÉZE GELASTATINU

JAN PAVLÍK^a, IVAN ŠNAJDR^a, MILAN POUR^a a JIŘÍ KUNEŠ^a

^a *Centrum pro výzkum nových virostatik a antineoplastik, Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové pavlikj@faf.cuni.cz*

Endopeptidasy gelatinasa A a B jsou dva druhy kolagenas, které jsou v organismu úzce spojeny se vznikem a rozvojem některých druhů zhoubných nádorů. Z tohoto hlediska jsou jejich inhibitory potenciálními protinádorovými léčivými. K takovým látkám patří např. gelastatin A a B, izolované z kultury houby *Westerdykella multispora* F50733, které vykazují inhibiční aktivitu vůči těmto enzymům^{1,2}.



gelastatin A (Z) a B (E)

Vzhledem k našemu zájmu o výzkum nových antineoplastik na bázi analogů přírodních laktonů jsme se rozhodli pro vývoj nové totální syntézy těchto látek s využitím Pd-katalyzované karbonylativní laktonizace jako metody výstavby pyranonového cyklu. Podmínky a optimalizace tohoto procesu jsou v současné době intenzivně studovány. S využitím této reakce lze připravit 3,6-disubstituované pyranony ve 3 krocích z terminálních alkenů.

Za finanční podporu děkujeme „Centru pro výzkum nových virostatik a antineoplastik“, podporovanému Ministerstvem školství ČR (1M6138896301), Grantové agentuře ČR (203/04/2134) a výzkumnému záměru MSM0021620822.

LITERATURA

1. H.-J. Lee, M.-C. Chung, C.-H. Lee, B.-S. Yun, H.-K. Chun, Y.-H. Kho: *J. Antibiotics* 50, 357 (1997).
2. J.-H. Cho, S. Y. Ko, E. Oh, J. C. Park, J. U. Yoo: *Helvetica Chimica Acta* 85, 3994 (2002).

VYUŽITÍ STEREOSELEKTIVITY HALOGENALKANDEHALOGENÁZ V ORGANICKÉ SYNTÉZE

ZBYNĚK PROKOP^a, YUKARI SATO^b, TOMÁŠ MOZGA^a, PETR JEŘÁBEK^a, DICK B. JANSSEN^c, YUJI NAGATA^d, TOSHIYA SENDA^b a JIŘÍ DAMBORSKÝ^a

^a *Loschmidovy laboratoře, Masarykova univerzita, Kamenice 5/A4, 625 00 Brno*; ^b *Advanced Institute for Science and Technology, 2-41-6 Aomi, Koto-ku, Tokyo 135-0064, Japonsko*; ^c *University of Groningen, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, Nizozemí*; ^d *Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, 2-1-1 Katahira, Sendai, 980-8577, Japonsko*

Široké spektrum klasických metod organické syntézy je v současné době rychle rozšiřováno o nové bioorganické metody. Průnikem znalostí biochemických věd a organické syntézy vznikají nové přístupy využívající přírodní katalyzátory (enzymy) při přeměně nepřírodních člověkem vytvořených organických sloučenin. Nejpozoruhodnější vlastností enzymů je jejich katalytická síla a selektivita. Rychle se rozšiřující oblastí průmyslu čistých chemikálií je aplikace biokatalýzy při výrobě opticky čistých sloučenin.

Alkoholy i halogenované sloučeniny jsou významnými stavebními prvky v organické syntéze, proto byly halogenalkandehalogenázy vždy považovány za biokatalyzátory s vysokým potenciálem pro aplikace v chemickém a farmaceutickém průmyslu. Nebyl však znám žádný zástupce z této specifické rodiny hydrolytických enzymů, který by vykazoval enantiomerní selektivitu dostatečnou pro použití při syntéze opticky aktivních sloučenin. Počátkem roku 2004, dvacet let po objevu první halogenalkandehalogenázy, byl vývoj enantioselektivních halogenalkandehalogenáz pro použití v průmyslové biokatalýze vytyčen jako jeden z hlavních úkolů této oblasti výzkumu¹.

Ve stejném roce byla provedena rozsáhlá studie hydrolytické dehalogenace široké skupiny racemických substrátů katalyzované halogenalkandehalogenázami Dh1A z *Xanthobacter autotrophicus* GJ10, DhA z *Rhodococcus rhodochrous* NCIMB 13064, LinB ze *Sphingomonas paucimobilis* UT26 a DbjA z *Bradyrhizobium japonicum* USDA110. Vysoké chirální rozpoznání bylo pozorováno pro 2-brompentan (E hodnota 145), 2-bromhexan (E hodnota 35) a halogenované estery propanových (E hodnota 194) a butanových kyselin (E hodnota 36). Tyto experimenty poprvé ukázaly, že určité proteiny z rodiny halogenalkandehalogenáz vykazují dostatečnou enantioselektivitu pro syntézu opticky čistých sloučenin ve vysoké čistotě, které

mohou být použity k produkci léčiv, agrochemikálií a potravinových aditiv.

LITERATURA

1. Janssen, D.B.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 8, 150 (2004).

AB INITIO VÝPOČTY OPTICKÉ OTÁČIVOSTI SACHARIDŮ

IVAN RAICH, JAKUB KAMINSKÝ, ŠTĚPÁN VALENTA a JAN HORNÍČEK

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; Ivan.Raich@vscht.cz

Určení absolutní konfigurace (AK) chirální molekuly představuje velice důležitý krok v asymetrické syntéze. Doposud se přiřazení AK u nově syntetizovaných produktů provádělo porovnáním ORD se strukturálně podobnými molekulami pomocí empirických pravidel pro určení znaménka optické otáčivosti nebo konverzí produktu na molekulu se známou AK¹. V případě krystalických látek bylo možné AK přiřadit na základě rentgenostrukturální analýzy.

Teprve v poslední době pokroky v teoretické chemii umožnily výpočet optické otáčivosti pomocí *ab initio* metod². Optická otáčivost závisí, kromě jiného silně na konformaci a je tudíž citlivým nástrojem pro strukturální analýzu. Na druhou stranu existuje řada vnějších faktorů (například solvatace), které mohou mít na otáčivost dramatický vliv.

Cílem této studie bylo provést výpočty optických otáčivostí pro stabilní konformery studovaných látek a na základě Boltzmannových populací spočítat výsledné hodnoty optických otáčivostí, které lze porovnávat s experimentálními hodnotami. Podle očekávání³ byly značné rozdíly podle použitých metod (HF, DFT, MP2 a CC) a různých velkých a flexibilních bází. S ohledem na dobu výpočtu byla navržena úroveň s optimálním poměrem „cena/výkon“.

Tato studie byla finančně podpořena interním grantem VŠCHT, č. 402 08 0017 a výzkumným záměrem MSM 6046137305.

LITERATURA

1. Polavarapu P. L.: *Chirality* 14, 768 (2002).
2. Stephens P. J., Devlin F. J., Cheeseman J. R., Frisch M. J., Bortolini O., Besse P.: *Chirality* 15, S57 (2003).
3. Wiberg K. B., Wang Y., Vaccaro P. H., Cheeseman J. R., Trucks G., Frisch M. J.: *J. Phys. Chem. A* 108, 32 (2004).

MICROWAVE PHOTOCHEMISTRY: PREPARATION OF THE ELECTRODELESS DISCHARGE LAMPS AND THEIR PHOTOCHEMICAL APPLICATIONS

VLADIMÍR CÍRKVA, STANISLAV RELICH, LEONA VLKOVÁ, and MILAN HÁJEK

^aInstitute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Rozvojová 135, 165 02 Prague, Czech Republic; e-mail: cirkva@icpf.cas.cz

The fact that electrodeless discharge lamp (EDL) generates ultraviolet radiation when placed into the microwave field has been known for long time. The low powered and low-pressure EDLs were utilized in spectroscopy four decades ago. However, its application for organic photochemistry has been shown only recently^{1,2}.

We disclosed the studies of microwave photochemistry in an original photochemical reactor consisting of EDL placed into the reactor vessel of a commercial microwave oven³. The UV discharge in the lamp is generated by MW field resulting in direct simultaneous UV and MW irradiation of reaction mixture. Such a simple arrangement brings a unique possibility to study photochemical reactions under extreme thermal conditions.

The EDL consists of a glass tube (quartz or Pyrex) filled under a lower pressure with argon and an excitable substance (Hg, HgI₂, Cd, I₂, KI, P, Se, S) and generates UV/VIS radiation when placed into the microwave field. The utilization of other filling material than mercury is practical and environmentally safe in the EDL performance. The original apparatus for easy preparation of EDLs will be described in detail.

The spectral measurements for prepared Hg, HgI₂, Cd, I₂, KI, P, Se and S-EDLs were accomplished in a modified microwave oven described by us⁴⁻⁶. The EDL characteristics (fill material, Pyrex and quartz, temperature effect, MW output power) were measured and will be discussed.

This work was supported by GACR (Grant No. 203/02/0879). We are grateful to Milestone (Italy) for technical supporting.

REFERENCES

1. Církva V., Hájek M.: *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 123, 21 (1999).
2. Klán P., Církva V., in: *Microwaves in Organic Synthesis, Microwave Photochemistry*, Chap. 14, p. 463. John Wiley, NY, 2002.
3. Klán P., Hájek M., Církva V.: *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 140, 185 (2001).
4. Müller P., Klán P., Církva V.: *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 158, 1 (2003).
5. Müller P., Klán P., Církva V.: *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 171, 51 (2005).
6. Církva V., Relich S., Vlková L., Hájek M.: *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, in press.

EASY PREPARATION OF REGIOISOMERS OF MONO-O-SUBSTITUTED α -, γ -CYCLODEXTRINS

MICHAL ŘEZANKA, JINDŘICH JINDŘICH, and IVA TIŠLEROVÁ

*Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Hlavova 2030, 128 43, Praha 2
jindrich@natur.cuni.cz*

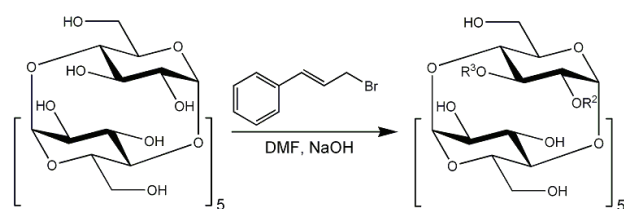
Cyclodextrins (CDs) and their derivatives have good complexation abilities due to the rigid, cone-shaped cavity formed by α -1,4-linked D-glucopyranose units. Our research is focused on the preparation of a set of exactly defined dimers

of α -, β -, γ -CD linked with different spacers for using in analytical methods.

The first and the main step is the preparation of monoderivative of CD, which has easily transformable functional group – e.g. cinnamyl group. Although many syntheses of regioisomers were described, there was no general and easy way to prepare pure regioisomers in larger amounts (3^1 - O -derivatives were prepared in mixtures and separated by HPLC).

We prepared a mixture 2^1 - and 3^1 - O -cinnamyl- α -cyclodextrin by the reaction of α -CD with cinnamyl bromide (Scheme 1), which could be easily separated by column chromatography. Position of the cinnamyl group was determined after peracetylation by 2D NMR techniques.

We also prepared and separated two monosubstituted derivatives of γ -CD (confirmed by MS). Determination of the structure of these isomers by 2D NMR techniques was not successful. Thus peracetylated derivatives of these isomers were prepared and the measurement 2D NMR of peracetylated cinnamyl- γ -CD is now in progress.



Scheme 1

R ²	R ³	Yield
cinnamyl	H	9,4 %
H	cinnamyl	11 %

This work was supported by grants GAUK 424/2004/B-CH/PřF, MŠM 113100001.

CYKLOPTYCENY: STAVEBNÍ BLOKY PRO KONSTRUKCI DUTÝCH STRUKTUR

JIŘÍ RYBÁČEK, PETR HOLÝ a JIŘÍ ZÁVADA

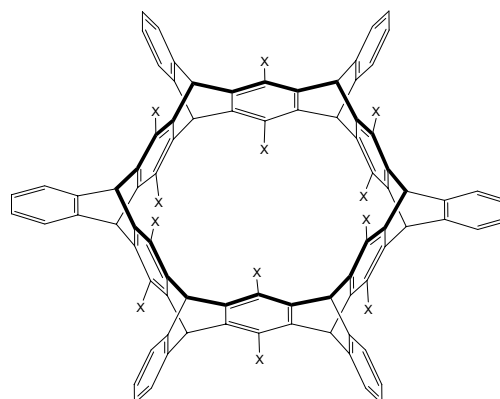
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR,
Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
rybacek@uochb.cas.cz

Porézní materiály přitahují pozornost zejména množstvím potenciálních aplikací v molekulárním rozpoznání, katalýze, skladování plynů a separaci¹. Jejich přípravy lze docílit samoskladbou vhodně navržených stavebních bloků (tektonů) v pevné fázi.

Snahy o supramolekulární konstrukci porézních materiálů z jednoduchých molekulárních stavebních bloků často narážejí na obecnou energetickou nevýhodnost dutých struktur vedoucí k alternativním způsobům samoskladby použitých stavebních molekul. Těmto problémům lze do jisté míry předejít volbou strukturně složitějších a přitom rigidních makrocyclických tektonů².

Zajímavým příkladem takové stavební jednotky může být molekula šestibokého cykloptycenu (průměr kavity cca 10Å), ve kterém vhodně orientované substituenty X

představují zdroj supramolekulární konektivity (např. prostřednictvím vodíkových vazeb).



Cykloptyceny byly sice již navrženy dříve³, jejich syntéza však dosud nebyla realizována. Předmětem příspěvku je retrosyntetický rozbor cykloptycennového skeletu a strategie syntézy klíčových intermediátů.

Autoři děkují za finanční podporu GA ČR (203/03/0087).

LITERATURA

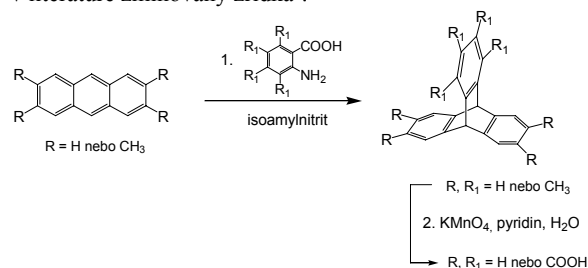
- Stepanow S., Lingenfelder M., Dmitriev A., Spillmann H., Delvigne E., Lin N., Deng X., Cai Ch., Barth J., Kern K.: Nature Materials 3, 229 (2004).
- Bong D.T., Clark T. D., Granja J. R., Ghadiri M. R.: Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 40, 988 (2001).
- Hart H.: Pure Appl. Chem. 65, 27 (1993).

TRIPTYCENKARBOXYLOVÉ KYSELINY

MARKÉTA RYBÁČKOVÁ^a, MARTIN BĚLOHRADSKÝ^a, PETR HOLÝ^a, IVANA CÍSAŘOVÁ^b a JIŘÍ ZÁVADA^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, ^bKatedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2
e-mail: rybama@uochb.cas.cz

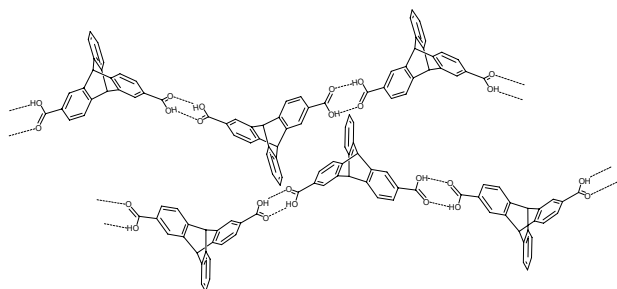
Karboxylové kyseliny odvozené od triptycenu jsou v literatuře zmiňovány zřídka¹.



Vypracovali jsme obecnou metodu přípravy oligokarboxylových triptycennových kyselin založenou na dvou následných reakčních krocích. Reakci methylderivátů

anthracenu s anthranilovou nebo dimethyl-anthranilovou kyselinou byly získány oligomethyltriptyceny², jejichž methylové skupiny byly pak oxidovány pomocí KMnO₄.

Cílové molekuly představují zajímavé stavební bloky (tektony) pro studium supramolekulární samoskladby v pevné fázi na základě tvorby dvojíých vodíkových vazeb mezi karboxylovými funkcemi. Prostorové uspořádání molekul triptycenkarboxylových kyselin v monokrystalu bylo studováno rentgenostrukturální analýzou.



Například v monokrystalu racemické triptycen-2,6-dikarboxylové kyseliny jsou molekuly uspořádány vodíkovými vazbami do nekonečných pásů, ve kterých se pravidelně střídají oba její enantiomery.

Autoři děkují za finanční podporu GA ČR (203/03/0087).

LITERATURA

1. Kuritani M., Sakata Y., Ogura F., Nakagawa M.: Bull. Chem. Soc. Jpn. 46, 605 (1973).
2. Friedman L., Logullo F.M.: J. Org. Chem. 34, 3089 (1969).

SYNTEZA NOVÝCH POVRCHOVĚ AKTIVNÍCH AZOINICIÁTORŮ: PŘÍSTUP K POLYMERNÍM NANOČÁSTICÍM

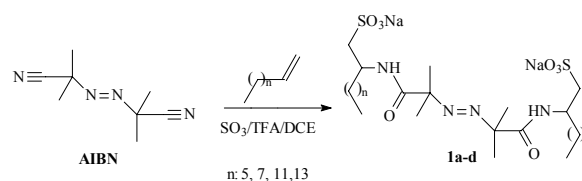
MILOŠ SEDLÁK^a a KLAUS TAUER^b

^aKatedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Čs. legii 565, 53210 Pardubice,

^bMax-Planck-Institute of Colloids and Interfaces, Research Campus Golm, 14424 Potsdam, Germany
Milos.Sedlak @upce.cz

Radikálová chemie je nejvíce rozšířená v oboru velkotonážní polymerace alkenů¹. V roce 2000 činila světová produkce polymerů 2×10^8 tun v hodnotě 200 bilionů €. Z toho 25% bylo vyrobeno technikami heterogenní polymerace¹. Kromě masové produkce nátěrových hmot se technikou emulzní polymerace připravují i některé speciality¹, jakými jsou stabilní polymerní nanočástice sloužící například jako nosiče léčiv, katalyzátorů nebo dalších specifických ligandů. Jednou z cest, jak je možné realizovat zmíněné radikálové reakce, je použití teplotně labilních iniciátorů (zdrojů radikálů) s vlastnostmi povrchově aktivních látek (INISURFs)¹⁻⁶. Z komerčně dostupného 2,2'-azobisdiisobutyronitrilu (AIBN) jsme připravili²⁻⁴ dvě série povrchově aktivních azoiniciátorů. Pinnerovou reakcí² byl

AIBN převeden na estery benzylalkoholu, 2-fenylethan-1-olu a 3-fenylpropan-1-olu, které byly následně sulfonovány. Modifikovanou³ Ritterovou reakcí AIBN, oxidu sírového a odpovídajícího alkenů (okt-1-en, dec-1-en, tetradec-1-en a 1-hexadec-1-en) byly po neutralizaci získány sodné popř. amonné soli 2,2'-azobis(*N*-2'-methylpropanoyl-2-aminoalkyl-1-)-sulfonátů (1a-d). Připravené sulfonáty jsou aniontové geminální surfaktanty, které zároveň fungují jako iniciátory emulzních polymerací. Připravené série povrchově aktivních azoiniciátorů byly použity ke studiu⁴⁻⁶ emulzních polymerací methakrylátů lišících se hydrofilitou. Rovněž byly připraveny stabilní nanočástice poly(2-hydroxyethylmethakrylátu) určené pro biomedicínální aplikace⁴.



Práce byla podpořena projektem MŠMT ČR, MSM 002 162 7501

LITERATURA

1. Antonietti, M., Tauer, K.: Macromol. Chem. Phys. 204, 207 (2003).
2. Sedlák, M., Tauer, K.: Molecules 5, 730 (2000).
3. Sedlák, M.; Tauer, K.: Synlett 2004, 299.
4. Tauer, K., Imroz Ali M., Sedlák M.: Colloid. Polym. Sci. 283, 351 (2005).
5. Tauer, K., Imroz Ali M., Yildiz U., Sedlák M.: Polymer 46, 1003 (2005).
6. Imroz Ali M., Tauer, K., Sedlák M.: Polymer 46, 1017 (2005).

DIASTEREOSELECTIVE SYNTHESIS OF [11]HELICENE-LIKE MOLECULES VIA DOUBLE [2+2+2] CYCLOISOMERIZATION^{2,3}

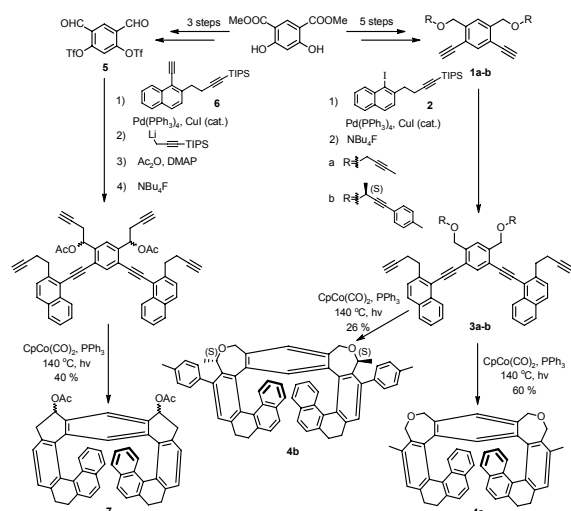
PETR SEHNAL, IVO STARÝ*, IRENA G. STARÁ, ZUZANA ALEXANDROVÁ, and DAVID ŠAMAN

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry
Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague 6
sehnal@uochb.cas.cz

We have developed a novel approach to higher and extended helical scaffolds¹ utilizing double Co^I-catalyzed [2+2+2] cycloisomerization of aromatic molecules containing six acetylene units.

The synthesis utilizes readily available building blocks **1a**, **1b**. The Sonogashira coupling of **1a**, **1b** with iodide **2** followed by desilylation gives the key hexaynes **3a**, **3b**, respectively. The key double [2+2+2] cycloisomerization proceeds under CpCo(CO)₂ catalysis and provides the desired [11]helicene-like compounds **4a**, **4b**. In case of the centrally chiral hexayne **3b**, the reaction proceeds in a highly diastereoselective fashion¹. An analogous synthesis, which

utilises building blocks **5** and **6**, provides the helical diacetate **7** suitable for further synthetic modifications.



Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Reg. No. 203/02/0248), Ministry of Industry and Trade/Zentiva (Reg. No. FI-IM/073), and Ministry of Education, Youth and Sports (Center for Biomolecules and Complex Molecular Systems, Reg. No. LC05A57).

REFERENCES

1. Stará I.G., Alexandrová Z., Teplý F., Sehnal P., Starý I., Šaman D., Budešínský M., Cvačka J.: *Org. Lett.* **13**, 2547 (2005).
2. Teplý F., Stará I.G., Starý I., Kollárovič A., Šaman D., Vyskočil S., Fiedler P.: *J. Org. Chem.* **68**, 5193 (2003).
3. Teplý F., Stará I.G., Starý I., Kollárovič A., Šaman D., Rulišek L., Fiedler P.: *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9175 (2002).

TOTÁLNÍ SYNTÉZA UNCININU A JEHO ANALOG

PETR ŠENEL, HELENA FÁKOVÁ a MILAN POUR

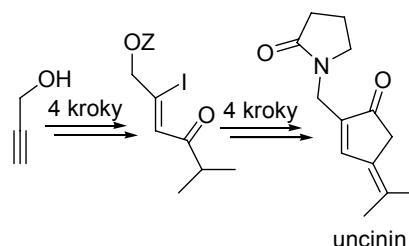
Centrum pro výzkum nových virostatik a antineoplastik, Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové senelp@faf.cuni.cz

Butenolidy, tj. 2,5-dihydrofuran-2-ony, jsou rozsáhlou skupinou přírodních látek s širokým spektrem biologických účinků.

V roce 2001 byl z rostliny *Artabotrys uncinatus* (Annonaceae), která byla v tajvanském lidovém léčitelství používána k léčbě nasofaryngeálního karcinomu, izolován nový butenolidový alkaloid uncinin. Tato látka vykazovala *in vitro* cytotoxicitu proti buněčným liniím hepatokarcinomu Hep G₂ (IC₅₀ = 6.1 μg/ml). Vzhledem k omezenému množství alkaloidu, dostupného z přírodního materiálu, bylo nutné vyvinout efektivní a flexibilní totální syntézu, dovolující i přípravu analog.

Základem molekuly uncininu je butenolid, substituovaný v poloze 3 (2-oxopyrrolidin-1-yl)methylovým zbytkem a iso-

propylenem v poloze 5. Jako logický hlavní krok celého postupu se nabízela Pd-katalyzovaná karbonylativní laktonizace vhodného β-jodenonu. Uncinin jsme tak získali¹ v 8 krocích z propargylalkoholu jako výchozího materiálu, v celkovém výtěžku 11%. Při přípravě analog jsme se zaměřili na záměnu pyrrolidinonového cyklu za jiné substituenty a dále na modifikaci exocyklické dvojné vazby. Záměnou isopropylidenu za isopropyl v poloze 5 jsme získali dihydropyridin a jeho analoga.



Za finanční podporu děkujeme „Centru pro výzkum nových virostatik a antineoplastik“, podporovanému Ministerstvem školství ČR (1M6138896301), Grantové agentuře ČR (203/04/2134) a výzkumnému záměru MSM0021620822.

LITERATURA

1. Fáková H., Šenel P., Pour M., Kuneš J.: *Tetrahedron Lett.*, v tisku.

STUDY OF ACYLATION REACTIONS OF THE LOWER RIM OF THIALIX[4]ARENES

**MARKÉTA ŠIMÁNOVÁ^a, PAVEL LHOTÁK^a,
IVAN STIBOR^a, HANA DVOŘÁKOVÁ^a,
and MICHAELA POJAROVÁ^{a,b}**

^a Department of Organic Chemistry, ICT Prague

^b Department of Solid State Chemistry, ICT Prague simanovm@vscht.cz

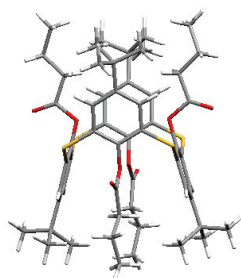
This work is a part of the systematic study of the reactivity of thialix[4]arenes and deals with the acylation of the lower rim of thialix[4]arenes.

The acylations were carried out with aliphatic and/or aromatic acyl chlorides or anhydrides in the presence of AlCl₃ or triethylamine using DMAP as a catalyst. Two thialixarene derivatives, 5,11,17,23-tetra-*tert*-butylthialix[4]arene and its de-*tert*-butylated analogue thialix[4]arene, were used as substrates.

It was found that the regioselectivity and stereoselectivity of acylation reactions depend on the particular reaction conditions.

The acylations under the above-described conditions yielded preferentially the corresponding di- and/or tetraacylated thialix[4]arenes in various conformations (cone, 1,3-alternate), which were identified using ¹H NMR spectroscopy. The conformations of several products were unequivocally determined in solid state by the single-crystal X-ray crystallographic analysis.

Our experimental results have proven the efficiency of DMAP as a catalyst in the acylation of the thiacalix[4]arene lower rim.



REFERENCES

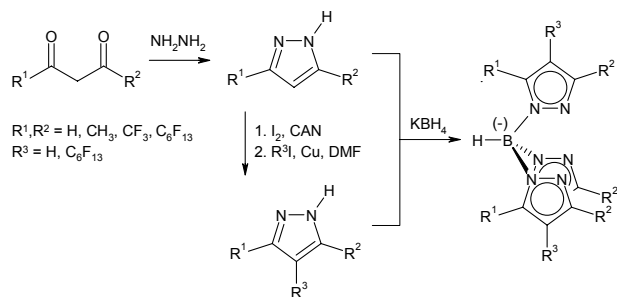
1. Gutsche C. D.: „Calixarenes: Monographs in Supramolecular Chemistry Vol 1“; Stoddart J. F., Ed.: The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1989.
2. Gutsche C. D.: „Calixarenes Revisited: Monographs in Supramolecular Chemistry“; Stoddart J. F., Ed.: The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1989.
3. Kumar S.; Chabla H. M.; Varadajan R.: Tetrahedron Lett. 43, 2495 (2002).

PERFLUORALKYLOVANÉ ŠKORPIONÁTY

MARTIN SKALICKÝ, KRYŠTOF ŠIGUT a JAROSLAV KVIČALA

Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; e-mail: martin.skalicky@vscht.cz

Jedním z cílů našeho výzkumu je příprava fluorofilních ligandů, které by vykazovaly dobré komplexační vlastnosti a současně byly dostatečně fluorofilní pro úspěšné použití ve fluorové dvoufázové katalýze. Příkladem mohou být ligandy pyrazolového typu, které jsou analogií k cyklopentadienylovým ligandům, studovaným dříve v naší pracovní skupině¹.



Cílem této práce bylo připravit bis- a tris(pyrazolyl)boráty (škorpiónáty)² a jejich uhlíkatá analoga, nesoucí různé perfluoralkylové řetězce. Jejich příprava je založena na reakci 1,3-diketónů s hydrazinem, vzniklé pyrazoly mohou být reakcí s tetrahydridoboritanem draselným převedeny na příslušné škorpiónáty, nebo dále modifikovány převedením na jodidy a kaplingem s perfluoralkyljodidy.

V teoretické části byly pomocí *ab initio* výpočtů studovány komplexy cílových molekul - perfluoroalkylovaných škorpiónátů se zaměřením na porovnání komplexačních vlastností na základě nábojového rozložení na atomech dusíku.

Děkujeme Ministerstvu školství České republiky (Projekt č. MSM223100001) za finanční podporu tohoto projektu.

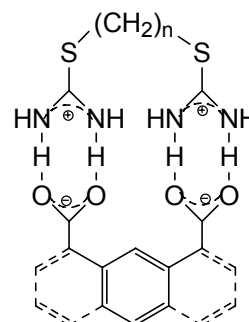
LITERATURA

1. Bříza T., Kvičala J., Paleta O., Čermák J.: Tetrahedron 58, 3847 (2002).
2. Trofimenko S.: Chem. Rev. 93, 943 (1993).

BIFUNKČNÍ KARBOXYLÁTY AMIDINŮ A S-SUBSTITUOVANÝCH ISOTHIOMOČOVIN**MARTA SLÁDKOVÁ a SVATAVA VOLTROVÁ**

Ústav organické chemie VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6
marta.sladkova@vscht.cz; svatava.voltrova@vscht.cz

V rámci studia komplexace aniontů pomocí slabých mezimolekulových interakcí bylo naším cílem připravit sloučeniny obsahující dvě amidinium-karboxylátové interakce.



Z příslušných bis(isothiuronium)bromidů ($n=3,4,6$) byly reakcí se solemi kyselin nebo iontově výměnnou chromatografií připraveny a charakterizovány soli kyseliny m-fenyldioctové a anthracen-1,8-dikarboxylové.

Je studován vliv reakčních podmínek (koncentrace, pH, rozpouštědla) na tvorbu kyselých solí, bis-solí, případně příslušných polyfunkčních solí.

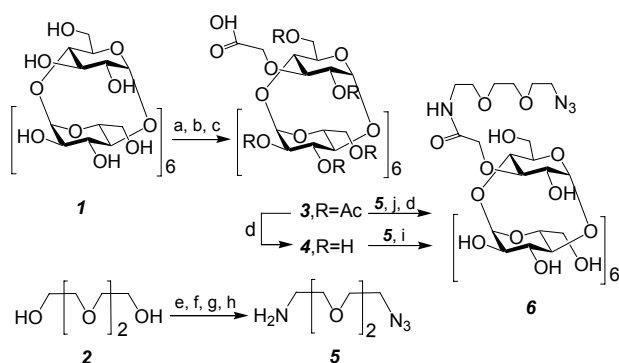
SYNTÉZA CYKLODEXTRINOVÉHO PREKURZORU PRO CHEMOSENZORICKÉ APLIKACE**JAKUB SMRČEK a JINDŘICH JINDŘICH**

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2
jindrich@natur.cuni.cz

Byl syntetizován regioselektivně substituovaný cyklodextrinový derivát, vhodný pro navazování různých fluorescenčních skupin, pro využití v chemosenzorických aplikacích.

Jako výchozí látky byly užity β -CD **1** a triethylenglykol **2**. Ty byly vybaveny vhodnými funkčními skupinami. β -CD byl převeden na 3'-*O*-karboxymethyl- β -CD **4** ve 4 krocích¹. Syntéza 1-amino-8-azido-3,6-dioxaoktanu **5** z triethylenglykolu **2** byla uskutečněna rovněž ve 4 krocích^{2,3}.

Spojení aminové skupiny raménka **5** s karboxymethylovou skupinou β -CD derivátu bylo provedeno pomocí amidické vazby. Tato reakce byla provedena dvěma způsoby. V prvním případě byl použit cyklodextrinový derivát s volnými hydroxylovými skupinami **4**. Výtěžek této reakce byl nízký a výsledná reakční směs obsahovala velké množství výchozího β -CD derivátu **4**, který se nepodařilo chromatograficky oddělit. Naproti tomu reakce za použití peracetylovaného β -CD derivátu **3** proběhla s velkým výtěžkem. Po deacetylaci byla získána syntetizovaná látka **6**.



a) cinnamylbromid, NaOH, CH₃CN, H₂O; b) Ac₂O, pyridin; c) RuCl₃, NaIO₄, CH₃CN, H₂O; d) NaOMe, MeOH; e) TsCl, Et₃N, Et₂O; f) NaN₃, EtOH; g) ftalimid draselný, DMF; h) 1. N₂H₄·H₂O, MeOH, 2. HCl, H₂O; i) HOBt, DCC, DMAP.HCl, DMF; j) HOBt, DCC, DMAP.HCl, CH₂Cl₂.

Projekt je podporován grantem GAUK 424/2004/B-CH/PfF.

LITERATURA

- Jindřich J., Tišlerová I.: J. Org. Chem., v tisku.
- Meunier S. J., Quiguan W., Wang S.N., Roy R.: Can. J. Chem. 75, 1472 (1997).
- Bertozzi R. C., Bednarski M. D.: J. Org. Chem. 56, 4326 (1991).

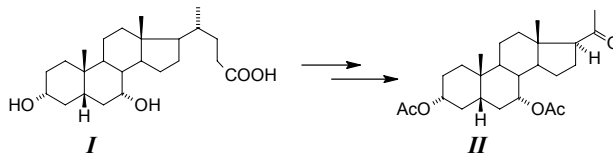
SYNTÉZA A HYDROFILNÍ DERIVATIZACE 3 α ,7 α -DIHYDROXY-5 β -PREGNAN-20-ONU

EVA ŠTASTNÁ^{a,b} a HANA CHODOUNSKÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6; ^bKatedra organické a jaderné chemie, Albertov 6, 128 43 Praha 2
stasna@uochb.cas.cz, hchod@uochb.cas.cz

V rámci projektu, který se zabývá aktivitou NMDA receptoru, byly připraveny nové deriváty 3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -pregnan-20-onu s předpokládanou biologickou aktivitou. Tato účinnost je podmíněna polární substitucí v poloze C3 (např. sulfátovou skupinou^{1,2}).

Výchozí kyselina chenodeoxycholová **I** byla transformována postupem uvedeným v literatuře³: karboxylová skupina byla převedena na methyl ester, který v reakci s Grignarovým činidlem poskytl odpovídající difenyl derivát. Následnou allylovou bromací, dehydrohalogenací a oxidací byl získán 3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -pregnan-20-on diacetát (**II**).



Derivát **II** byl následně substituován hydrofilními skupinami (např. sulfátovou, hemisukcinátovou) v poloze 3 a 7.

Práce byla provedena v rámci výzkumného záměru ZA 055 0506, za podpory grantu GA AV IAA4055305.

LITERATURA

- Irwin R.P., Lin S., Rogawski M.A., Purdy R.H., Paul S.M.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 271, 677 (1994).
- Horák M., Vlček K., Petrovič M., Chodounská H., Vyklický L. Jr.: J. Neurosci. 24, 10318 (2004).
- Dias J.R., Nassim B.: Steroids 35, 405 (1980).

SUGAR CHAINS PROTECT PROTEINS AGAINST RADICALS GENERATED FROM XENOBIOTICS: A NOVEL ROLE FOR CARBOHYDRATE MOIETIES IN GLYCOPROTEINS

MARIE ŠTIBOROVÁ^a, VÁCLAV MARTÍNEK^a, JAN SKLENÁŘ^{a,b}, MIROSLAV ŠULC^{a,b}, EVA FREI^c, and KAREL BEZOUŠKA^{a,b}

^aDepartment of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University Prague, Albertov 2030, CZ-12840 Prague 2, Czech Republic; e-mail: stiborov@natur.cuni.cz

^bInstitute of Microbiology, Academy of Sciences of Czech Republic, CZ-14220 Prague 4, Czech Republic.

^cDivision of Molecular Toxicology, German Cancer Research Center, D-69120 Heidelberg, Germany

Glycosylation, one of the most common and abundant post-translational modifications of proteins, greatly influences the properties of proteins. Carbohydrate chains in proteins protect against proteolysis, facilitate protein folding, and target proteins to specific cellular destinations¹. Here we suggest a novel role for protein glycosylation, namely the protection of the polypeptide by the carbohydrate moieties from the attack of radicals generated in living cells. In the course of our investigations of the peroxidase-mediated biotransformation pathways of two xenobiotics^{2,3}, a carcinogenic azo dye, Sudan I², and an antitumor alkaloid, ellipticine³, we found that radicals generated from both Sudan I and ellipticine easily attacked the unglycosylated proteins such as HSA and BSA than proteins, which are glycosylated. Highly glycosylated model proteins such as ovomucoid, Tamm-Horsfall glycoproteins and α_1 -acid glycoprotein (in addition to the

highly glycosylated peroxidases), were only modified to a low extent. Overall, there was a very good inverse correlation between the degree of radical binding to the protein and glycosylation for both the investigated compounds with correlation coefficients for Sudan I and ellipticine of 0.91 and 0.88, respectively. Comparison of these activities using RNase A (nonglycosylated) and RNase B (glycosylated) supported our findings on two proteins having an identical protein moiety and differing only in glycosylation. Our findings indicate a novel role for protein glycosylation, namely, the protection of protein against the attack by radicals generated from a one-electron oxidation of xenobiotics.

Supported by Ministry of Education of Czech Republic (MSM 0021620808) and by the Institutional Research Concept (AVOZ5020963).

REFERENCES

- Gagneaux P., Varki A.: *Glycobiology* 9, 747 (1999).
- Stiborová M., Martinek V., Rýdlová H., Hodek P., Frei E.: *Cancer Res.* 62, 5678 (2002).
- Frei E., Bořek-Dohalská L., Wiessler M., Stiborová M.: *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 42, 252 (2001).

DESATURACE MASTNÝCH KYSELIN V CHEMICKÉ KOMUNIKACI HMYZU

ALEŠ SVATOŠ^{a,b}, PETRA NEŠNĚROVÁ^b, PETRA JOŠTOVÁ^{a,b}, IVA PICHOVÁ^a a IRENA VALTEROVÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10, Praha; ^bMax-Planck-Institute for Chemical Ecology, Hans-Knöll-Str. 8, 07745, Jena, BRD; e-mail: svatos@ice.mpg.de

Sexuální feromony hmyzu jsou biosyntetizovány samicemi z mastných kyselin ve specializovaných orgánech (feromonových žlázách)¹. Kyseliny vznikají ve žlázách většinou *de novo* a jsou kaskádou enzymatických reakcí transformovány na feromony², které slouží k lákání konspecifických samců^{1,2}. Pro pochopení enzymatických dějů byly v ÚOCHB a MPI CHE vypracovány nové analytické metody k určení struktury a stereochemie vznikajících feromonů a odpovídajících intermediátů^{3,4,5}. Pro sledování jednotlivých biosyntetických cest byly použity ²H a ¹³C značené prekurzory a jejich přeměny byly sledovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí^{6,7,8}.

Naše pozornost byla věnována několika klíčovým enzymům: CoA-desaturasám⁹ a alkohol oxidasám¹⁰. Netytické hmyzí desaturasy jsou odpovědné za vysokou specifitu feromonové komunikace u hmyzu, na rozdíl od běžných $\Delta 9$ -desaturas jsou to $\Delta 11$ -desaturasy. Ty jsou v současné době intenzivně studovány. Jejich specifity jsme využili k biosyntéze feromonových prekurzorů v tabáku *in planta* a semisynteticky připravené feromony byly účinnými atraktanty pro hmyz¹¹. Nyní se věnujeme studiu enzymatických procesů u samic lišaje tabákového, *Manduca sexta*, které produkují bohatou směs 15 monoenů, dienů a trienů a předpokládáme zde přítomnost několika specifických desaturas. Prozatím jsme isolovali, sekvenovali a funkčně exprimovali dvě desaturasy s $\Delta 9$ - a $\Delta 11$ -specifitou¹².

Blanokřídlý hmyz (včely a čmeláci) také používají k chemické komunikaci feromony lipidického charakteru, ale desaturasy zde přítomné mají $\Delta 9$ -specifitu¹³. Značkovací feromon čmeláků bývá směsí ethylesterů mastných kyselin a terpenických látek¹⁴. Zatím nepopsané ethylesterasy jsou patrně odpovědné za specifitu značky⁸.

Děkuji prof. Meinwaldovi, Bolandovi a Attygalle za dlouhodobou podporu, pracovníkům odd. přírodní látky ÚOCHB a hmotnostní spektrometrie MPI CHE za spolupráci a pomoc, ÚOCHB, EU (5-tý rámcový program) a MPG za finanční podporu.

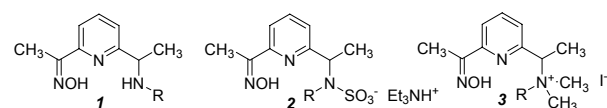
LITERATURA

- Jurenka R.: *Topics Curr. Chem.* 239, 97 (2004).
- Kalinová B., Svatoš A.: *Živa* 2000, 76.
- Attygalle A. B., Svatoš A., Wilcox C., Voerman S.: *Anal. Chem.* 66, 1696 (1994).
- Oldham N. J., Svatoš A.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 13, 331 (1999).
- Svatoš A., Kalinová B., Hoskovec M., Kindl J., Hovorka O., Hrdý I.: *Tetrahedron Lett.* 40, 7011 (1999).
- Svatoš A., Kalinová B., Boland W.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 29, 225 (1999).
- Hoskovec M., Luxová A., Svatoš A., Boland W.: *Tetrahedron* 58, 9193 (2002).
- Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O., Svatoš A.: *Chemoecology* 13, 81 (2003).
- Knipple D. C., Rosenfield C. L., Miller S. J., Liu W. T., Tang J., Ma P. W. K., Roelofs W. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 15287 (1998).
- Luxová A., Svatoš A.: *J. Mol. Catal. Biol.*, v tisku.
- Nešněrová P., Šebek P., Macek T., Svatoš A.: *Green Chem.* 6, 305 (2004).
- Joštová P., Pichová I., Svatoš A.: NCBI database No. AM076339 a AM076338.
- Joštová P., Valterová I., Svatoš A.: nepublikované výsledky.
- Valterová I., Urbanová K.: *Chem. listy* 91, 846 (1997).

NOVÁ EXTRAKČNÍ ČINIDLA PŘECHODNÝCH KOVŮ OBSAHUJÍCÍ 2-(1-HYDROXYIMINOALKYL)-PYRIDINOVÉ CHELATOTVORNÉ SESKUPENÍ

EVA SVOBODOVÁ^a, FRANTIŠEK HAMPL^a, RADEK CIBULKA a FRANTIŠEK LIŠKA^a

^aVysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav organické chemie, Technická 5, 166 28 Praha 6; e-mail: svobodoe@vscht.cz



Optimalizovaným postupem¹ vycházejícím z 2,6-diacetylpyridinu byly připraveny tři série ligandů obsahující 2-(1-hydroxyiminoalkyl)pyridinové chelatotvorné seskupení: 6-(1-hydroxyiminoethyl)-2-(1-alkylaminoethyl)pyridin **1**, triethylammonium-*N*-alkyl-*N*-[1-[6-[1-(hydroxyimino)ethyl]-pyri-

din-2-yl]ethyl]sulfamát **2** a *N*-alkyl-*N,N*-dimethyl-1-[6-[1-(hydroxyimino)ethyl]pyridin-2-yl]ethan-1-aminium-jodid **3**.

Extrakční účinnost připravených ligandů **1**, **2** a **3** byla testována pomocí transportu iontů přechodných kovů přes chloroformovou kapalnou membránu BLM². Porovnáním průběhů transportů různých iontů přechodných kovů (Cu²⁺, Ni²⁺, Pd²⁺ ...) pomocí ligandů **1**, **2** a **3** bude posouzen vliv záporného náboje na transportní chování ligandu.

Autoři děkují Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy za finanční podporu projektu, grant číslo MSM 604 613 73 01.

LITERATURA

1. Svobodová E., Cibulka R., Hampl F., Liška F.: Chem. Listy 98, 1032 (2004).
2. Svobodová E., Cibulka R., Hampl F., Šmidrkal J., Liška F.: Collect. Czech. Chem. Commun. 70, 441 (2005).

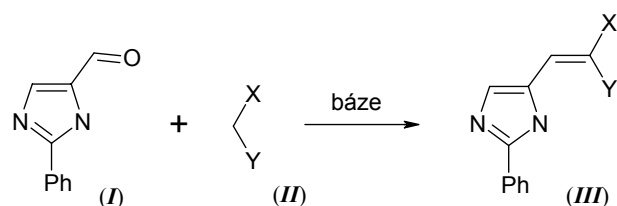
SYNTEZA A STUDIUM STRUKTURY NĚKTERÝCH DERIVÁTŮ 2-FENYLIMIDAZOLU

TOMÁŠ SZOTKOWSKI^a, FILIP BUREŠ^a, OLDŘICH PYTELA^a a ZDENĚK TRÁVNÍČEK^b

^a*Katedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, nám. Čs. Legií 565, 532 10 Pardubice;*

^b*Katedra anorganické chemie Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Křížkovského 10, 771 47 Olomouc. Tomas.Szotkowski@upce.cz*

V rámci výzkumu byly studovány možnosti syntézy derivátů 2-fenylimidazolu s využitím aldolové kondenzace dle schématu 1. Kondenzací 2-fenylimidazol-4-*karbaldehydu* (**I**) s některými *C*-nukleofily (**II**) byla připravena řada derivátů obecného vzorce **III**¹.



Schema 1. Obecná rovnice aldolové kondenzace.

Produkty byly podrobeny důkladné NMR analýze s cílem zjistit konfiguraci na dvojně vazbě u nesymetricky substituovaných derivátů. Některé dílčí výsledky byly již publikovány². Jeden derivát byl rovněž zkoumán pomocí monokrystalové rentgenové strukturní analýzy.

U vhodných produktů aldolové kondenzace byly dále testovány možnosti syntetické transformace na chirální deriváty 2-fenylimidazolu.

Práce vznikla za finanční podpory MŠMT (grant č. 3320/22/CZ351002 a grant č. MSM6198959218) a Univerzity Pardubice (č. FG350025/20).

LITERATURA

1. Szotkowski T., Pytela O.: *Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii*, 26. – 28. 11. 2004, Nymburk, poster.
2. Szotkowski T., Pytela O.: *14th European Symposium on Organic Chemistry*, 4. – 8. 7. 2005, Helsinky, poster.

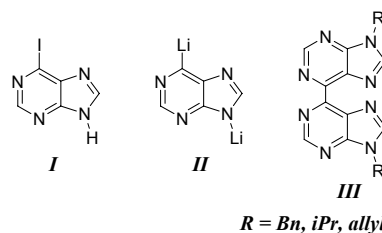
METALOVANÉ PURINY A JEJICH APLIKACE V SYNTEZE NOVÝCH DERIVÁTŮ S POTENCIÁLNÍ BIOLOGICKOU AKTIVITOU

TOMÁŠ TOBRMAN^a a DALIMIL DVOŘÁK^b

^a*Ústav organické chemie VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6 tobrmant@vscht.cz; dvorakd@vscht.cz*

Přestože purinové deriváty vykazují rozmanitou a zajímavou biologickou aktivitu, je známo relativně málo metodik¹ používaných k zavádění nových substituentů do poloh 2, 6 a 8 purinového jádra. V poslední době jsou k tomuto účelu využívány zejména „cross-coupling“ reakce halogenpurinů katalyzované přechodnými kovy. Naopak reakce metalovaných purinů s elektrofilny jsou opomíjeny. Důvodem je nízká reaktivita purinylzinkhalogenidů a nízká teplotní stabilita lithiovaných purinů.

V nedávné době jsme publikovali² přípravu purin-6-ylmagnesiumchloridů, které mají vyšší stabilitu ve srovnání s purin-6-yllithii³. Připravené purinylmagnesiumchloridy jsou ale málo reaktivní a reagují pouze s aldehydy. Proto jsme obrátili pozornost k purin-6-yllithium. Tyto látky jsou však stabilní pouze při -130 °C a při vyšších teplotách dochází k migraci lithia do polohy 8 purinového jádra³. Prokázali jsme, že pokud se provede metalace 9-nesubstituovaného 6-jodpurinu **I**, je vzniklý dilithioderivát **II** stabilní a dá se využít k přípravě nových 6-substituovaných purinů. Bude diskutována reaktivita dilithioderivátu **II** s různými elektrofilny a možnosti využití metalace pro syntézu 6,6'-purinových dimerů **III** z 9-substituovaných-6-jodpurinových derivátů.



Děkujeme Grantové Agentuře České Republiky za finanční podporu projektu (Grant číslo: 203/03/0035).

LITERATURA

1. Hocek M: Eur. J. Org. Chem. 2003, 245.
2. Tobrman T., Dvořák D.: Org. Lett. 5, 4289 (2003).
3. Leopard N. J., Bryant J. D: J. Org. Chem. 44, 4612 (1979).

PŘÍPRAVA 6-(TETRAHYDROISOCHINOLINYL) PURINOVÝCH DERIVÁTŮ KOCYKLOTRIMERIZACÍ 6-DIYNYLPURINŮ S NITRILY

**PAVEL TUREK^{a,b} MICHAL HOCEK,^b a MARTIN
KOTORA^{a,b}**

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2;

^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo
náměstí 2, 166 10 Praha 6
katora@natur.cuni.cz; turpav@uochb.cas.cz

6-Arylpurinové báze a nukleosidy vykazují zajímavé biologické vlastnosti (cytostatická, antibakteriální a antimykobakteriální aktivita). Nedávno jsme ukázali, že [2+2+2]-cyklotrimerizace 6-alkynylpurinů s dalšími diyny katalyzovaná komplexy přechodných kovů, zejména komplexy Ni a Co, je vhodnou metodou pro syntézu celé řady substituovaných 6-arylpurinů^{1,2}.

Dalším cílem naší práce bylo vypracovat postup pro přípravu nových potenciálně biologicky aktivních heterocyklických derivátů purinů **III**. Pro přípravu těchto látek byla zvolena kocyklotrimerizace 6-diynylpurinů **I** s řadou různých nitrilů **II** (Schéma 1) v přítomnosti katalytického nebo stechiometrického množství CpCo(CO)₂.

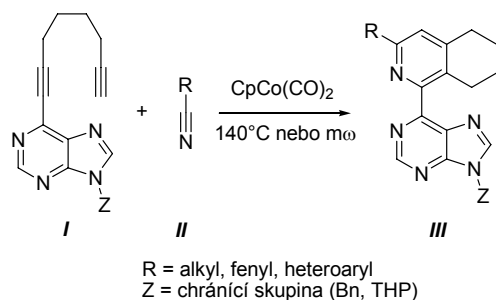


Schéma 1

Studiu různých reakčních podmínek ukázalo, že je možné cyklotrimerizaci iniciovat jak termicky, tak pomocí mikrovlnného záření v podstatě se stejným výsledkem. Nicméně, jeho použití vede k značnému zkrácení reakční doby. Výsledky naší práce budou dále diskutovány.

Práce byla provedena za podpory grantu GA ČR (203/03/0035) Centra pro nová antivirostaika a anti-neoplastika MŠMT (1M6138896301).

LITERATURA

1. Turek P., Kotora M., Hocek M., Císařová I.: Tetrahedron Lett. 44, 785 (2003).
2. Turek P., Kotora M., Tišlerová I., Hocek M., Votruba, I., Císařová I.: J. Org. Chem. 69, 9224 (2004).

DEALLYLACE ALLYLMALONÁTŮ RHODIOVÝMI KOMPLEXY

**MATYÁŠ TURSKÝ^a, DAVID NEČAS^a, PAVEL
DRABINA^b, MILOŠ SEDLÁK^b, MARTIN KOTORA^{a,c}**

^aKatedra organické a jaderné chemie a Centrum pro nová
antivirotika a antineoplastika, PŘF UK v Praze, Hlavova 8,
128 43 Praha 2; ^bKatedra organické chemie, FCHT,
Univerzita Pardubice, Legii 565, 532 10 Pardubice; ^cÚOCHB
AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
tursky@natur.cuni.cz; katora@natur.cuni.cz

Deallylace allylmalonátů a strukturně blízkých látek je katalyzována řadou komplexů různých přechodných kovů v přítomnosti alkyhlinitých sloučenin. Dosud jsme se zabývali hlavně reaktivitou komplexů niklu a ruthenia.¹

Z předchozích výsledků plyne, že aktivní forma katalyzátoru je hydridový komplex přechodného kovu. Proto jsme se pokusili provést reakci bez alkyhlinitého kokatalyzátoru použitím stabilního [RhH(PPh₃)₄] jak samostatně, tak i v přítomnosti Lewisových kyselin. Jelikož deallylace ani v jednom případě neproběhla, dá se předpokládat, že role alkyhlinitých sloučenin je větší než jen generovat hydrid přechodného kovu.

Dále jsme srovnali selektivitu fosfinových komplexů [RhH(PPh₃)₄] a [RhPPh₃Cl] s novou řadou dusíkatých komplexů [Rh(BIAP)Cl₃] (BIAP = bis(imidazolonyl)pyridin²). Vedle tvorby deallylovaných produktů dochází především u fosfinových komplexů též k hydrogenaci a migraci C=C vazby. Zajímavým vedlejším produktem při deallylaci některých malonátů nesoucích elektronově bohatý substituent R je cyklopentanonový derivát, vzniklý patrně katalytickou hydroaluminací C=C vazby a následnou intramolekulární substitucí jedné ethoxy skupiny.

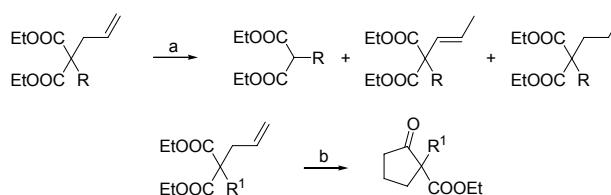


Schéma 1. a) Rh-kat. 5 mol.%, Et₃Al 2 eq., toluen, rt. b) [Rh(PPh₃)₃Cl] 5 mol.%, Et₃Al 2 eq., toluen, rt. R₁ = benzyl, *p*-xylyl, 3-methyl-2-butenyl.

Projekt byl financován z Centra pro nová antivirotika a anti-neoplastika MŠMT (Projekt č. 1M6138896301) a z grantu č. 203/04/0646 GAČR.

LITERATURA

1. Nečas, D., Turský, M., Kotora, M.: J. Am. Chem. Soc. 126, 10222 (2004).
2. Sedlák, M., Drabina, P., Císařová, I., Růžička, A., Hanusek, J., Macháček, V.: Tetrahedron Lett. 45, 7723 (2004).

ZHODNOCENÍ VLIVU ROZPOUŠTĚDLA PŘI AB INITIO VÝPOČTECH SPEKTRÁLNÍCH VLASTNOSTÍ RIGIDNÍCH A FLEXIBILNÍCH METHYLTETROFU- RANOSIDŮ

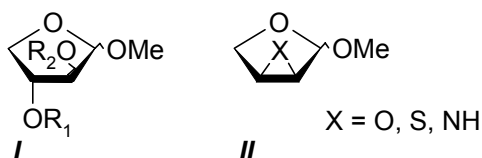
**ŠTĚPÁN VALENTA, IVAN RAICH a JAKUB
KAMINSKÝ**

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
valentas@vscht.cz

Moderní teoretická chemie se stále intenzivněji snaží postihnout vliv rozpouštědla na studovaný systém. V současné době se tento problém řeší dvěma základními způsoby, a to : výpočtem systému s implicitním modelem rozpouštědla nebo výpočtem systému obsahujícího explicitní molekuly rozpouštědla. Hnací silou těchto postupů je snaha o co nejlepší korelaci teoretických výsledků s experimentálními daty (chemické posuny a spin-spinové interakční konstanty v NMR spektrech, IČ frekvence, atd.).

Naším cílem bylo studium rozdílů spektrálních a optických vlastností ve vztahu k použitému modelu rozpouštědla, počínaje molekulou v plynném stavu bez rozpouštědla až po studovanou strukturu, obklopenou několika molekulami rozpouštědla. Modelovými látkami byly různě substituované monocyklické methyltetraofuranosidy **I** a bicyklické methyltetraofuranosidy s tříčlennými heterocyklickými kruhy **II** jakožto příklady flexibilních, resp. rigidních struktur.

Všechny *ab initio* výpočty byly prováděny v programu Gaussian 03W (cit.¹).



Tato studie byla podpořena výzkumným záměrem MŠM č. 6046137305.

LITERATURA

1. Frisch M. J.: Gaussian 03, Revision C.02, Wallingford CT, 2004.

KVANTIFIKACE SLOŽEK SAMČÍHO ZNAČKOVACÍHO FEROMONU ČMELÁKA ZEMNÍHO A JEJICH BIOLOGICKÁ AKTIVITA

**IRENA VALTEROVÁ^a, LUCIE CAHLÍKOVÁ^b,
BLANKA KALINOVÁ^a, JAN ŠOBOTNÍK^a, OLDŘICH
HOVORKA^a a VLADIMÍR PTÁČEK**

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha; ^bÚstav chemie přírodních látek, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha; ^cKatedra srovnávací fyziologie živočichů a obecné zoologie, Přírodovědecká fakulta MU, Kotlářská 2, 611 37 Brno
irena@uochb.cas.cz

Samci čmeláka zemního (*Bombus terrestris*) během námluv hájí svá teritoria (patrolují), přičemž označují tato území feromonem, atraktivním pro samičky stejného druhu. Feromon je produktem cefalické části labiální žlázy. Velmi málo je známo o kvalitativních či kvantitativních změnách ve složení sekretu labiální žlázy v průběhu života samce¹. K tomu

účelu jsme analyzovali extrakty labiálních žláz série samců různého stáří, od právě narozených po 35 dní věku. Současně jsme studovali morfologii žláz pomocí elektronové transmisní mikroskopie a elektrofysiologické odpovědi samičích tykadel na extrakty žláz různě starých samců (EAG) i na jednotlivé složky extraktů (GC-EAD).

Chemické analýzy ukázaly velké rozdíly ve složení extraktů labiálních žláz u různě starých samců. Velmi mladí samci mají ve žláze jen stopy několika látek. Během následujících 2-7 dní narůstá množství sekretu ve žláze o několik řádů. Nejprve se objevují terpenické látky (2,3-dihydrofarnesol, 2,3-dihydrofarnesal a geranylcitronellol). Po nich přibývají v sekretu alifatické složky (ethyl-dodekanoát, hexadekan-1-ol a oktadeka-9,12,15-trien-1-ol). Zhruba u 20-denních samců mizí ze sekretu těžkavější složky a začínají v něm převládat uhlovodíky a vyšší estery.

V EAG testech odpovídala tykadla panenských královen nejvýrazněji na extrakty labiálních žláz 4-denních samců v testované sérii 0, 4, 12, 17, 20 a 35 dní života. GC-EAD měření odhalila 6 výše zmíněných látek jakožto aktivní složky sekretu. Změny v obsahu těchto látek se stářím samců vykazovaly shodný trend s maximem u 7-denních samců.

Transmisní elektronová mikroskopie labiální žlázy potvrdila zjištění, že značkovací feromon je produkován ve žláze pouze v prvních dnech života samce, poté je skladován a postupně používán při každodenním obnovování značek. U 5-denních samců byly pozorovány první odumírající sekretorické buňky a ve žláze 10 dní starých samců již nebyly přítomny žádné živé buňky produkující feromon.

Práce byla provedena za podpory Grantové agentury AV ČR (grant č. A4055403).

LITERATURA

1. Ågren L., Cederberg B., Svensson B.G.: Zoon 7, 1 (1979).

NOVÝ PSEUDOCERAMID 14S24 ÚČINNĚ REGENERUJE POŠKOZENOU KOŽNÍ BARIÉRU

**KATEŘINA VÁVROVÁ^a, ALEXANDR HRABÁLEK^a,
SOPHIE MAC-MARY^b, PATRICE MURET^c a PHILIPPE
HUMBERT^b**

^aKatedra anorganické a organické chemie, Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové, ^bLaboratoire d'Ingénierie et de Biologie Cutanées, a ^cLaboratoire de Pharmacologie Clinique, Besançon, France
katerina.vavrova@faf.cuni.cz

Poškození kožní bariéry s nedostatkem ceramidů bylo popsáno u řady kožních onemocnění, včetně atopické dermatitidy¹ a psoriázy². Topická aplikace ceramidů vede k regeneraci bariérové funkce kůže, snížení průniku alergenů, iritantů a mikrobů a následně k omezení zánětu a infekci.

Pseudoceramid 14S24 byl připraven jednoduchou dvoustupňovou syntézou, od přirozených ceramidů se liší pouze záměnou allylového hydroxyly za esterovou skupinu^{3,4}. 14S24 regeneruje mírné i rozsáhlé poškození kožní bariéry; snižuje permeabilitu pro modelovou látku střední polaritu (stanoveno pomocí dermální mikrodialýzy na lidské kůži),

transepidermální ztrátu vody i hydrataci kůže, a to statisticky významně více než komerčně dostupný přípravek s ceramidem 3. Účinek 14S24 je specifický na poškození spojené s deplecí ceramidů.

Práce byla podpořena Grantovou agenturou České republiky (203/04/P042), Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (407/2004/B-CH/FaF), a Ministerstvem školství ČR (MSM0021620822).

LITERATURA

1. Imokawa G., Abe A., Jin K., Higaki Y., Kawashima M., Hidano A.: *J. Invest. Dermatol.* **96**, 523 (1991).
2. Motta S., Monti M., Sesana S., Caputo R., Carelli S., Ghidoni R.: *Biochim Biophys Acta.* **1182**, 147 (1993).
3. Vávrová K., Zbytovská J., Holas T., Klimentová J., Hrabálek A., Doležal P.: *J. Invest. Dermatol.* **121**, 1261 (2003).
4. Vávrová K., Zbytovská J., Palát K., Holas T., Klimentová J., Hrabálek A., Doležal P.: *Eur. J. Pharm. Sci.* **21**, 581 (2004).

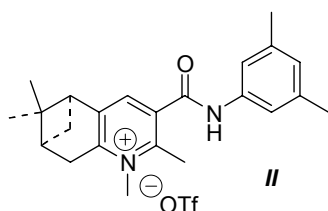
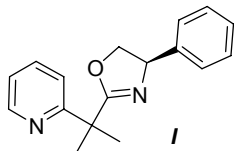
PŘÍPRAVA CHIRÁLNÍCH REDOXNÍCH ČINIDEL S PYRIDINOVÝM MOTIVEM

KVETOSLAVA VRANKOVÁ^a, DAVID BIEDERMANN^a, JAN ŠAREK^a, ANDREI MALKOV^b a PAVEL KOČOVSKÝ^b

^aUniverzita Karlova v Praze, Katedra organické a jaderné chemie, Hlavova 8, Praha 2, 128 43; ^bUniversity of Glasgow, Department of chemistry, Glasgow G12 8QQ, Scotland, UK david.biedermann@gmail.com; P.Kocovsky@chem.gla.ac.uk

Chirální dihydropyridiny nikotinamidového typu jakožto asymetrická redukční činidla jsou známé již dlouhou dobu^{1,2}. Bipyridinové a bis(oxazolinové) ligandy komplexované s měďnými solemi³ katalyzují asymetrické oxidace cyklopentenového, cyklohexenového a cykloheptenového kruhu za přítomnosti peroxybenzoátu.

V této práci byly zkoumány jednak syntézy nových ligandů pro asymetrickou allylovou oxidaci na bázi 2-(1-methyl-1-oxazol-2-yl-ethyl)-pyridinu, jednak činidla pro asymetrickou redukci ketonů na bázi chirálního dihydropyridinu.



Kombinaci pyridinového strukturálního motivu s oxazolinem⁴ reprezentuje sloučenina typu **I**. Z dobře

dostupného chirálního prekurzoru - α -pinenu byla syntetizována látka **II**.

LITERATURA

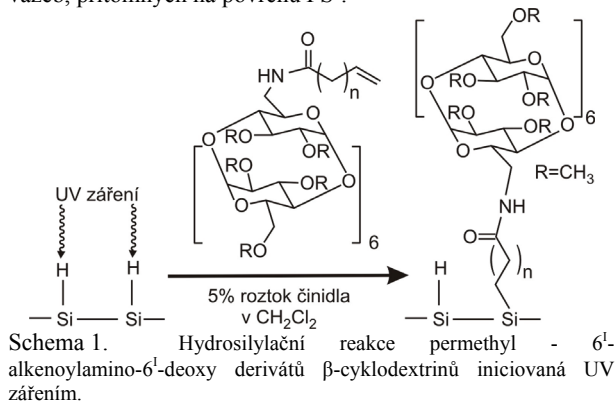
1. Vasse J. L., Levacher V., Bourguignon J., Dupas G.: *Tetrahedron* **59**, 4911 (2003).
2. Kanomata N., Nakata T.: *Angew. Chem.* **36**, 1207 (1997).
3. Brunner H., Störiko R., Nuber B.: *Tetrahedron: Asymmetry* **9**, 407, (1998).
4. Zhu Y.-Z., Li Z.-P., Ma J.-A., Tang F.-Y., Kang L., Zhou Q.-L., Chan A. S. C.: *Tetrahedron: Asymmetry* **13**, 161 (2002).

MODIFIKACE FOTOLUMINISCENČNÍ SENZOROVÉ ODEZVY PORÉZNÍHO KŘEMÍKU PERMETHYL - 6¹-ALKENOYLAMINO-6¹-DEOXY DERIVÁTY β -CYKLODEXTRINU

VLADIMÍR VRKOSLAV^a, TOMÁŠ TROJAN^b, JINDŘICH JINDŘICH^b, JURAJ DIAN^c a IVAN JELÍNEK^a

^aKatedra analytické chemie a ^bKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2; ^cKatedra chemické fyziky a optiky, Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Ke karlovu 3, 121 16, Praha 2 ijelinek@natur.cuni.cz

Porézní křemík (PS) je nanostrukturální porézní materiál poskytující výraznou fotoluminiscenci ve viditelné oblasti spektra¹. Na velkém povrchu PS dochází k adsorpci par chemických látek, které mění intenzitu fotoluminiscence, čehož lze využít pro konstrukci chemických senzorů. Pro zlepšení operační stability a modifikaci senzorové odezvy (zvýšení selektivity) se využívá hydrosilylačních reakcí Si-H vazeb, přítomných na povrchu PS².



V této práci byla sledována změna senzorové odezvy PS po modifikaci deriváty cyklohextriny. Cyklohextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy. Významnou vlastností CD a jejich derivátů je schopnost tvořit inkluzní komplexy s organickými molekulami. Vzhledem k jejich selektivním komplexačním schopnostem je možno CD deriváty použít jako rozpoznávací element chemosenzoru.

Projekt je podporován grantem GAUK 424/2004/B-CH/PřF.

LITERATURA

1. Canham L.T.: *Apl. Phys. Lett.* 57, 1046 (1990).
2. Stewart M.P., Buriak J.M.: *J. Am. Chem. Soc.* 123, 7821 (2001).

IMINO-C-GLYKOSIDY: ALDOLOVÁ REAKCE 3-O-MESYERYTHROSY S METHYLKETONY

LUKÁŠ WERNER, LADISLAV KNIEŽO a KAMIL PARKAN

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6
lukas.werner@vscht.cz

Polyhydroxylované piperidiny (iminosacharidy) často účinkují jako inhibitory glykosidáz a glykosyltransferáz. Inhibiční účinek je dán přítomností endocyklického dusíku, který může být při fyziologickém pH protonován. Vzniklý kation tak napodobuje tranzitní stav řady glykosylačních reakcí, které se například podílejí na syntéze povrchových receptorů buněk. Iminosacharidy však *in vivo* ovlivňují celou řadu enzymů, a to je zatím diskvalifikuje pro širší terapeutické využití. Modifikace těchto struktur vedoucí ke zvýšení selektivity inhibičních účinků by mohla vést k látkám potenciálně využitelným v terapii řady chorob.

V posledních letech byly publikovány stovky syntéz derivátů iminosacharidů. Často je spojuje velký počet reakčních kroků, značná experimentální náročnost či nízké výtěžky. Problémem někdy také bývá nemožnost připravit více než jeden, dva diastereoizomery, protože postupy jsou nezhřídka vázané na konkrétní diastereoizomer výchozí látky. V poslední době jsou proto snahy o vypracování relativně univerzálních syntéz umožňující připravit širší spektrum derivátů.

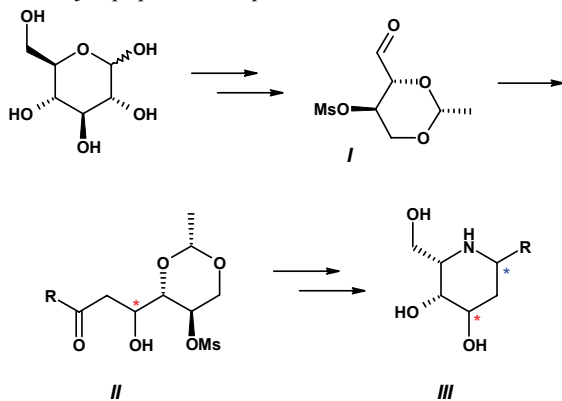


Schéma 1

Předmětem příspěvku je syntéza založená na stereoselektivní cross-aldolové reakci nově připravené 2,4-ethyliden-3-O-mesyloxy-D-erythrosy **I** (Schéma 1) se dvěma methylketony a následná transformace produktů **II** na deriváty substituovaných piperidinů **III**.

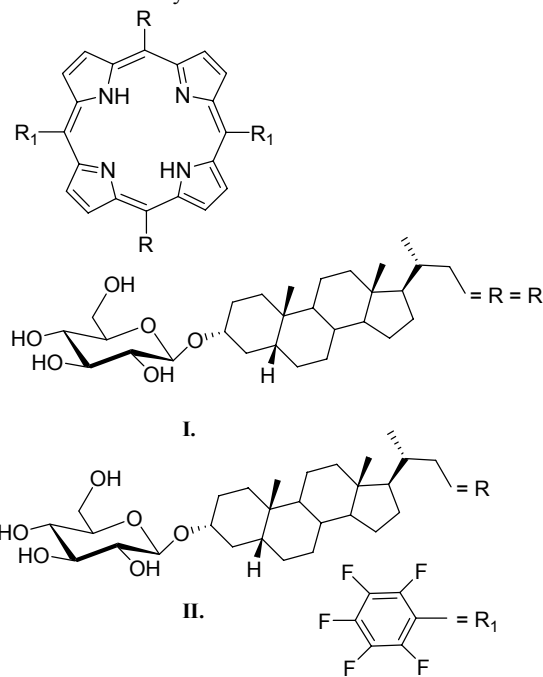
Tato práce byla podporována GA ČR, v rámci grantu č. GA 203/03/049 a výzkumným záměrem MSM 6046137305.

SYNTEZA GLYKOSYLOVANÝCH PORFYRINOVÝCH RECEPTORŮ TYPU A₂B₂ A A₄

**KAREL ZELENKA^a, TOMÁŠ TRNKA^a
a PAVEL DRAŠAR^{b,c}**

^aKatedra organické chemie, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2; ^bÚOCHB AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6; ^cVŠCHT Praha, 166 28 Praha 6, zeli1@post.cz

Cílem práce byla příprava *meso*-substituovaných porfyrinových receptorů (**I**, **II**). V poslední době byly připraveny *meso*-substituované porfyriny¹ se zajímavými vlastnostmi^{2,3}. Tyto supramolekuly a supramolekulární synthony jsou používány v elektrochemii⁴, pro membránové, samoskladné a biologické studie. Autoři chtěli demonstrovat možnosti kombinace již známých receptorů se sacharidy, které mohou sloužit jako „polární kotvy“. Jejich vlastnosti jsou předmětem dalšího výzkumu.



Práce byla podporována projekty MSM 1131 00001, MSM 6046137305 a IP04OCD31.001.

LITERATURA

1. Zelenka K., Trnka T., Tislerova I., Kral V., Dukh M., Drašar P.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 69, 1149 (2004).
2. Dukh M., Černý I., Urbanský M., Pouzar V., Král V., Drašar P.: *Czech Pat.* 290491, *Czech Appl.* 3098 (1999).
3. Dukh M., Šaman D., Lang K., Pouzar V., Černý I., Drašar P., Král V.: *Org. Biomol. Chem.* 1, 3458 (2003).
4. Dukh M., Černý I., Pouzar V., Král V., Berek J., Drašar P., in: *US-CZ Workshop on Electrochemical Sensors*, Abstract Book, p. 5, Czech Chemical Society, Prague, 2001.

Rejstřík autorů:

Adamec, Jan	829	Hradil, Pavel	843
Alexandrová, Zuzana	829, 867	Hrdina, Radim	844
Andronova, Angelina	829	Hrubý, Martin	844, 854
Baszczyński, Ondřej	830, 855	Hulová, Dagmar	838
Beckert, Rainer	829	Humbert, Philippe	874
Bělohradský, Martin	866	Hybelbauerová, Simona	845
Beran, Antonín	830	Chodounská, Hana	870
Bezouška, Karel	870	Churáčková, Zdeňka	838
Biedermann, David	875	Imramovský, Aleš	845, 846
Böhm, Stanislav	859	Jampílek, Josef	845, 846
Božoň, Michal	831	Janková, Štěpánka	846
Braunerová, Gabriela	862	Janssen, Dick B.	864
Bříza, Tomáš	841, 842, 849	Jelínek, Ivan	875
Buchta, Vladimír	857, 863	Jeřábek, Petr	864
Bureš, Filip	872	Jindřich, Jindřich	830, 847, 865, 869, 875
Cahlíková, Lucie	874	Jiroš, Pavel	843, 852
Cibulka, Radek	832, 871	Joštová, Petra	871
Círka, Vladimír	865	Jun, Daniel	860
Císařová, Ivana	842, 855, 866	Kaleta, Jiří	847
Cvačka, Josef	852	Kalinová, Blanka	843, 874
Čajan, Michal	859	Kaminský, Jakub	865, 873
Černý, Josef	832	Kaplánek, Robert	841, 842, 849
Damborský, Jiří	864	Karban, Jindřich	848
Dian, Juraj	875	Káš, Martin	831, 848
Dohnal, Jiří	846	Kaustová, Jarmila	829, 859, 862
Dolenský, Bohumil	841, 842, 849	Keder, Roman	849
Doležal, Martin	860, 863	Kejik, Zdeněk	841, 842, 849
Doležal, Rafael	833	Kindl, Jiří	852
Dostálová, Anna	849	Klán, Petr	849
Drabina, Pavel	834, 873	Klejduš, Bořivoj	857
Dražinský, Martin	834, 845	Klimešová, Věra	829
Drašar, Lukáš	835	Kmoníčková, Eva	839
Drašar, Pavel	876	Kníže, Ladislav	850, 876
Dvořák, Dalimil	835, 854, 862, 872	Koblovská, Radka	856, 857
Dvořáková, Hana	868	Kočovský, Pavel	875
Dvořáková, Marcela	836	Kohout, Michal	851
Emelin, Evghenija	862	Koňák, Čestmír	844
Etrych, Tomáš	854	Kotora, Martin	842, 844, 846, 861, 873
Fáková, Helena	868	Kovářová, Anna	851
Fikr, Jaroslav	837	Kozmík, Václav	851
Frei, Eva	870	Krafková, Edita	852
Frišonsová, K.	858	Krakovičová, Hana	856
Fryšová, Iveta	837	Král, Vladimír	841, 842, 849
Glogarová, Milada	851	Kralová, Jarmila	849
Grafnetterová, Taťjana	846	Kratochvíl, Bohumil	852
Grycová, Lenka	838	Kroupa, Jan	853
Habartová, Věra	838	Kroutil, Jiří	848, 854
Hajdúch, M.	853, 858	Krouželka, Jan	856
Hájek, Milan	865	Krupička, Martin	859
Hájíček, Josef	838	Křesinová, Z.	853
Hápl, František	871	Křováček, Martin	854
Hanusek, Jiří	831, 849	Kubicová, Lenka	833, 857
Harmatha, Juraj	839, 840	Kuča, Kamil	860
Havlík, Martin	841, 842, 849	Kučka, Jan	854
Hejtmánková, Ludmila	831	Kuneš, Jiří	864
Herrmann, Pavel	842	Kvasnica, M.	853, 855
Hlaváč, Jan	843	Kvasnica, Miroslav	858
Hocek, Michal	861, 873	Kvíčala, Jaroslav	830, 855, 863, 869
Holý, Petr	842, 866	Lafont, René	840
Horníček, Jan	865	Lang, Kamil	831, 853
Hoskovec, Michal	843	Lapčík, Oldřich	856, 857
Hovorka, Oldřich	852, 874	Ledvina, Miroslav	835
Hrabálek, Alexandr	862, 874	Lhoták, Pavel	831, 848, 853, 868

Linhart, Igor	856	Skála, Pavel	849
Liška, František	871	Skalický, Martin	869
Literák, Jaromír	849	Sklenář, Jan	870
Lyčka, Antonín	837	Sládková, Marta	869
Macková, Zuzana	856, 857	Slouka, Jan	837
Mac-Mary, Sophie	874	Smrček, Jakub	869
Macháček, Miloš	857	Smrček, Stanislav	838
Machara, Aleš	858	Standara, Stanislav	838
Malkov, Andrei	875	Stará, Irena G.	829, 860, 867
Marek, Radek	838	Starý, Ivo	829, 860, 867
Marková, L.	858	Stibor, Ivan	848, 853, 868
Martásek, Pavel	841, 842, 849	Stiborová, Marie	870
Martínek, Václav	870	Svatoš, Aleš	871
Martinová, B.	853	Svoboda, Jiří	851, 858
Matyk, Josef	859	Svobodová, Eva	871
Mazal, Ctibor	847, 859	Szotkowski, Tomáš	872
Medňanský, Marián	863	Šaman, David	829, 860, 867
Melša, Petr	859	Šarek, J.	853, 858
Miletín, Miroslav	862	Šarek, Jan	855, 875
Míšek, Jiří	860	Šenel, Petr	868
Morávek, Jiří	853	Šigut, Kryštof	869
Mozga, Tomáš	864	Šimánová, Markéta	868
Muret, Patrice	874	Šmidrkal, Jan	839
Mušílek, Kamil	860	Šnajdr, Ivan	864
Nagata, Yuji	864	Šobotník, Jan	874
Nečas, David	861, 873	Šťastná, Eva	870
Nešněrová, Petra	871	Štěpánek, Petr	850
Novák, Jan	856	Šulc, Miroslav	870
Novák, Petr	861	Šustr, Martin	857
Novotná, Vladimíra	851	Tauer, Klaus	867
Novotný, Jakub	862	Teplý, Filip	860
Padevět, Jaroslav	862	Tichý, Miloš	842
Palát, Karel	862	Tišlerová, Iva	855, 865
Paleček, Jiří	863	Tobman, Tomáš	872
Palek, Lukáš	863	Trávníček, Zdeněk	872
Paleta, Oldřich	863	Trnka, Tomáš	876
Parkan, Kamil	876	Trojan, Tomáš	847, 875
Pavlík, Jan	864	Turek, Pavel	861, 873
Pichová, Iva	871	Turský, Matyáš	873
Plišíl, Lukáš	849	Ulbrich, Karel	844, 854
Pojarová, Michaela	868	Valenta, Štěpán	863, 873
Polanc, Slovenko	845	Valterová, Irena	836, 852, 871, 874
Pospíšil, Tomáš	849	Vaněk, Tomáš	836
Pour, Milan	864, 868	Vávrová, Kateřina	862, 874
Prokop, Zbyněk	864	Vích, Ondřej	850
Pšondrová, Šárka	838	Vinšová, Jarmila	845, 846
Ptáček, Vladimír	874	Vítková, Michaela	856, 857
Pytela, Oldřich	872	Vlk, M.	858
Rádl, Stanislav	832	Vlková, Leona	865
Raich, Ivan	865, 873	Voltrová, Svatava	859, 869
Relich, Stanislav	865	Vranková, Kvetoslava	875
Rybáček, Jiří	866	Vrkoslav, Vladimír	875
Rybáčková, Markéta	866	Waisser, Karel	829, 833, 859
Řezanka, Michal	865	Weiβ, Dieter	829
Sato, Yukari	864	Wen, Xiujun	843
Sedlák, Miloš	831, 834, 849, 867, 873	Werner, Lukáš	876
Sehnal, Petr	829, 867	Závada, Jiří	842, 866
Sejbal, Jan	834, 845, 855	Zelenka, Karel	876
Sendá, Toshiya	864	Zídek, Zdeněk	839
Silva, Luís	857	Žďárek, Jan	843



Česká společnost chemická
Sekretariát a redakce Chemických listů
Novotného lávka 5
116 68 Praha 1
tel./fax: 222 220 184, redakce tel. 222 221 778
e-mail: chem.spol@csvts.cz
<http://www.csch.cz>

Proč se stát členem České společnosti chemické

Zapojení v České společnosti chemické, členu Asociace českých chemických společností, přináší individuálním chemikům kromě vlastního členství v největší a nejstarší profesní organizaci chemiků:

- celosvětově uznávanou příslušnost k jedné z nejstarších profesních organizací v chemii na světě,
- možnost zapojení se do práce a komunikace v jedné z místních či odborných poboček ČSCH,
- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění...
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCH,
- možnost dostávat 4× ročně zdarma tzv. „bulletinové číslo“ Chemických listů,
- možnost objednání předplatného Chemických listů s významnými slevami,
- možnost objednání „osobního balíku předplatného“ Chemických listů a časopisů konsorcia EUChemSoc,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě, informace o dění v evropských chemických strukturách
- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu Eurchem, platného v celé EC,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EC3 a FECS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCH,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- vedle individuálního členství je možné kolektivní členství firem,
- a řadu dalších služeb.

Jak se stát členem ČSCH

Členská přihláška je k dispozici na internetových stránkách ČSCH nebo na sekretariátu ČSCH. Členství je přístupné pro všechny zájemce o chemii a přijetí nového člena doporučí dva členové ČSCH (doporučení je možné nahradit odborných životopisem), členství nabývá platnosti po schválení hlavním výborem ČSCH.

Výši členských příspěvků a možné slevy schvaluje na návrh předsednictva hlavní výbor ČSCH.

OBSAH		CONTENTS	
ÚVODNÍK	771	EDITORIAL	771
REFERÁTY		REVIEW ARTICLES	
Biosyntéza, sekrece a degradace insulinu	772	Biosynthesis, Secretion and Degradation of Insulin	772
L. Žáková a J. Jiráček		L. Žáková and J. Jiráček	
Biochemické a toxikologické aspekty etiologie balkánské endemické nefropatie	782	Biochemistry and Toxicological Aspects of Etiology of Balkan Endemic Nephropathy	782
M. Stiborová, J. Patočka, E. Frei a H. H. Schmeiser		M. Stiborová, J. Patočka, E. Frei, and H. H. Schmeiser	
Súčasný stav a perspektívy využitia rýchlej plynovej chromatografie v kombinácii s hmotnostnou spektrometriou	789	Present State and Perspectives of Fast GC-MS Application	789
M. Kirchner a E. Matisová		M. Kirchner and E. Matisová	
Přírodní barevné látky	802	Natural Colorants	802
J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová a P. Drašar		J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová, and P. Drašar	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY		LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Stanovení kyseliny adipové v průběhu její polykondenzace s 1,4-diaminobutanem	817	Determination of Adipic Acid in the Course of its Polycondensation with Butane-1,4-diamine	817
Z. Hroch a I. Prokopová		Z. Hroch and I. Prokopová	
Využití infračervené spektroskopie při sledování kvality kakaového prášku	821	Application of Infrared Spectroscopy in Cocoa Powder Quality Monitoring	821
A. Trilčová, J. Čopíková, M. A. Coimbra, A. S. Barros, H. Křístková, L. Egert a A. Synytsya		A. Trilčová, J. Čopíková, M. A. Coimbra, A. S. Barros, H. Křístková, L. Egert, and A. Synytsya	
NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE	825	NOMENCLATURE AND TERMINOLOGY	825
LIBLICE 2005	827	LIBLICE 2005	827

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 99 (2005), čís./no. 11 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 129, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 115 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTORI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hettflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHraničNí A OBLASTNí REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvička (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNí RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNí PŘÍSPĚVKŮ/ MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNĚM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; t el/fax +420 222 220 184, e-mail: mblahova@csvts.cz, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: http://chemicke-listy.vscht.cz • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2005 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plné předplatné 2005 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2005 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Dáno do tisku 2.11.2005.