

Chytrý glukán

Jako β -glukany jsou označovány polymery glukosy, ve kterých je glukosa vázána vazbami nejčastěji v poloze 1,3 nebo 1,6, a v přírodě se vyskytují v nejrůznějších organismech a formách. Zájem o tyto polysacharidy je dán jejich pozitivním účinkem na obranyschopnost organismu. Historie užívání polysacharidů coby imunomodulátorů je dlouhá, první pokusy využívaly tzv. Shearův polysacharid již před více než 60 lety. Zájem potom na čas opadl a objevil se znovu až v šedesátých letech v souvislosti s příkazem účinku zymosanu (což je hrubý extrakt buněčných stěn kvasinek) na aktivaci komplementového systému. Od osmdesátých let pak prudce vzrostl zájem vědců z celého světa o β -glukan, zejména díky tomu, že glukany začaly být dostupné (jak laboratorně tak i komerčně) v rozpustné podobě.

Primární zdroje β -glukanů pro imunomodulační studie jsou kvasinky (zejména v Evropě a USA), nejrůznější houby (zejména Japonsko, Čína a Rusko), obiloviny (Kanada) a mořské řasy (Francie). Důvody jsou víceméně tradiční, částečně dané větší dostupností jednotlivých zdrojů. Jednotlivé β -glukany se významně liší v konfiguraci, větvení, molekulové hmotnosti, rozpustnosti a trojrozměrné struktuře a všechny tyto rozdíly se výrazně odrážejí v jejich biologických vlastnostech.

Studie biologických vlastností β -glukanů se nejdříve zaměřily na infekční imunitu a později na oblast léčení rakoviny. Po úspěšných výsledcích byly v polovině osmdesátých let v Japonsku povoleny dva typy β -glukanů, Lentinan (pochází z houby *Lentinus edodes*) a Schizophyllan (z *Schizophyllum commune*), coby podpůrná léčba při léčbě některých typů zhoubných nádorů.

O imunoaktivním působení β -glukanů existuje v současné literatuře více než 1500 často velmi kvalitních publikací. Stimulační účinky nejrůznějších β -glukanů byly popsány již u evolučně primitivních *Arthropoda*, kde se jedná o aktivaci srážecích kaskád. Prostřednictvím proteolytického štěpení serinovými proteínasami vzniká gelovitá sraženina, která zabráňuje dalšímu pohybu invadujících mikroorganismů. Principiálně odlišný, nicméně podobně účinný efekt β -glukanu byl prokázán i u koryšů, kde protein, který váže glukán, aktivuje fenoloxidasu. Další studie prokázaly stimulaci imunitních reakcí u žižal, ryb, kuřat, myši, krysy, králíků, morčat, prasat, ovcí, koní a krav, takže je β -glukan považován za jednu z mála látek, které jsou účinné v celém spektru živočišných druhů. β -Glukan je pravděpodobně také evolučně velice starý imunostimulans a některé práce dokazují i aktivaci obranných mechanismů rostlin.

Poslední desetiletí také pomohlo odhalit otázku, jak vlastně β -glukany fungují. Na membráně buněk savců sice existuje několik receptorů, se kterými β -glukany interagují, ale pravděpodobně nejdůležitější je receptor pro třetí složku komplementu (CR3, CD18/CD11b). Po vazbě β -glukanu na tento receptor dochází k jeho aktivaci, která vede k degranulaci buněk, a tím uvolnění bakteriolytických a bakteriostatických molekul. K tomu však dochází pouze v případech, že se na část tohoto receptoru naváže C3, přítomná například na bakteriích nebo nádorových buňkách. Přítomnost β -glukanu je přítom nezbytná, neboť jeho vazba je pro aktivaci buněk nutná.

Otázkou proto zůstává, jak je možné, že β -glukan již dávno nepatří mezi oblíbené léky. Důvodů je hned několik. Počet individuálních glukánů je prakticky stejně velký jako je počet zdrojů použitých k jejich izolaci. I při snaze zajistit stejné výrobní podmínky není prakticky možné zaručit u odlišných izolátů stejné vlastnosti. To je v příkrém rozporu s regulačními předpisy moderního farmaceutického průmyslu. Dále potom snahy o porovnání biochemických a fyzikálně-chemických vlastností se schopnostmi ovlivňovat obranné reakce organismu většinou dospěly k rozporným výsledkům. Většinou se uvádí, že biologicky neúčinnější jsou β -1,3-glukany o molekulové hmotnosti v rozpětí 5 až 10 000 kD a s relativně nečetným větvením v poloze 1,6. Dlouho se předpokládalo, že biologická aktivita závisí také na zdroji. Například obilné glukany byly často neúčinné a teprve v poslední době se zdá, že se jednalo spíše o nedokonale přečištěné glukany. Poslední studie využívající až 99% preparáty našly aktivitu plně srovnatelnou s glukany pocházejícími z kvasinek. K problémům použití β -glukanů přispěly také často neseriózní reklamní kampaně, povětšinou na internetové úrovni, které vydávají β -glukany za něco na úrovni všeléku léčícího všechno od úbytku vlasů přes rakovinu až po impotenci. Navíc často není v preparátu prakticky žádný glukán, o tom, že by firma své produkty nějak testovala, ani nemluvě. Není proto divu, že se farmaceutické firmy do nákupu licencí příliš nehrnou.

Je to škoda, β -glukanů se totiž pomalu, dalo by se říci plíživě, chopily čiperné firmy využívající nezáměrně farmaceutických gigantů, a nabídly β -glukany pro účely zvýšení obranyschopnosti komerčně chovaných zvířat. Bez většího zájmu veřejnosti jsou dnes β -glukany obsaženy v krmivu pro více než 80 % všech komerčně chovaných lososů a několik norských firem vyrábí a úspěšně prodává svůj β -glukan po tunách.

Poslední dva roky se dočkaly i průkazů stimulace imunitních mechanismů pomocí synteticky připravených oligosacharidů se strukturou podobnou či odvozenou od β -glukanů. To by mohlo být pro farmaceutické firmy zajímavější, nežli pracně bojovat s izolacemi glukanu z přírodních materiálů, navíc každá z nich má zcela jistě patentovány stovky a tisíce sacharidů, o jejichž biologických vlastnostech nemají ani potuchy. Syntéza glukánů ale naráží na značné obtíže a zatím je ekonomicky nevýhodná, zvláště u delších sacharidových řetězců.

Malé firmy si stále proměřují obsah glukanu v preparátu testem s kyselinou sírovou a počet laboratorní schopných a ochotných za poplatek otestovat, jaký to sacharid vlastně v prášku nebo roztoku je, můžeme spočítat na jedné ruce. Když si k tomu připočítáme, že jen ve Spojených státech existuje minimálně 300 firem prodávajících nějaký glukán a v mnohem menších Čechách vím sám nejméně o čtyřech, možnost hospodářských smluv by tu jistě byla i pro nějakou českou laboratoř.

β -Glukany se pravděpodobně nikdy nestanou nějakou záračnou pilulkou, která zbaví lidstvo všech chorob, na druhé straně je ale možné, že díky šarlatánství několika odmitáme produkt, který může pomoci mnoha.

Václav Větička

ORGANICKE FOSFAZENOVE BAZY A ICH VYUZITIE V ORGANICKEJ CHEMII

OLDŘICH ŠEDÝ^{a,b}, ARLETTE SOLLADIÉ-CAVALLO^b, MARTA SALIŠOVÁ^a
a ANDREJ BOHÁČ^a

^a Katedra organickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovensko. ^b Département de Chimie Organique Fine, ECPM, Université Louis Pasteur, 67 087 Strasbourg, France
salisova@fns.uniba.sk, cavallo@chimie.u-strasbg.fr

Došlo 10.2.04, prijaté 1.4.04.

Kľúčové slová: fosfazénové bázy, amino – iminofosforany, Schwesingerove bázy

Obsah

1. Vlastnosti fosfazénových báz
2. Bázicita fosfazénových báz
3. Využitie fosfazénových báz v stereoselektívnej syntéze
4. Príprava fosfazénových báz

Organické neiónové bázy zohrávajú dôležitú úlohu v organickej syntéze. Vďaka nim sa dajú mnohé reakcie uskutočniť pri miernejších podmienkach. Je to umožnené na jednej strane zvýšením reaktivity nimi generovaných aniónov (vznik „holých“ aniónov alebo tesných iónových párov) a na druhej strane ich lepšou rozpustnosťou v organických rozpúšťadlách. Tieto vlastnosti dávajú možnosť pracovať pri nízkych teplotách, čím sa minimalizujú vedľajšie reakcie. Tento fakt je zvlášť dôležitý v stereoselektívnej syntéze, kde sa často znížením teploty dosiahne vyššia selektivita.

Medzi organické bázy patria zvyčajne dusíkaté látky typu DBU (1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-én, cit.¹), DBN (1,5-diazabicyklo[4.3.0]non-5-én, cit.²), TBD (1,5,7-triazabicyklo[4.4.0]dec-5-én, cit.⁵), MTBD (7-metyl-1,5,7-tri-

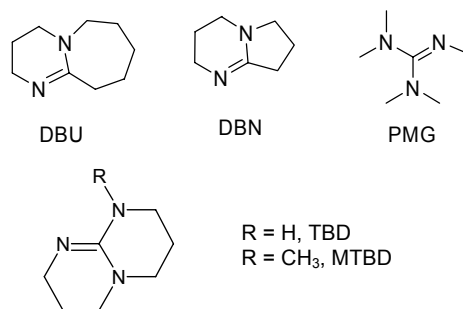


Schéma 1

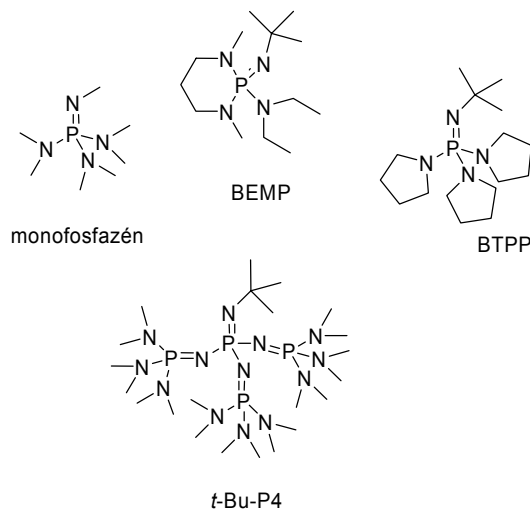


Schéma 2

azabicyklo[4.4.0]dec-5-én) a PMG (pentametylguanidín, cit.³⁻⁵) (schéma 1).

Zmenou štruktúry molekuly sa autori snažili ovplyvniť ich bázicitu a ďalšie chemické vlastnosti. Nepodarilo sa však pripraviť také bázy, ktoré by mohli svojou silou konkurovať iónovým bázam ako LDA (lítium-diizopropylamid), LHMSD (lítium-bis(trimetylsilylamid)), BuLi (butyllítium) a pod.

Toto sa dosiahlo až objavením bázičkých vlastností amino-substituovaných iminofosforánov (monofosfazénov) Schwesingerom^{3,4,6-9} v 80. rokoch minulého storočia. Odtedy sa začala používať nová skupina organických dusíkatých fosfazénových báz, napr.: BEMP (2-(*tert*-butylimino)-2-(diethylamino)-1,3-dimetyl-1,3,2λ⁵-diazafosforinán), BTTP (*tert*-butylimino)tripyrrolidin-1-yl-λ⁵-fosfan), *t*-Bu-P4 (3-(*tert*-butylimino)-1,1,1,5,5,5-hexakis(dimethylamino)-3-[[tris(dimethylamino)-λ⁵-fosfanylidén]amino]-1λ⁵,3λ⁵,5λ⁵-1,4-trifosfaza-1,4-dién) a pod. (schéma 2).

Už aj najjednoduchší monofosfazén je silnejšou bázou ako DBU a *t*-Bu-P4 sa bázicitou vyrovná bežným, kovom asociovaným (resp. iónovým) amidickým bázam⁹.

1. Vlastnosti fosfazénových báz

Fosfazénové bázy majú vo svojej štruktúre dvojité väzby medzi dusíkom a atómom fosforu. Röntgenovou štruktúrnou analýzou kryštálov sa potvrdilo, že je to práve atóm dusíka P=N väzby, na ktorý sa naviaže protón pri acidobázičkej reakcii (schéma 3).

Za zvýšenú silu bázičkých vlastností týchto látok je zodpovedná predovšetkým možnosť dobrej delokalizácie

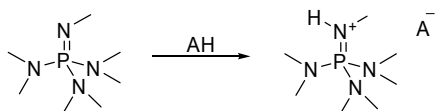


Schéma 3

kladného náboja v konjugovanej kyseline (protonovanej báze). Na delokalizácii sa zúčastňuje každý heteroatóm. Pre najjednoduchšiu konjugovanú bázu sa dajú napísať tieto mezomérne štruktúry (schéma 4):

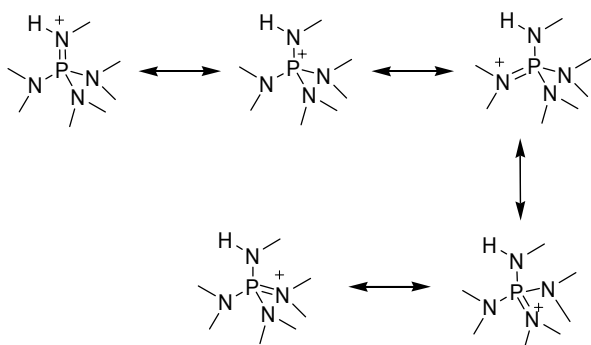
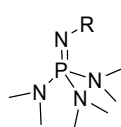
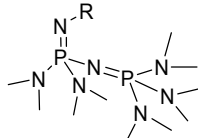


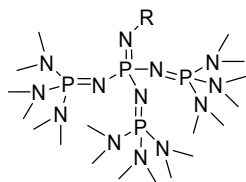
Schéma 4



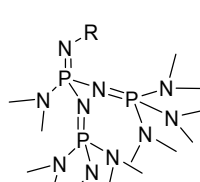
Alkyl - P1



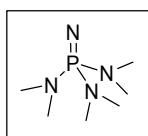
Alkyl - P2



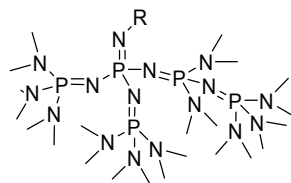
Alkyl - P4



Alkyl - P3



Fragment bázy



Alkyl - P5

Schéma 5

Tabuľka I

Hodnoty pK_{BH^+} niektorých fosfazénových báz

Báza	pK_{BH^+} v CH_3CN	pK_{BH^+} v DMSO
Et_3N	18,5	9,0
DBU	24,33	13,9
<i>t</i> -Bu-P1	26,88	15,7
BEMP	27,56	–
Et-P2	32,94	21,1
LDA	35,7 (v THF) ^a	–
<i>t</i> -Bu-P3	38,6	–
<i>t</i> -Bu-P4	42,7	30,2
<i>t</i> -Bu-P5	45,3	>32

^a lit.²⁹

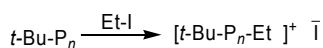
Schwesinger a spol. pripravili ďalšie deriváty fosfazénových báz s cieľom zvýšiť ich bázičné vlastnosti. Nahradili preto dimetylamino skupiny za amino-imino-fosforánové fragmenty, čím je umožnená ešte lepšia delokalizácia kladného náboja. Podľa počtu týchto fragmentov sa jednotlivé bázy zaraďujú do skupín P1–P5 (schéma 5). Od zlúčenín typu P3 je možnosť vzniku izomérnych štruktúr – podobne ako v chémii uhlíkovodíkov (s lineárnymi a rozvetvenými reťazcami)⁹.

2. Bázičita fosfazénových báz

Ako sa predpokladalo, s ďalším iminotriamino-fosforánovým fragmentom v molekule bázy sa zvyšuje jej bázičita v poradí od P1 k P5. Štúdiom ich vlastností v acetonitrile a v DMSO sa podarilo zostaviť rebríček ich bázičnosti (tabuľka I).

Je zrejme, že bázičita značne stúpa v rade od P1 k P5 (cit.⁹). Fruchard a spol.¹⁰ a Solladié-Cavallo a spol.¹¹ vo svojich prácach deklarujú, že pri reakcii esterov kyseliny fenyloctovej (aj zakotvenej na pevný nosič¹²) vzniká pri použití *t*-Bu-P4 ako bázy veľmi reaktívny „holý“ enolát, alebo tesný iónový pár, ktorý je oveľa reaktívnejší ako odpovedajúci lítový enolát. Navyše, ak je ester chirálny, následná reakcia prebieha so zvýšenou stereoselektivitou.

Zmenou štruktúry fosfazénov je teda možné meniť ich bázičné vlastnosti v závislosti od toho, aký kyslý vodík potrebujeme odtrhnúť. To umožňuje selektívnejšiu



<i>n</i>	2	3	4
Alkylácia (%)	29	19	3

Schéma 6

deprotonáciu a taktiež minimalizuje priebeh vedľajších reakcií.

Schwesinger a spol. študovali aj správanie sa týchto báz v prítomnosti niektorých alkylačných činidiel⁹. Zistili, že okrem P1 báz sú ostatné fosfazénové bázy len slabé nukleofily (schéma 6).

Ďalšou výhodou týchto zlúčenín je, že sú pomerne odolné voči hydrolyze a sú dobre rozpustné v bežných organických rozpúšťadlách už pri teplote miestnosti. Rovnako treba spomenúť, že väčšina fosfazénových báz sú látky silne hygroskopické.

3. Využitie fosfazénových báz v stereo-selektívnej syntéze

Jednou z prvých prác, kde sa využívajú vlastnosti fosfazénových báz, je napr. stereoselektívna alkylácia dioxanónov, syntetických ekvivalentov β -hydroxyesterov¹³. Zatiaľ čo benzylácia dioxanónu za klasických bázických podmienok neprebíhala, použitím fosfazénovej bázy *t*-Bu-P4 sa získal benzylovaný produkt v priemernom výťažku (50%), v dobrom diastereomernom pomere (91:9) (schéma 7).

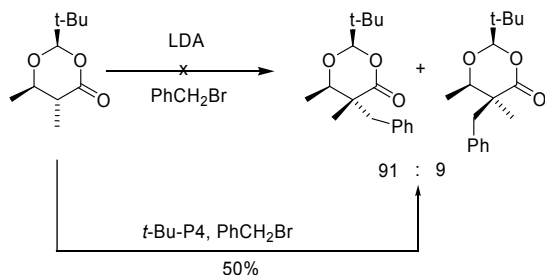


Schéma 7

S ďalšími alkylačnými činidlami prebiehali reakcie taktiež v prítomnosti fosfazénových báz lepšie.

Seebach a spol. dosiahli zaujímavé výsledky aj pri alkyláciách cyklických peptidov s *t*-Bu-P4 (cit.¹⁴). Reakcia prebiehala nielen regioselektívne, ale aj s výbornou diastereoselektivitou za vzniku iba jedného diastereoméru. Za týchto podmienok dochádzalo aj k alkylácii amidických dusíkov (schéma 8).

Použitím *t*-Bu-P4 sa podarilo uskutočniť aj alkylácie episulfónov¹⁵ (nestabilné a ťažko izolovateľné látky), kým

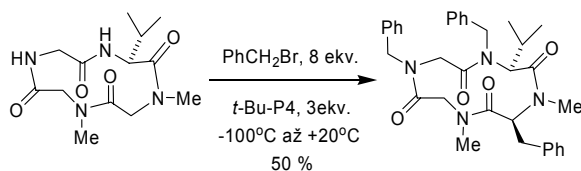


Schéma 8

Tabuľka II
Využitie fosfazénových báz pri alkylácii chirálnych esterov

RX	Báza	T [°C]	Rozpúšťadlo	R/S	Výťažok [%]
(MeO) ₂ SO ₂	BuLi	-50	THF	83:17	37
(MeO) ₂ SO ₂	<i>t</i> -Bu-P4	-95	THF	93:7	80
PhCH ₂ Br	BuLi	-50	THF	69:31	93
PhCH ₂ Br	<i>t</i> -Bu-P4	-95	THF	98:2	75
EtI	BuLi	-50	THF	67:33	75
EtI	<i>t</i> -Bu-P4	-95	THF	95:5	95

použitím LDA dochádzalo k ich rozkladu. Podarila sa aj adícia na aldehydy. Nevýhodou je, že sa nepodarilo izolovať alkylovaný intermediát. Počas reakcie dochádza k eliminácii skupiny SO₂ a vzniká produkt s dvojistou väzbou (schéma 9).

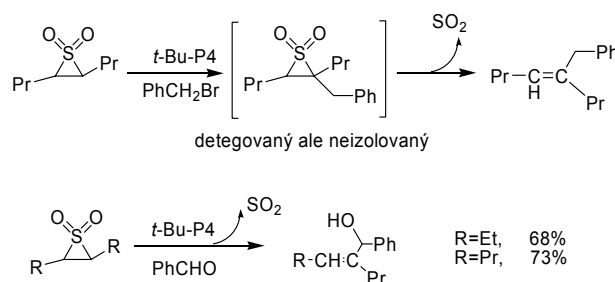


Schéma 9

Ďalšou skupinou, ktorá sa venovala výskumu a uplatneniu týchto báz v stereoselektívnej syntéze, je skupina Solladié-Cavallo a spol. Príkladom môže byť alkylácia 8-fenylmentylesteru kyseliny fenylactovej¹⁶ (schéma 10).

Najreprezentatívnejšie výsledky sú sumarizované v tabuľke II. Z tabuľky je zrejmé, že v prípadoch, keď sa použil *t*-Bu-P4, sa dosiahli väčšinou vyššie výťažky a lepšia stereoselektivita.

Fosfazénové bázy sa uplatnili aj pri reakcii sulfónov s aldehydmi¹⁷ (schéma 11, tabuľka III). Použitím fosfazénovej bázy sa zvýšila diastereoselektivita, ale výťažok sa znížil. Tento problém sa čiastočne vyriešil prídavkom TMSCl, ktorý sa viazal na vzniknutý alkoholát.

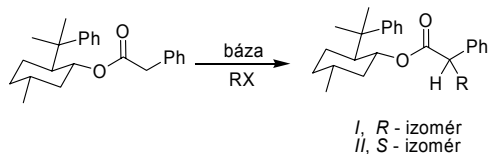


Schéma 10

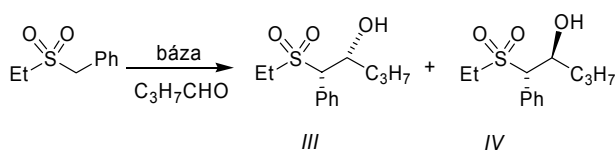


Schéma 11

Tabuľka III
Kondenzácie sulfónov s aldehydmi

Báza	Koncentrace [%]		Výtťažok [%]
	III (syn-izomér)	IV (anti-izomér)	
BuLi	41	59	100
<i>t</i> -Bu-P4	28	72	56
<i>t</i> -Bu-P4/ Me ₃ SiCl	18	82	72

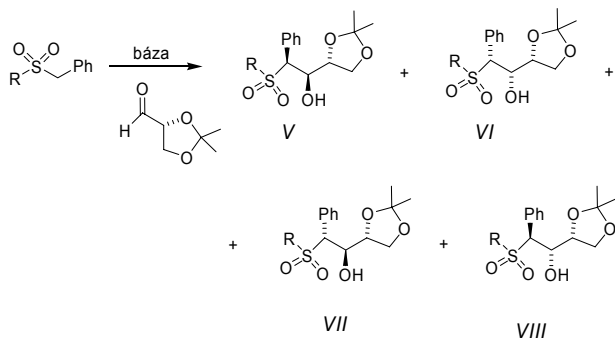


Schéma 12

Tabuľka IV
Kondenzácie sulfónov s chirálnymi aldehydmi

R	Báza	Koncentrace [%]				Výtťažok [%]
		V	VI	VII	VIII	
Et	BuLi	35	13	39	13	90
Et	<i>t</i> -Bu-P4	75	0	25	0	95
<i>t</i> -Bu	BuLi	31	18	31	20	100
<i>t</i> -Bu	<i>t</i> -Bu-P4	89	0	11	0	100

Keď sa použil chirálny derivát glyceraldehydu, bol možný vznik 4 diastereomérov produktu (schéma 12).

Pri použití fosfázénovej bázy *t*-Bu-P4 sa nielen značne zvýšila diastereoselektivita, ale dosiahol sa aj vyšší výtťažok (tabuľka IV).

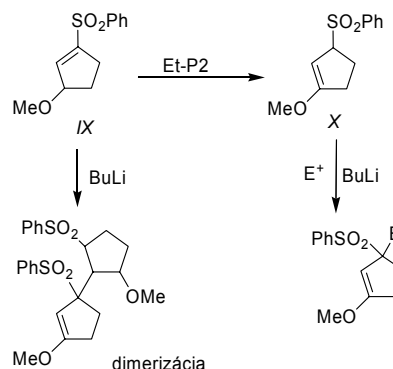


Schéma 13

Zaujímavé sú aj alkylácie cyklopentenylsulfónov^{18,19}. Kľúčovým krokom je generácia karbaniónu v α polohe sulfónu. Prídavok katalytického množstva Et-P2 umožňuje izomerizáciu zlúčeniny IX na zlúčeninu X, ktorú je potom možné alkylovať za klasických podmienok (BuLi, E⁺). Zlúčenina IX poskytuje pri priamej reakcii s BuLi prednostne dimer-produkt Michaelovej adície (schéma 13).

Na izomerizáciu použili aj ďalšie bázy: Pri reakcii s DBU sa získala späť len východisková látka a *t*-BuOK viedol opäť k tvorbe diméru.

t-Bu-P4 sa uplatnil ako báza s vynikajúcimi vlastnosťami pri selektívnej príprave 2-metyl-1-tetralónu (dialkylovaný produkt prakticky nevznikal na rozdiel od klasických alkylačných metód napr. LDA, MeI, cca 45 %, cit.²⁰) (schéma 14).

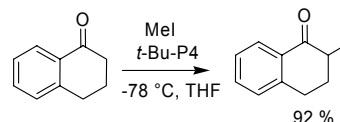


Schéma 14

Fosfázénové bázy BEMP a BTTP našli uplatnenie pri príprave aminokyselín alkyláciou iminoesterov glycínu pri reakcii s použitím chirálneho katalyzátora fázového prenosu na báze cinchonidínu a cinchonínu^{21,22} (schéma 15, schéma 16).

V tomto prípade autori využili výbornú rozpustnosť fosfázénových báz P1 a ich nízku nukleofilitu, čo umožnilo reakcie v roztoku, priamo v prítomnosti alkylačného činidla (tabuľka V).

Výbornú stereoselektivitu alkylácie autori pripisujú silnejšej interakcii medzi enolátom a kvartérnym dusíkom v porovnaní voči interakcii s kyselinou konjugovanou

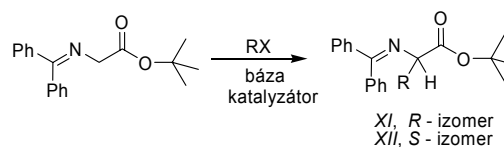


Schéma 15

Tabuľka V
Enantioselektívne katalytické alkylácie iminoglycinátov

RX	Báza	T [°C]	Kataly- zátor	ee (konfi- gurácia)	Výtťažok [%]
MeI	BEMP	-78	A	94 (<i>R</i>)	92
BnBr	BEMP	-78	A	88 (<i>R</i>)	91
BnBr	BEMP	-78	B	89 (<i>S</i>)	83
EtI	BTTP	-50	B	85 (<i>S</i>)	90

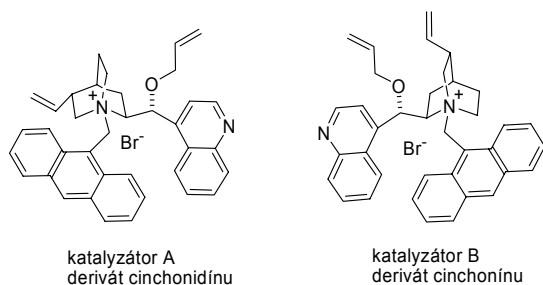


Schéma 16

k báze. Treba poznamenať, že pri reakcii s nereaktívnymi alkylhalogenidmi je lepšie použiť BTTP, ktorá je o niečo silnejšou bázou ako BEMP.

4. Príprava fosfazénových báz

Príprave fosfazénových báz sa venovali na viacerých pracoviskách^{5,9,23–27} predovšetkým však v skupine Schwesingera, podľa mena ktorého sa tieto bázy niekedy nazývajú^{5,9} aj Schwesingerove bázy. Vychodiskovými látkami pri ich príprave môže byť PCl_5 a z neho pripravené rôzne substituované dusíkaté deriváty typu $\text{Cl}_3\text{P}=\text{NR}$, ktoré reakciou s vhodným dialkylaminom poskytnú želanú monofosfazénovú bázu $(\text{R}'_2\text{N})_3\text{P}=\text{NR}$ (cit.^{6,9}). Goldwhite a spol. využili na prípravu monofosfazénovej bázy reakciu $(\text{Me}_2\text{N})_3\text{P}$ a vhodného azidu RN_3 za vzniku $(\text{Me}_2\text{N})_3\text{P}=\text{NR}$ (cit.^{23,24}). Marchenko a spol.^{25,26} využili dealkylhalogenáciu fosfóniových solí typu $(\text{R}_2\text{N})_4\text{P}^+\text{Br}^-$, ku ktorej dochádza pri teplotách 250–280 °C za vzniku $(\text{R}_2\text{N})_3\text{P}=\text{NR} + \text{RBr}$, alebo využili možnosť alkylácie $(\text{R}_2\text{N})_3\text{P}=\text{NH}$ cez príslušný trimetylsilylový derivát $(\text{R}_2\text{N})_3\text{P}=\text{NSiMe}_3$, ktorý s alkylhalogenidom $\text{R}'\text{X}$ poskytne požadovaný fosfazén $(\text{R}_2\text{N})_3\text{P}=\text{NR}'$ (cit.²⁷).

Štruktúrne jednoduchú bázu P_1 (tris(dimetylamo) iminofosforan) je možné pripraviť napr. podľa schémy 17.

P_2 a vyššie bázy je možné pripraviť z bázy P_1 napr. spôsobom uvedeným na schéme 18.

Jednu z najčastejšie používaných Schwesingerových

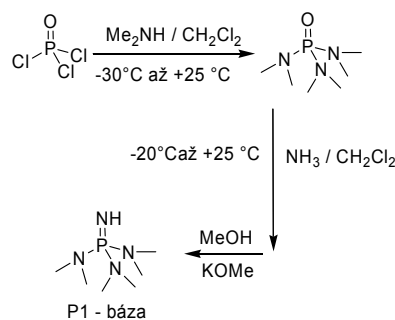


Schéma 17

báz – *t*-Bu-P4 je možné pripraviť spôsobom naznačeným na schéme 19.

Podľa databázy Beilstein poznáme v súčasnosti viac ako 1200 rôznych fosfazénových derivátov. Z toho sú komerčne dostupné buď v čistej forme, alebo ako 1 M roztoky v hexáne alebo tetrahydrofuráne *t*-Bu-P1, Et-P2, *t*-Bu-P2, *t*-Bu-P4, BTTP, *t*-Okt-P1, *t*-Okt-P4. *t*-Bu-P4 je dostupná aj vo forme soli: *t*-Bu-P4 . HBF_4 .

Bázicitou *t*-Bu-P4 sa takmer vyrovná bicyclická neiónová zlúčenina XIII (schéma 20), ktorej syntéza je podľa

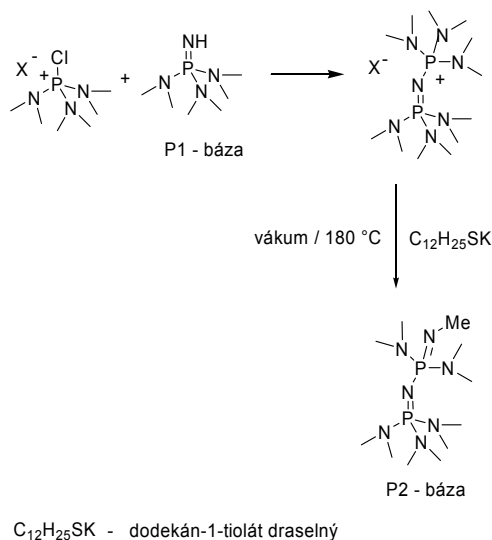


Schéma 18

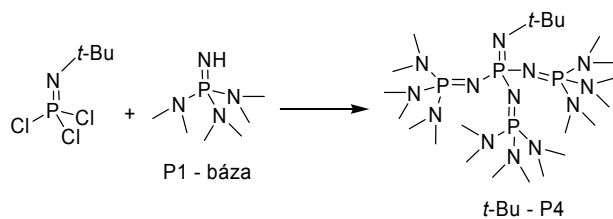


Schéma 19

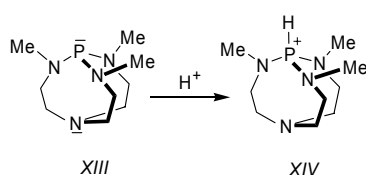


Schéma 20

autorov Tang a spol.,²⁸ jednoduchšia ako syntéza *t*-Bu-P4. K protonácii dochádza na atóme fosforu za vzniku kationu XIV (schéma 20), ktorého štruktúra bola potvrdená röntgenovou štruktúrnou analýzou.

Autori ďakujú za finančnú podporu výskumu Slovenskej grantovej komisie číslo grantu VEGA 1/0217/03.

LITERATÚRA

- Oediger H., Muller F., Eiter K.: *Synthesis* 1972, 591.
- Liu H. J., Ho L. K., Lao H. K.: *Can. J. Chem.* 59, 1685 (1981).
- Schwesinger R.: *Chimia* 39, 269 (1985).
- Schwesinger R., Willaredt J., Schlemper H., Keller M., Schmidt D., Fritz H.: *Chem. Ber.* 127, 2435 (1994).
- Barton D. H. R., Kervagoret J. K., Zard S. Z.: *Tetrahedron* 46, 7587 (1990).
- Schwesinger R., Missfeldt M.: *Angew. Chem.* 99, 1210 (1987).
- Schwesinger R., Schlemper H.: *Angew. Chem.* 99, 1212 (1987).
- Kühlmeyer R., Seitz B., Weller T., Fritz H., Schwesinger R., Prinzbach H.: *Chem. Ber.* 122, 1729 (1989).
- Schwesinger R., Schlemper H., Hasenfratz C., Willaredt J., Dambacher T., Breuer T., Ottaway C., Fletschinger M., Boele J., Fritz H., Putzas D., Rotter H. W., Bordwell F. G., Satish A. V., Guo-Zen Ji, Peters E. M., Peters K., von Schnering H.G., Walz L.: *Liebigs Ann.* 1996, 1055.
- Fruchart J. S., Grass-Masse H., Melnyk H.: *Tetrahedron Lett.* 42, 9153 (2002).
- Solladié-Cavallo A., Liptaj T., Schmidt M., Solgadi A.: *Tetrahedron Lett.* 43, 415 (2002).
- Fruchart J. S., Lippens G., Kuhn C., Gras-Masse H., Melnyk O.: *J. Org. Chem.* 67, 526 (2002).
- Pietzonka T., Seebach D.: *Chem. Ber.* 1991, 1837.
- Seebach D., Bezencon O., Jaun B.: *Helv. Chim. Acta* 79, 588 (1991).
- Muccioli A. B., Simpkins N., Mortlock A.: *J. Org. Chem.* 59, 5141 (1994).
- Solladié-Cavallo A., Csaky A.G., Gantz I., Suffert J.: *J. Org. Chem.* 59, 5343 (1994).
- Solladié-Cavallo A., Roche D., Fischer J., De Cian A.: *J. Org. Chem.* 61, 2690 (1996).
- Kim S.H., Jin Z., Fuchs P. L.: *Tetrahedron Lett.* 36, 4537 (1995).
- Jin Z., Fuchs P. L.: *Tetrahedron Lett.* 37, 5249 (1996).
- Solladié-Cavallo A., Sedý O., Salisova M., Biba M., Welch C.J., Nafié L., Freedman T.: *Tetrahedron: Asymmetry* 12, 2703 (2001).
- O'Donnel M. J., Delgado F., Hostettler C., Schwesinger R.: *Tetrahedron Lett.* 39, 8775 (1998).
- O'Donnel M. J., Delgado F., Pottorf R. S.: *Tetrahedron* 55, 6347 (1999).
- Goldwhite H., Gysegem P., Schow S., Swyke C.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1975, 12.
- Goldwhite H., Gysegem P., Schow S., Swyke C.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1975, 16.
- Marchenko A. P., Koidan G. N., Pinchuk A. M.: *Zh. Obshch. Khim.* 54, 2691 (1984).
- Marchenko A. P., Koidan G. N., Povolotskii M. I., Pinchuk A. M.: *Zh. Obshch. Khim.* 53, 1513 (1983).
- Zaltsman I. S., Koidan G. N., Kudryavtsev A. A., Marchenko A. P., Pinchuk A. M.: *Zh. Obshch. Khim.* 59, 2135 (1989).
- Tang J., Dopke J., Verkade J. G.: *J. Am. Chem. Soc.* 115, 5015 (1993).
- Fraser R. R., Mansour T. S., *J. Org. Chem.* 49, 3442 (1984).

O. Šedý^{a,b}, A. Solladié-Cavallo^b, M. Sališová^a, A. Boháč^a (^aDepartment of Organic Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovakia, ^bDépartement de Chimie Organique Fine, ECPM, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France): **Organic Phosphazene Bases and Their Utilization in Organic Chemistry**

Organic non-ionic bases play an important role in organic synthesis. Using them, some reactions can be carried out in mild conditions, e.g. at lower temperatures, and thus the possibility of side reactions is decreased. This is especially important in stereoselective synthesis. Their favourable properties can be due to better solubility in organic solvents and/or to increased reactivity of anions ("naked" anions). The basicity of five investigated aminophosphazene bases is high because of extensive delocalization of positive charge in their conjugated acids and is comparable or higher than that of strong, commonly used bases - LDA or BuLi. All the bases except one are weak nucleophiles. The simplest method for the synthesis of aminophosphazenes is the reaction of Cl₃P=NR with a suitable dialkylamine. Some of the bases are commercially available, neat or in hexane or THF solutions. Also, some nitrogen bases are compared.

MOŽNOSTI IMUNOCHEMICKÉHO STANOVENÍ ORGANOCHLOROVÝCH A KARBAMÁTOVÝCH PESTICIDŮ

**BARBORA MIČKOVÁ, PAVEL RAUCH
a LADISLAV FUKAL**

*Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
barbora.mickova@vscht.cz*

Došlo 10.5.04, přijato 20.7.04.

Klíčová slova: imunoanalýza, organochlorové pesticidy,
karbamátové pesticidy

Obsah

1. Úvod
2. Princip imunochemických metod
3. Metody pro imunochemické stanovení pesticidů
 - 3.1. Metoda ELISA
 - 3.2. Imunoafinitní chromatografie
 - 3.3. Imunosenzor
4. Imunochemické stanovení vybraných organochlorových pesticidů
5. Imunochemické stanovení vybraných karbamátových pesticidů
6. Validace imunoanalýz
7. Budoucnost imunoanalýzy pesticidů

1. Úvod

Pesticidy jsou chemické sloučeniny používané pro preventivní zničení, odpuzování nebo zmiřování účinků škodlivých živočichů, plevelů a parazitujících hub, které ohrožují zemědělské, zahradní a lesní rostliny, zásoby potravin a zemědělských produktů, průmyslové materiály, hospodářská zvířata i samotného člověka. Tuto velkou skupinu látek lze rozdělit do různých tříd, např. podle cílového organismu nebo podle způsobu účinku. Základní třídění dělí chemické pesticidy do těchto hlavních skupin: insekticidy (k hubení hmyzu), herbicidy (k hubení plevelů), fungicidy (proti parazitujícím houbám a plísním), akaricidy (proti pavoukům), moluskocidy (proti měkkýšům), rodenticidy (proti hlodavcům) a regulátory růstu rostlin.

Podle chemické struktury lze pesticidy dále členit do skupin na organofosfátové, karbamátové, pyrethroidní a organochlorové pesticidy. V tomto přehledu se zaměříme na stanovení těch zástupců, kteří nejvýznamněji ovlivňují životní prostředí kolem nás, tj. představitele organochlorových insekticidů a zástupce karbamátových pesticidů.

Organochlorové pesticidy jsou velkou a různorodou skupinou, která způsobuje velké problémy v životním prostředí. V době zavedení těchto pesticidů se jako největší výhoda uváděla jejich stabilita, perzistence insekticidního účinku, levnost výroby, malá toxicita pro savce a široké spektrum insekticidní účinnosti¹. Jejich rozsáhlé používání však vyvolalo díky těmto vlastnostem vážné ekologické problémy, a proto bylo stejně jako používání jiných chlorovaných uhlovodíků v mnoha zemích silně omezeno, popř. přímo zakázáno. Rozdělují se do tří hlavních skupin: DDT a jeho analogy, hexachlorcyklohexan (HCH) a cyklodieny (např. endosulfan, aldrin, dieldrin). Asi nejznámějšími a nejdéle používanými insekticidy jsou DDT a endosulfan.

Vzhledem k vážným ekologickým problémům, které způsobily především organochlorové pesticidy, začal chemický průmysl vyvíjet nové typy insekticidů. Díky své nízké toxicitě pro savce, snadné degradovatelnosti a zachovanému širokému spektru účinku získaly na významu karbamátové insekticidy (např. karbaryl, karbofuran nebo methiokarb). Používají se především k omezování hmyzích škůdců v zemědělství a zahradnictví. Přesto ani jejich používání není zcela bezpečné. Vstupem karbamátových pesticidů do organismu dojde k inhibici acetylcholinesterasy, která zajišťuje konečnou fázi při přenosu signálu mezi synaptickými buňkami – uvolnění mediátoru acetylcholinu z receptoru².

Toxicita a perzistence zmiňovaných pesticidů si vyžaduje kontrolu jejich výskytu v životním prostředí a v potravinách. Volba vhodné analytické metody pro stanovení pesticidu ve vzorku závisí na řadě faktorů: účel analýzy (např. kontrola hygienické nezávadnosti, orientační screening), povaha cílového analytu (původní sloučenina, její metabolit nebo degradační produkt) nebo znalost „historie“ vzorku³. Díky výrobě nových pesticidů, snižování hodnot hygienických limitů a zdokonalování instrumentace je třeba dále optimalizovat používané metody (především multireziduální metody) a zavádět nové analytické postupy (např. imunochemické metody).

Významným nástrojem při kontrole dopadu používání pesticidů na životní prostředí jsou multireziduální metody, které jsou schopné během jedné analýzy současně stanovit velké množství těchto látek. Identifikace a kvantifikace analytu se velmi často provádí pomocí plynové nebo kapalinové chromatografie spojené s vhodným detektorem.

Hlavní roli v oblasti analýzy organických kontaminantů hraje plynová chromatografie. Protože v analyzovaných vzorcích jsou pouze stopová množství analytů, je nutné pracovat s příslušnými selektivními detektory. Pro látky s vysokým zastoupením elektronegativních skupin nebo s výrazným podílem dvojných vazeb či aromatických kruhů (jako jsou organochlorové pesticidy) slouží detektor elektronového záchytu (ECD, cit.⁴⁻⁷). Zvýšení selektivity

detekce nabízí hmotnostní detektor^{8,9}. Hmotnostní detektor s iontovou pastí (ITD) deteguje tyto pesticidy na hladinách ppt-ppb (cit.¹⁰⁻¹²).

Pro karbamátové pesticidy, které nelze pro jejich fyzikálně-chemické vlastnosti (polarita, termolabilita) stanovit metodou GC, byly vyvinuty metody kapalinové chromatografie (LC) a její varianty vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC). Běžně používané ultrafialové detektory (UV) většinou nejsou schopné dostatečně splnit požadavky, které jsou kladeny na detekční limity metody, a proto se častěji používají detektory MS s různými technikami ionizace: chemická ionizace za normálního tlaku (APCI, cit.¹³), elektroprayová ionizace (ESI, cit.^{14,15}), termosprayová ionizace (TSI, cit.¹⁶) nebo ionizace pomocí částicového zářiče (PBI). Detekční limity pro LC/MS nebo HPLC/MS se pohybují pro potravinové vzorky v rozmezí 5–50 ppb (ng.ml⁻¹), cit.¹⁷.

Zmíněné konvenční chromatografické techniky ve spojení s citlivým detekčním systémem jsou široce používány kontrolními laboratořemi. Tyto metody vyžadují velice nákladné přístrojové zařízení a časově náročné mnohastupňové čištění extraktů vzorků před vlastní analýzou. V posledních dvaceti letech lze pozorovat zvýšené úsilí při snahách o vypracování imunochemických metod ke stanovení pesticidů jako určité alternativy ke stávajícím metodám¹⁸⁻²⁰. Imunochemické techniky představují jednoduché, rychlé a levné metody, které se stávají populárním nástrojem pro rychlý screening organických sloučenin v životním prostředí²¹.

V tomto článku podáváme přehled dosud vyvinutých imunochemických metod a aplikací ke stanovení organochlorových a karbamátových pesticidů.

2. Princip imunochemických metod

Imunochemické metody využívají k důkazu, stanovení nebo separaci analytu biospecifické interakce s protilátkami. *In vitro* se při nich využívá produkt imunitního systému obratlovců zaměřený původně na specifické rozlišení a zneškodnění cizorodého agens (antigenu) *in vivo*. Tento produkt (specifické protilátky) umožňuje poměrně citlivé a specifické rozpoznání analytu v komplexních směsích biologických vzorků. Podstatou všech imunochemických metod je tedy nekovalentní interakce protilátky s antigenem. Stěžejním analytickým nástrojem je specifická protilátka. Nejjednodušší způsob její přípravy představuje injekční aplikaci antigenu (analytu) do organismu zvoleného zvířete a po určité době izolaci krevního séra.

Pesticidy ale mají vlastnosti tzv. haptenu – jejich molekuly jsou poměrně malé (< 2000 Da), a proto samy o sobě v organismu neprovokují imunitní systém k produkci protilátek. Pro tyto účely se musí hapten nejprve navázat na vysokomolekulární nosič (nejčastěji protein). Přitom by nemělo jít pouze o vytvoření kovalentní vazby mezi dvěma atomy, ale hapten by měl pomoci krátkého spojovacího raménka (3–6 atomů) mírně vyčnívat z molekuly bílkoviny, aby epitopově charakteristické atomy jeho

molekuly nebyly stíněny prostorovou členitostí bílkovinné struktury.

Pesticid lze obvykle navázat na bílkovinu alternativně přes více než jeden reaktivní atom v jeho molekule. Přitom výběr místa na molekule pesticidu pro kovalentní vazbu s proteinem velice ovlivní specifitu produkovaných protilátek. Nabízí se možnost připravit řadu různých konjugátů (budou se lišit umístěním kovalentní vazby na molekule haptenu, event. typem a délkou spojovacího raménka) a ze získaných protilátek pak vybrat ty, které nejvíce vyhovují našim potřebám. A nebo se můžeme při volbě přípravy menšího počtu konjugátů řídit následujícími doporučeními, která vyplývají z mnoha dosud provedených experimentů:

- Místo v molekule haptenu, na kterém se vytváří vazba s proteinem, by mělo být co nejvíce vzdáleno od té části haptenu molekuly, proti které chceme vytvořit specifické protilátky (od charakteristického seskupení atomů v molekule haptenu). Tím se docílí toho, že epitopově významné skupiny atomů nejsou pozměněny ani prostorově stíněny nosičem ani spojovacím raménkem.
- Pokud je to možné, konjugovat hapten přes atom uhlíku v jeho molekule, a ne přes heteroatom, což by mohlo vést ke změně polarit, a tím i ke změně charakteru epitopu a odezvy imunitního systému.
- Spojovací raménko vzniklé konjugací haptenu s proteinem by nemělo být výraznějším epitopem než molekula haptenu. Na druhou stranu delší raménko může zvýraznit imunitní odpověď na hapten. Je ale vhodnější, je-li raménko alifatické a bez heteroatomů.

Výběr epitopově významné skupiny atomů v molekule pesticidu, která má být v molekule konjugátu zvýrazněna (viz výše ad a) může výrazně ovlivnit další použitelnost protilátky. Zohledněním výše uvedených zásad lze totiž cíleně připravit buď úzce specifické protilátky, které budou interagovat pouze s jediným vybraným zástupcem ze skupiny strukturálně podobných pesticidů, anebo široce specifické protilátky, reagující se všemi členy pesticidové skupiny²²⁻²⁴.

3. Metody pro imunochemické stanovení pesticidů

Pesticidy jako hapteny spontánně neprecipitují s protilátkami. Proto se jejich stanovení provádí především neprecipitačními imunochemickými metodami, které využívají vhodnou značku k zesílení a zviditelnění primární reakce hapten-protilátka. Označením jednoho z partnerů této interakce se značně zvýší citlivost imunochemického stanovení. Přestože jako značky přicházejí v úvahu radionuklidy, fluorescenční a chemiluminiscenční látky, ferritin, liposomy aj., v praxi se nejvíce rozšířilo značení enzymem.

3.1. Metoda ELISA

Při stanovení pesticidů enzymovou imunoanalýzou se téměř výhradně používá kompetitivní uspořádání heterogenní analýzy, kdy je buď protilátka nebo pesticid zakotven na pevnou fázi (ELISA – Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay).

Tzv. přímá ELISA spočívá v soutěži značeného pesticidu a pesticidu-analytu o vazebná místa omezeného množství molekul protilátek, které jsou navázány na nerozpustný nosič. Po ustavení rovnováhy je odstraněn reakční roztok a kvantifikován enzym (enzymová aktivita), který je zprostředkovatelsky navázán na pevnou fázi²⁵.

V nepřímém uspořádání ELISA je na pevnou fázi navázán pesticid. Ten soutěží s rozpustným pesticidem-analytem o vazebná místa omezeného množství molekul protilátek, které jsou také volně v roztoku. Po ustavení rovnováhy je odstraněn reakční roztok s rozpustnými reaktanty a protilátka navázaná na imobilizovaný pesticid je kvantifikována přidávkem protilátky proti protilátce (tzv. druhá protilátka), která byla předem označena enzymem. Po dalším ustavení rovnováhy a odstranění reakčního roztoku je měřena enzymová aktivita zachycená na pevné fázi²⁵.

Obě popsané varianty ELISA umožňují stanovení pesticidů až do koncentrace $1 \text{ ng} - 1 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ v závislosti na kvalitě protilátky. Standardní křivka (hodnoty enzymové aktivity resp. absorbance reakčního roztoku proti logaritmu koncentrace standardu analytu) má v obou případech sigmoidní tvar se strmou lineární oblastí kolem inflexního bodu (bod 50% inhibice, I_{50}).

Technické uspořádání ELISA se liší podle účelu a rozsahu prováděných stanovení.

- Ve velké sérii malých reakčních prostorů mikrotitrační destičky se taková stanovení provádějí při screeningu většího počtu vzorků v kontrolních a výzkumných laboratořích. Formát destičky je vhodný pro aplikaci automatizačních prvků, a to jak při pipetování reagentů shodných pro všechny reakční prostory, tak pro promývání těchto prostorů po jednotlivých inkubacích, i při finální kvantifikaci absorbance.
- V jednotlivých zkumavkách se realizují při analýzách několika málo vzorků. Jako nerozpustný nosič pro imobilizaci jednoho z imunoreaktantů mohou v obou případech sloužit stěny plastových zkumavek nebo jamek mikrotitračních destiček, popř. částice s ferromagnetickým jádrem, které lze separovat od roztoku vnějším magnetem. Kvantitativní analýza vyžaduje u obou variant fotometr. Semikvantitativní hodnocení analýz vystačí se subjektivním porovnáním zbarvení reakčních roztoků při enzymové přeměně přidaného substrátu.
- Nejpohodlnější je semikvantitativní provedení ELISA v podobě tyčinek (dipstiků) nebo kartiček s aktivními zónami. Po aplikaci imunoreaktantů a testovaného vzorku je porovnáván odstín zbarvení aktivní zóny se standardní stupnicí.

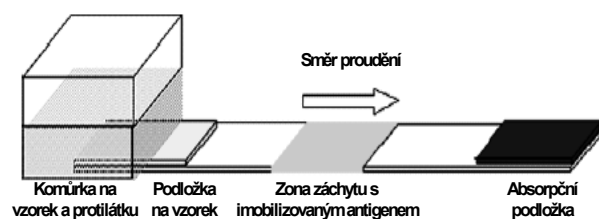
3.2. Imunoafinitní chromatografie

Principy imunochemické reakce jsou použity také v jiných technikách, např. imunoafinitní chromatografie nebo imunosenzor. Imunoafinitní chromatografie může být provedena dvěma způsoby podle toho, zda je na nerozpustný nosič kovalentně imobilizován antigen nebo protilátka. Kolona s navázaným antigenem se používá při čištění polyklonálního antiséra pro získání jeho vyšší specifity. Kolonu s imobilizovanou protilátkou lze použít ke specifickému zachycení analytu ze vzorku. V poslední době se při stanovení pesticidů rozšiřuje zařazení této imunoafinitní techniky před konvenční HPLC nebo GC (cit.²⁶⁻³⁰). Účelem je buď nakoncentrování analytu nebo čištění extraktu od interferujících látek z matrice vzorku, tzv. imunoextrakce.

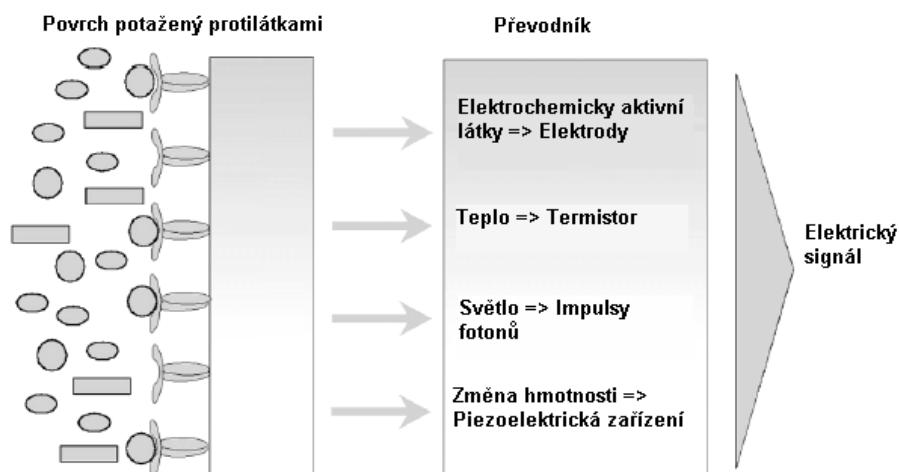
Mezi imunochromatografie řadíme i metodu LFIA (lateral flow immunoassay). Tato metoda je vyvíjena pro stanovení nejrůznějších analytů a jako atraktivní se jeví i v analýze pesticidů³¹⁻³⁴. LFIA je v podstatě navržena jako semikvantitativní, robustní, snadno proveditelná imunochemická metoda, která je vhodná pro specifickou semikvantitativní detekci analytů. Vyžaduje pouze levné přístrojové vybavení a umožňuje ve srovnání s metodou ELISA na mikrotitračních destičkách podstatné snížení doby analýzy. Specifické protilátky imobilizované na koloidní částice jsou smíchány s analytem (extrakt vzorku) v aplikační komůrce. Všechny složky takového roztoku potom kapilárními silami migrují vrchní porézní vrstvou destičky (viz obr. 1). V tzv. zóně záchytu je na destičku předem imobilizován ekvivalent analytu, na nějž jsou při migraci destičkou poutány volné protilátky, které se nenavázaly na analyt ze vzorku. Čím více je analytu v aplikovaném vzorku, tím méně protilátek je zachyceno na zmíněné zóně. Semikvantitativní vizuální hodnocení záchytu umožňují koloidní částice. Pokud vzorek neobsahuje stanovovaný analyt, v zóně záchytu se v důsledku přítomnosti volných koloidních protilátek objeví výrazný barevný proužek. Pokud vzorek obsahuje sledovaný analyt, v zóně záchytu se objeví slabší nebo žádný barevný proužek^{35,36}.

3.3. Imunosenzor

Imunochemické biosenzory patří mezi afinitní biosenzory, které využívají specifickou interakci mezi komple-



Obr. 1. Schéma metody LFIA³⁶

Obr. 2. Základní princip imunosenzoru³⁸

mentárnímí oblastmi biomolekul (antigen-protilátka) vedoucí ke vzniku komplexních struktur. Cílem integrace imunochemických stanovení s technologií biosenzorů je snaha zrychlit, zjednodušit jejich použití a vyvinout malé přenosné systémy použitelné přímo v místě odběru vzorku³⁷.

Imunosenzory se skládají ze tří částí: (i) biologický prvek (protilátka, která je imobilizovaná na převodník a interaguje se stanovovaným analytem), (ii) převodník, který přeměňuje biochemický nebo biofyzikální děj (vazba analytu) na elektrický signál a (iii) elektronická část. Tyto senzory jsou klasifikovány na základě fyzikálně-převodních mechanismů: elektrochemické, optické, teplotní nebo piezoelektrické (obr. 2, cit.³⁸). Pro stanovení pesticidů se převážně používají imunosenzory na bázi optických, elektrochemických a piezoelektrických senzorů.

Optické imunosenzory jsou založeny na spektrofotometrické, spektrofluorimetrické, chemiluminometrické či reflektometrické detekci optického signálu. Mohou detegovat přímo vznik imunokomplexu (bez značení), značenou látku a nebo produkt enzymové reakce (fluorofor či luminofor). Pro detekci haptenu bez značení se používá jejich imobilizace na převodník. Změny způsobené interakcí mezi imobilizovaným haptenu a protilátkou jsou nepřímo úměrné koncentraci volného haptenu v reakčním mediu³⁹.

Elektrochemické převodníky jsou založeny na značení protilátky či stanovovaného analytu enzymem, který katalyzuje produkci elektroaktivního produktu⁴⁰. Oproti optickým imunosenzorům jsou citlivější a nevyžadují speciální optické vlastnosti reakční směsi.

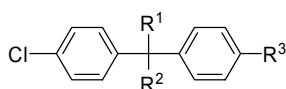
Piezoelektrický imunosenzor měří změny hmotnosti způsobené vznikem komplexu antigen-protilátka pomocí piezoelektrického krystalu⁴¹. K sledování těchto změn se využívá přirozená rezonanční frekvence tohoto senzoru. Její hodnota je nepřímo úměrná hmotnosti piezoelektrické-

ho senzoru. Navázání haptenu na imobilizovanou protilátku však nezpůsobuje dostatečně velkou změnu hmotnosti. Proto při použití tohoto imunosenzoru je využíván konjugát haptenu s proteinem a kompetitivní schéma stanovení.

4. Imunochemické stanovení vybraných organochlorových pesticidů

Klíčovým krokem ve vývoji imunoanalýzy pro haptenu je návržení a příprava imunogenu. Např. pro DDT, který se vyskytuje ve dvou izomerních formách *p,p'*-DDT a *o,p'*-DDT, a příbuzné sloučeniny bylo provedeno mnoho pokusů s různými typy imunogenů pro získání specifických protilátek. První práce používající jako imunogen konjugát protein-DDA (DDA - 2,2-bis(4-chlorfenyl)octová kyselina) poskytovaly nízkoafinitní antiséra, která hlavně rozpoznávala DDA, hlavní metabolit DDT vyskytující se v moči^{42,43}. Další práce (Burgisser a spol.⁴⁴) použila jako imunogen pro přípravu monoklonálních protilátek v kompetitivní radioimunoanalýze dicofol (2,2,2-trichlor-1,1-bis(4-chlorfenyl)ethanol), který je strukturálně podobný DDT. Tato metoda nenašla uplatnění v praxi, protože je málo citlivá ($I_{50}=100$ nM) a používá radioaktivní značku. Stejně tak jako radioimunoanalýzy pro endosulfan a jiné cykloidy (aldrin, endrin, dieldrin aj.) byla tato metoda pro větší bezpečnost a snazší manipulaci nahrazena enzymovými imunoanalýzami.

Vliv struktury haptenu pro přípravu imunogenu na specifitu monoklonálních protilátek při metodě ELISA ke stanovení DDT a jeho derivátů byl zhodnocen v publikované práci Abada a spol.⁴⁵. Haptenu byly připraveny zabudováním alifatického řetězce jako spojovacího raménka s koncovou karboxylovou skupinou – buď na centrální uhlíkový atom (haptenu 1, obr. 3) nebo na



Název sloučeniny	R ¹	R ²	R ³
DDT	CCl ₃	H	Cl
DDA	COOH	H	Cl
Hapten 1	OH	(CH ₂) ₃ COOH	Cl
Hapten 2	CCl ₃	H	(CH ₂) ₃ COOH

Obr. 3. Chemická struktura DDT a haptenu použitého v práci Abada a spol.⁴⁵

benzenový kruh struktury DDT (hapten 2, obr. 3). Připravené monoklonální protilátky byly charakterizovány z hlediska afinity a specifity k *p,p'*-DDT metodou ELISA. Všechny sedm protilátek, které byly odvozeny od haptenu 2 (I_{50} v rozmezí 2,1–6,5 nM), vykazovaly vyšší afinitu k *p,p'*-DDT než protilátka odvozená od haptenu 1 (I_{50} = 11,1 nM). Specifita protilátek, schopnost interagovat i s analogy DDT, byla prověřena pomocí hodnot křížových interakcí. Protilátky byly na jejich základě rozděleny do tří skupin. První skupina zahrnuje čtyři protilátky odvozené od haptenu 2, které vykazovaly silné křížové interakce se sloučeninami ze třídy DDT. Tyto protilátky jsou tedy skupinově specifické. Druhá skupina protilátek, kam byly zařazeny ostatní protilátky odvozené od haptenu 2, jsou specifické pro DDT, protože rozeznávají pouze *p,p'*-DDT nebo *o,p'*-DDT. Protilátka odvozená od haptenu 1 vykazovala rozdílné křížové interakce s analogy DDT, a proto byla zařazena do třetí skupiny. Vzhledem k těmto výsled-

Tabulka I
Přehled publikovaných metod ELISA pro stanovení DDT a jeho degradačních produktů

Uspořádání metody ^a	PL	Detekční limit [ng.ml ⁻¹]	I_{50} [ng.ml ⁻¹]	Matrice vzorku	Lit.
ELISA II	mPL	N	0,3–2,8	pufr	52
ELISA II	pPL	0,12	2,5	odpadní voda	53,54
ELISA I	pPL	N	13	rajčatový protlak, zemina, voda, rozinky, mléko	55–59
ELISA II	pPL	N	120	pufr	60,61
ELISA II	mPL	0,006 / 0,04	0,6 / 0,2	voda, zemina, hlávkový salát, jahody	45,62,63
ELISA VII	mPL	0,4 / 0,4	21 / 8	voda, zemina, hlávkový salát, jahody	45,62,63

^aN – neuvedeno; pPL – polyklonální protilátka; mPL – monoklonální protilátka; ELISA I – přímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázána protilátka; ELISA II – nepřímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázán antigen; ELISA VII – průtoková ELISA

kům byly pro imunochemická stanovení DDT doporučeny protilátky odvozené od haptenu 2.

Do dnešní doby byly publikovány enzymové imunanalýzy pro stanovení chlorovaných bifenylů^{46,47} DDT, endosulfanu, hexachlorcyklohexanu⁴⁸, dieldrinu⁴⁹, pentachlorfenolu, pikloramu nebo kaptanu⁵⁰. Dostupné publikované metody ELISA s fotometrickou nebo chemiluminiscenční detekcí pro DDT, endosulfan a jejich degradační produkty jsou shrnuty s vybranými charakteristikami v tabulce I a II.

Pro detekci a kvantifikaci cyklodienů (dielldrin, aldrin, heptachlor, chlorden, endrin a endosulfan) byl vyvinut optický imunosenzor využívající spektrofluorometrickou detekci optického signálu. Na převodník byly imobilizovány polyklonální protilátky proti chlorované kapronové kyselině. Imunosenzor detegoval cyklodieny na hladině ppb a vykazoval nízkou křížovou interakci s hexachlorcyklohexanem⁵¹.

5. Imunochemické stanovení vybraných karbamátových pesticidů

Mezi nejznámější karbamátové pesticidy patří karbaryl, karbofuran, aldikarb, methonyl, oxamyl nebo methio-karb. Většina těchto látek se přeměňuje ve velmi krátké době na své metabolity, které jsou často stejně nebo dokonce více aktivní než původní sloučenina. Např. aldikarbsulfát je silnějším inhibitorem cholinesterasy než aldikarb⁷⁰. Imunochemické metody jsou vyvíjeny tak, aby protilátka rozpoznávala nejen původní molekulu pesticidu, ale také jeho degradační produkty.

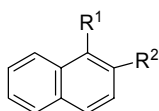
Při vývoji imunanalýzy pro karbamáty je stejně jako pro organochlorové pesticidy důležitým krokem navržení a příprava imunogenu. Hodnocení vlivu haptenu struktury na afinitu protilátek byla publikována Abadem a spol. pro *N*-methylkarbamátový pesticid karbaryl⁷¹. Navržené hapteny (obr. 4) měly stejné rozložení aromatických kruhů jako karbaryl a obsahovaly karboxylovou skupinu pro

Tabulka II

Přehled publikovaných metod ELISA pro stanovení endosulfanu a jeho degradačních produktů

Uspořádání metody ^a	PL	Detekční limit [ng.ml ⁻¹]	<i>I</i> ₅₀ [ng.ml ⁻¹]	Matrice vzorku	Lit.
ELISA I / ELISA V	pPL	0,2/0,2	25–50/N	voda, zemina, zrnka vína, zelí, květák, špenát, rajčata, rýže	56, 64–66
ELISA I / ELISA II	pPL	3/5	N	pufř	67
ELISA I	pPL	3	N	pufř	68
ELISA (komerční souprava)	pPL	10–30	6–100	jablko, rajčata, hlávkový salát	69

^aN – neuvedeno; pPL – polyklonální protilátka; mPL – monoklonální protilátka; ELISA I – přímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázána protilátka; ELISA II – nepřímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázán antigen; ELISA V – přímá kompetitivní ELISA, na stěnách zkumavky vázána protilátka



Sloučenina	R ¹	R ²
Karbaryl	OCNHCH ₃	H
Hapten A	OCNH(CH ₂) ₅ COOH	H
Hapten B	OCNH(CH ₂) ₂ COOH	H
Hapten C	NHCONH(CH ₂) ₅ COOH	H
Hapten D	CONH(CH ₂) ₅ COOH	H
Hapten E	H	CONH(CH ₂) ₅ COOH

Obr. 4. Chemická struktura karbarylů a haptenu použitých v práci Abad a spol.⁷¹

připojení na bílkovinu. Teoreticky jsou za nejlepší hapteny považovány hapteny A a B. V jejich molekulách je spojovací raménko připojeno přes methylovou skupinu analytu, a tak je zachována charakteristická skupina pro tyto pesticidy. V haptenech C a D je raménko připojeno stejným způsobem, ale chybí karbamátová skupina. Hapten E se od haptenu D liší pouze polohou funkční skupiny na aromatickém kruhu. Při výběru nejvhodnějších haptenu pro přípravu monoklonálních protilátek byly připravené imunogeny použity nejprve pro imunizaci králíků. Získané polyklonální protilátky byly charakterizovány metodou ELISA. Podle očekávání se jako nejlepší potvrdily hapteny A a B, které poskytly výrazně nižší *I*₅₀ než ostatní hapteny. Proto byly použity pro přípravu monoklonálních protilátek.

Pro analýzu *N*-methylkarbamátů je k dispozici několik komerčních souprav ELISA používajících mikrotit-

rační destičky nebo magnetické částice s fotometrickou detekcí. Takováto souprava byla použita např. ke stanovení karbofuranu a aldikarbsulfátu v mase, játrech, krvi nebo moči⁷². ELISA založená na využití magnetických částic byla vyvinuta pro rychlé stanovení karbarylů ve vodných vzorcích⁷³ nebo pro karbofuran ve vodě a v půdě⁷⁴. Publikována byla jednodušší kompetitivní ELISA používající monoklonální protilátky proti pesticidu propoxur (*I*₅₀ v rozmezí 6,5–17,9 nM) bez křížových interakcí s významnými *N*-methylkarbamátovými pesticidy⁷⁵. Dostupné publikované metody ELISA pro karbaryl, karbofuran a methiokarb jsou shrnuty s vybranými charakteristikami v tabulce III.

Protilátky, které byly připraveny Abadem a spol.⁷¹, byly použity při vývoji imunosenzoru pro detekci karbarylů^{76,77}. Senzor je založen na principu heterogenní kompetitivní enzymové imunanalýzy, která používá protilátky v roztoku (nepřímé provedení) nebo imobilizované protilátky (přímé provedení). V obou případech byla použita enzymová značka (křenuvová peroxidasa) a fluorimetrická detekce. Jedna imunanalýza pro přímé provedení trvá asi 11 min s detekčním limitem 26 ng.ml⁻¹, pro nepřímý asi 17 min s detekčním limitem 284 ng.ml⁻¹. Metoda byla aplikována na analýzu vzorků pitné vody a džusu a získané výsledky byly porovnány s ELISA jako referenční metodou. Vyvinutý imunosenzor byl použit také pro analýzu vzorků zeleniny a získané výsledky byly porovnány s HPLC jako referenční metodou⁷⁸. Pro vzorky vody byl sestaven imunosenzor pro současné stanovení více pesticidů (karbaryl, atrazin a irgarol 1051). Detekční limit byl pro všechny pesticidy nižší než 0,1 μg.ml⁻¹, cit.⁷⁹. Stejný typ imunosenzoru jako pro karbaryl byl použit i pro jeho hlavní degradační metabolit 1-naftol s detekčním limitem ve vodném prostředí 16,2 μg.l⁻¹, cit.⁸⁰.

Tabulka III

Přehled publikovaných metod ELISA pro *N*-methylkarbamátové pesticidy karbaryl, karbofuran a methiokarb

Uspořádání metody ^a	PL	Detekční limit [ng.ml ⁻¹]	<i>I</i> ₅₀ [ng.ml ⁻¹]	Matrice vzorku	Lit.
<i>Karbaryl</i>					
ELISA IV	pPL	0,25	N	voda	73
ELISA III	pPL	200	92,8	zelenina	81
ELISA I	pPL	1000	N	obilí	82
ELISA II	pPL	N	1,48	pomeranče, broskve, banány, mrkev, fazole, brambory	83
ELISA I / ELISA II	pPL	50 / 200	400 / 2000–5000	voda	84,85
ELISA I / ELISA II	mPL	N / 0,01	0,13 / 0,058	jablka, rajčata, jablečkový a grepový džus, voda, okurky, jahody, brambory, pomeranče, papriky, dětská výživa	15,71, 86-90
<i>Methiokarb</i>					
ELISA I	mPL	N	0,044	dětská výživa, okurky, jahody	15, 89, 91
ELISA II / ELISA VI	mPL	N / N	0,12 / 0,16	dětská výživa, okurky, jahody	15, 89, 91
<i>Karbofuran</i>					
ELISA I / ELISA II	mPL	N / 0,2	0,7 / 1,8	jablka, rajčata, jablečkový a grepový džus, voda, okurky, jahody, brambory, pomeranče, papriky, dětská výživa	89,92, 93
ELISA IV komerční souprava	pPL	0,056 / 5,6	N	voda / zemina	74
ELISA IV komerční souprava	pPL	N	N	hovězí játra	94
ELISA V komerční souprava	pPL	N	N	mleté maso a játra	72

^aN – neuvedeno; pPL – polyklonální protilátka; mPL – monoklonální protilátka; ELISA I – přímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázána protilátka; ELISA II – nepřímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázán antigen; ELISA III – dipstik; ELISA IV – přímá kompetitivní ELISA, na magnetických částicích navázána protilátka; ELISA V – přímá kompetitivní ELISA, na stěnách zkumavky vázána protilátka; ELISA VI – přímá kompetitivní ELISA, na mikrotitrační destičky vázán antigen

Tabulka IV

Přehled hlavních charakteristik komerčních souprav ELISA pro analýzu organochlorových a karbamátových pesticidů uvedených v různých dokumentech firem Strategic Diagnostics, Inc., Abraxis a EnviroLogix

Pesticid	Formát ^a	Rozmezí kvantifikace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Matrice vzorku
Aldikarb	I	1–100	vzorky vody, půdy, potravin
Kaptan	I	0,08–3	vzorky vody
Karbaryl	I	0,4–5	vzorky vody, půdy, potravin
Karbofuran	I	0,1–5	vzorky vody, půdy, potravin
Cyklodieny	I	0,6–26,6	vzorky vody
Aldikarb	II	5–100	vzorky vody
Chlordan	II	20–600	vzorky půdy
Cyklodieny	II	10–100	vzorky vody
DDT	II	0,2–10	vzorky půdy
Lindan	II	0,4–40	vzorky půdy
Aldikarb	III	1–20	vzorky vody
Cyklodieny	III	1–100	vzorky vody
	III	5–100	vzorky vody
DDT	III	1,25–75	vzorky vody, půdy, sediment, rybí plazma
	III	0,025–0,875	vzorky půdy
Endosulfan	III	0,25–25	vzorky vody, půdy, sediment, rybí plazma
	III	0,075–1	vzorky vody

^aFormát: I – protilátky navázané na magnetické částice, II – protilátky navázané na stěny zkumavek, III – protilátky navázané na mikrotitračních destičkách s 96 jamkami

6. Validace imunoanalýz

Na desítkách pesticidů bylo ukázáno, že imunoanalýzy jsou dobrou alternativou ke konvenčním metodám pro svou vysokou specifitu a citlivost a pro nižší náklady na stanovení. Validace imunoanalýzy by měla být integrální součástí vývoje metody. Při analýzách určitých typů vzorků bylo dosaženo vysoké korelace mezi výsledky imunoanalýzy a konvenční metody^{95–97}. Řada státních i profesních organizací (především v USA a v Evropě) z oblasti kontroly potravin a životního prostředí a z oblasti analytické chemie (EPA, AOAC, FSIS, UK ESCA, GISG) dává závazná písemná doporučení pro evaluaci imunoanalýz a kontroluje validační protokoly u komerčních souprav. Na seznamu validovaných oficiálních metod podle EPA a AOAC pro stanovení určitých pesticidů v určitém typu vzorku je již imunoanalýza uvedena ve více než dvaceti případech (včetně DDT, pentachlorfenolu, chlordanu).

Imunoanalýzu analytu je nutno ověřit pro každý typ vzorku zvlášť, aby se předešlo nežádoucím nespecifickým interakcím složek matrice vzorku s protilátkami, které by

mohly ovlivňovat získané výsledky stanovení (např. způsobovat falešně pozitivní či falešně negativní hodnocení kontaminace sledované komodity)^{56,98}. Předpokládat bez ověření, že selektivita protilátek je natolik vysoká, že nedovolí zmíněný projev matrice, je nekorektní. Ostatně takový vliv matrice je nutné eliminovat i u konvenčních metod⁹⁹.

7. Budoucnost imunoanalýz pesticidů

Popularita imunochemických metod při stanovení pesticidů se zvyšuje, jak se tyto metody stále více přeměňují z výzkumného nástroje v rutinní techniku, a jak jsou komerčními výrobci nabízeny v širší škále kompletní analytické soupravy. (Přehled souprav ke stanovení organochlorových a karbamátových pesticidů je uveden v tabulce IV).

Zatímco mezi současnými aplikacemi imunoanalýz při stanovení pesticidů naprosto převažuje ELISA, lze v budoucnu očekávat četnější aplikace imunoafinitní chro-

matografie, ať již v podobě LFIA nebo kolonek pro imunoextrakci při kombinovaném použití konvenčních analytických postupů a imunosorbentu.

Vzhledem k značnému úsilí vynaloženému na vývoj imunosenzorů roste i počet publikací o multianalytových imunosenzorech⁷⁹, ať již v provedení tyčinek⁸², protilátkový mikroarray^{100,101}, svazku kapilár¹⁰² nebo dokonce komerčního přístroje^{103,104}. Zavedení takových zařízení do analytické praxe by bylo z hlediska efektivity výkonu laboratoře velice prospěšné.

Vedle již naprosto běžně používaných monoklonálních protilátek určitě při immunoanalýze pesticidů naleznou širší uplatnění rekombinantní protilátky^{105,106}. Při jejich přípravě lze genovými manipulacemi snáze ovlivňovat specifitu protilátek než změnou struktury imunogenů při přípravě polyklonálních protilátek či selekcí hybridomů u monoklonálních protilátek.

LITERATURA

1. Cremlyn R.: *Pesticidy*. SNTL, Praha 1985.
2. Gupta R. C.: *J. Toxicol. Env. Health* **43**, 383 (1994).
3. Hajšlová J., Kocourek V., Poustka J., Cuhra P.: *Chem. Listy* **92**, 777 (1998).
4. Káš J.: *Biochemie životního prostředí*. VŠCHT, Praha 1996.
5. Hajšlová J., Schoula R., Holadová K., Poustka J.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **60**, 163 (1995).
6. Kondo H., Amakawa E., Sato H., Aoyagi Y., Yasuda K.: *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* **44**, 161 (2003).
7. Tadeo J. L., Sanchez-Brunete C.: *Chromatographia* **57**, 793 (2003).
8. Lehotay S. J., Hajšlová J.: *Trac-Trends Anal. Chem.* **21**, 686 (2002).
9. Prados-Rosales R. C., Garcia J. L. L., de Castro M. D. L.: *J. Chromatogr., A* **993**, 121 (2003).
10. Inoue T., Sasaki S., Uchikawa S., Hirahara Y., Shio-mi Y., Tonogai Y.: *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* **44**, 310 (2003).
11. Kim B., Kim D. H., So H. Y.: *Anal. Lett.* **36**, 175 (2003).
12. Svoboda I.: *Chem. Listy* **79**, 943 (1985).
13. Fernández M., Picó Y., Manes J.: *J. Chromatogr., A* **871**, 43 (2000).
14. Zrostlíková J., Hajšlová J., Kovalczuk T., Stepan R., Poustka J.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **86**, 612 (2003).
15. Mičková B., Zrostlíková J., Hajšlová J., Rauch P., Moreno M. J., Abad A., Montoya A.: *Anal. Chim. Acta* **495**, 123 (2003).
16. Yang S. S., Goldsmith A. I., Smetena I.: *J. Chromatogr., A* **754**, 3 (1996).
17. Zrostlíková J.: *Dizertační práce*. VŠCHT, Praha 2003.
18. Fukal L., Rauch P., Káš J.: *Chem. Listy* **82**, 959 (1988).
19. Fukal L., Káš J.: *Trends Anal. Chem.* **8**, 112 (1989).
20. Kaufman B. M., Clower M. Jr.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **74**, 239 (1991).
21. Hennion M. C., Barcelo D.: *Anal. Chim. Acta* **362**, 3 (1998).
22. Spinks C. A.: *Trends Food Sci. Technol.* **11**, 210 (2000).
23. Alcocer M. J. C., Dillon P. P., Manning B. M., Doyen C., Lee H. A., Dayly S. J., O'Kennedy R., Morgan M. R. A.: *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2228 (2000).
24. Kim Y. J., Cho Y. A., Lee H. S., Lee Y. T., Gee S. J., Hammock B. D.: *Anal. Chim. Acta* **475**, 85 (2003).
25. Králová B., Fukal L., Rauch P., Ruml T.: *Bioanalytické metody*. VŠCHT, Praha 2001.
26. Rule G. S., Mordehai A. V., Henion J.: *Anal. Chem.* **66**, 230 (1994).
27. Stevenson D.: *J. Chromatogr., B* **745**, 39 (2000).
28. Vera-Avila L. E., Rangel-Ordóñez L., Covarrubias-Herrera R.: *J. Chromatogr. Sci.* **41**, 480 (2003).
29. Nelson M. A., Gates A., Dodlinger M., Hage D. S.: *Anal. Chem.* **76**, 805 (2004).
30. Skerritt J. H., Hill A. S., Rao R. B. S., Beasley H. L., Rani B. E. A., Kumari C. G. U., Vijayashankar Y. N., Venugopal N. B. R. K., Karanth N. G. K.: *Food Agric. Immunol.* **15**, 17 (2003).
31. Weetall H. H., Rogers K. R.: *Anal. Lett.* **35**, 1341 (2002).
32. O'Keefe M., Crabbe P., Salden M., Wichers J., Van Peteghem C., Kohen F., Pieraccini G., Moneti G.: *J. Immunol. Methods* **278**, 117 (2003).
33. Leung W. M., Chan P. Y., Bosgoed F., Lehmann K., Renneberg K., Lehmann M., Renneberg R.: *J. Immunol. Methods* **281**, 109 (2003).
34. Anfossi L., Giraudi G., Tozzi C., Giovannoli C., Bag-giani C., Vanni A.: *Anal. Chim. Acta* **506**, 87 (2004).
35. O'Keefe M., Crabbe P., Salden M., Wichers J., Van Peteghem C., Kohen F., Pieraccini G., Moneti G.: *J. Immunol. Methods* **278**, 117 (2003).
36. Qian S., Bau H. H.: *Anal. Biochem.* **322**, 89 (2003).
37. Skládal P.: *Habilitační práce*. Masarykova Univerzita v Brně, Brno 1999.
38. Lippa P. B., Sokoll L. J., Chan D. W.: *Clin. Chim. Acta* **314**, 1 (2001).
39. Jeong M. L., Chesney D. J.: *Anal. Chim. Acta* **389**, 53 (1999).
40. Sadik O. A., Van Emon J. M.: *Biosens. Bioelectron.* **11**, 1 (1996).
41. Ghindilis A. L., Atanasov P., Wilkins M., Wilkins E.: *Biosens. Bioelectron.* **13**, 113 (1998).
42. Banerjee B. D., Pasha S. T., Koner B. C.: *Med. Sci. Res.* **24**, 553 (1996).
43. Haas G. J., Guardia E. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **129**, 546 (1968).
44. Burgusser D., Frey S., Gutte B., Klauser S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **166**, 1228 (1990).
45. Abad A., Manclus J. J., Mojarrad F., Mercader J. V., Miranda M. A., Primo J., Guardiola V., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* **45**, 3694 (1997).
46. Fillmann G., Galloway T. S., Sanger R. C., Depledge M. H., Readman J. W.: *Anal. Chim. Acta* **461**, 75

- (2002).
47. Zajicek J. L., Tillitt D. E., Schwartz T. R., Schmidt C. J., Harrison R. O.: *Chemosphere* 40, 539 (2000).
 48. Beasley H. L., Pasha A., Guihot S. L., Skerritt J. H.: *Food Agric. Immunol.* 12, 203 (2000).
 49. Kawar N. S., Dagher S. M., Chammas G. I.: *J. Environ. Sci. Health, Part B* 36, 765 (2001).
 50. Meulenbergh E. P., Mulder W. H., Stoks P. G.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 553 (1995).
 51. Brummel K. E., Wright J., Eldefrawi M. E.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 3292 (1997).
 52. Hong J. Y., Kim J. H., Park S. J., Lho D. S., Choi M. J.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 24, 1605 (2003).
 53. Giraudi G., Baggiani, Cosmaro A., Santia E., Vanni A.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 235 (1998).
 54. Valentini F., Compagnone D., Giraudi G., Palleschi G.: *Anal. Chim. Acta* 487, 83 (2003).
 55. Beasley H. L., Phongkham T., Daunt M. H., Guihot S. L., Skerritt J. H.: *J. Agric. Food Chem.* 46, 3339 (1998).
 56. Skerritt J. H., Hill A. S., Rao R. B. S., Beasley H. L., Rani B. E. A., Kumari C. G. U., Vijayashankar Y. N., Venugopal N. B. R. K., Karanth N. G. K.: *Food Agric. Immunol.* 15, 17 (2003).
 57. Shivaramaiah H. M., Odeh I. O. A., Kennedy I. R., Skerritt J. H.: *J. Agric. Food Chem.* 50, 5360 (2002).
 58. Maestroni B. M., Skerritt J. H., Ferris I. G., Ambrus A.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 84, 134 (2001).
 59. Larkin K. A., Matt J. J., Ferguson B. S.: *Abstracts Papers of the American Chemical Society* 207, 100 (1994).
 60. Castro J., Sánchez-Brunete C., Tadeo J. L.: *J. Chromatogr., A* 918, 371 (2001).
 61. Castro J., Pérez R. A., Miguel E., Sánchez-Brunete C., Tadeo J. L.: *J. Chromatogr., A* 947, 119 (2002).
 62. Botchkareva A. E., Fini F., Eremin S., Mercader J. V., Montoya A., Girotti S.: *Anal. Chim. Acta* 453, 43 (2002).
 63. Botchkareva A. E., Eremin S. A., Montoya A., Manclaus J. J., Mičková B., Rauch P., Fini F., Girotti S.: *J. Immunol. Methods* 283, 45 (2003).
 64. Lee N. J., Skerritt J. H., Mcadam D. P.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 1730 (1995).
 65. Lee N. J., Beasley H. L., Kimber S. W. L., Silburn M., Woods N., Skerritt J. H., Kennedy I. R.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 4147 (1997).
 66. Lee N., Skerritt J. H.: *Food Agric. Immunol.* 10, 3 (1998).
 67. Crossan A. N., Lee N., Sharma R., Kennedy I. R., Beckett R.: *Anal. Chim. Acta* 468, 199 (2002).
 68. Reck B., Frevert J.: *ACS Symp. Ser.* 442, 193 (1990).
 69. Dreher R. M., Podratzki B.: *J. Agric. Food Chem.* 36, 1072 (1988).
 70. Wigfield Y. Y., Grant R.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 49, 342 (1992).
 71. Abad A., Montoya A.: *Anal. Chim. Acta* 311, 365 (1995).
 72. Yang S. S., Goldsmith A. I., Smetena I.: *J. Chromatogr., A* 754, 3 (1996).
 73. Lehotay S. J., Argauer R. J.: *J. Agric. Food Chem.* 41, 2006 (1993).
 74. Itak J. A., Olson E. G., Fleeker J. R., Herzog D. P.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 260 (1993).
 75. Jourdan S. W., Scutellaro A. M., Fleeker J. R.: *J. Agric. Food Chem.* 43, 2784 (1995).
 76. Abad A., Moreno M. J., Montoya A.: *Anal. Chim. Acta* 347, 103 (1997).
 77. Nam K. S., King J. W.: *J. Agric. Food Chem.* 42, 1469 (1994).
 78. Penalva J., Gabaldon J. A., Maquieira A., Puchades R.: *Food Agric. Immunol.* 12, 101 (2000).
 79. Gonzalez-Martinez M. A., Puchades R., Maquieira A.: *Anal. Chim. Acta* 432, 4326 (2001).
 80. Penalva J., Puchades R., Maquieira A., Gee S., Hammock B. D.: *Biosens. Bioelectron.* 15, 99 (2000).
 81. Moreno M. J., Abad A., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 72 (2001).
 82. Gabaldon J. A., Cascales J. M., Morias S., Maquieira A., Puchades R.: *Food Addit. Contam.* 20, 707 (2003).
 83. Wang S., Allan R. D., Hill A. S., Kennedy I. R.: *J. Environ. Sci. Health, Part B* 37, 521 (2002).
 84. Nunes G. S., Marco M. P., Ribeiro M. L., Barcelo D.: *J. Chromatogr., A* 823, 109 (1998).
 85. Marco M. P., Gee S. J., Cheng H. M., Liang Z. Y., Hammock B. D.: *J. Agric. Food Chem.* 41, 423 (1993).
 86. Marco M. P., Chiron S., Gascon J., Hammock B. D., Barcelo D.: *Anal. Chim. Acta* 311, 319 (1995).
 87. Abad A., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 42, 1818 (1994).
 88. Abad A., Primo J., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 1486 (1997).
 89. Abad A., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 1495 (1997).
 90. Abad A., Moreno M. J., Pelegri R., Martinez M. I., Saez A., Gamon M., Montoya A.: *J. Chromatogr., A* 833, 3 (1999).
 91. Abad A., Moreno M. J., Montoya A.: *Anal. Chim. Acta* 347, 103 (1997).
 92. Abad A., Moreno M. J., Pelegri R., Martinez M. I., Saez A., Gamon M., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 1707 (2001).
 93. Moreno M. J., Abad A., Pelegri R., Martinez M. I., Saez A., Gamon M., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 49, 1713 (2001).
 94. Abad A., Moreno M. J., Montoya A.: *J. Agric. Food Chem.* 47, 2475 (1999).
 95. Ibrahim A. M. A., Ragab A. A., Morsy M. A., Hewedi M. M., Smith C. J.: *Food Agric. Immunol.* 6, 39 (1994).
 96. Bushway R. J., Perkins L. B., Fukal L., Harrison R. O., Ferguson B. S.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21, 365 (1991).
 97. Bashour I. I., Dagher S. M., Chammas G. I., Kawar N. S.: *J. Environ. Sci. Health, Part B* 38, 111 (2003).

98. Rauch P., Viden I., Davidek T., Velišek J., Fukal L.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72, 1015 (1989).
99. Hajšlová J., Zrostliková J.: J. Chromatogr., A 1000, 181 (2003).
100. Belleville E., Dufva M., Aamand J., Brunn L., Christensen C. B. V.: Biotechniques 35, 1044 (2003).
101. Kido H., Maquieira A., Hammock B. D.: Anal. Chim. Acta 411, 1 (2000).
102. Mastichiadis C., Kakabakos S. E., Christofidis I., Koupparis M. A., Willwits C., Misiakos K.: Anal. Chem. 74, 6064 (2002).
103. Rodriguez-Mozaz S., Reder S., Dealda M. L., Gauglitz G., Barcelo D.: Biosens. Bioelectron. 19, 633 (2004).
104. Barzen C., Brecht A., Gauglitz G.: Biosens. Bioelectron. 17, 289 (2002).
105. Yau K. Y. F., Lee H., Hall J. C.: Biotechnol. Adv. 21, 599 (2003).
106. Kramer K., Hock B.: Anal. Bioanal. Chem. 377, 417 (2003).

B. Mičková, P. Rauch, and L. Fukal (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Possibilities of Immunochemical Determination of Organochlorine and Carbamate Pesticides**

Immunoassay is recognized as a promising method for screening environmental contaminants. The article deals with principles and practical applications of immunochemical methods in pesticide analysis. An overview is given of organochlorine and carbamate pesticides for which immunoassays, in particular the ELISA test, were developed, including commercially available kits. In addition, a survey is given on further developments of existing or new immunoassays and on the application of immunochemistry in other fields (immunoaffinity chromatography, immunosensors).

Seznam zkratek

DDA	2,2-bis(4-chlorfenyl)octová kyselina
DDT	1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
LFIA	lateral flow immunoassay
I_{50}	bod 50% inhibice

Dovolte mi, abych Vás upozornil na nově vycházející knihu, kterou vydává Katedra organické chemie PřF UP v Olomouci ve spolupráci s Ústavem organické chemie a biochemie AVČR a vydavatelstvím UP v Olomouci

Principy bioorganické chemie ve vývoji antivirotik a cytostatik

autora pana **doc. RNDr. Antonína Holého, Dr.Sc., Dr.h.c.**

Bližší informace o této knize najdete na adrese www.orgchem.upol.cz

doc. RNDr. Jan Hlaváč, Ph.D.
Katedra organické chemie PřF UP Olomouc

HYDROGENAČNÍ DEOXYGENACE AROMATICKÝCH KETONŮ A ALDEHYDŮ

MARTINA BEJBLOVÁ a LIBOR ČERVENÝ

Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická,
Technická 5, 166 28 Praha 6
martina.bejblova@vscht.cz, libor.cervený@vscht.cz

Došlo 17.10.03, přepracováno 1.4.04, přijato 13.5.04.

Klíčová slova: hydrogenace, hydrogenolýza, heterogenní katalýza, karbonylové sloučeniny, Pd katalyzátory

Obsah

1. Úvod
2. Přeměna C=O skupiny na CH₂, resp. CH₃ skupinu
 - 2.1. Katalyzátory hydrogenační deoxygenace
3. Mechanismus přeměny karbonylové skupiny na methylenovou resp. methylenovou
 - 3.1. Mechanismus hydrogenačně-dehydratační
 - 3.2. Mechanismus hydrogenačně-hydrogenolytický
 - 3.3. Přímá hydrogenolýza vazby C=O
4. Závěr

1. Úvod

Redukce karbonylové skupiny aldehydů a ketonů vede ve většině případů ke vzniku hydroxyskupiny nebo methylové, resp. methylenové skupiny. V literatuře chybí komplexní zpracování možných způsobů redukce karbonylových sloučenin na odpovídající uhlovodíky.

Mezi dva nejstarší postupy redukce C=O skupiny aldehydů a ketonů na CH₃ resp. CH₂ skupinu, dodnes však používané, patří Clemmensenova redukce a Wolffova-Kižněrova redukce. Clemmensenova redukce probíhá při zahřátí aldehydu nebo ketonu s amalgámem zinku v prostředí kyseliny chlorovodíkové^{1,2}. Při Wolffově-Kižněrově redukci se karbonylové sloučeniny zahřívají s hydrazinem v přítomnosti báze (nejčastěji hydroxid sodný nebo draselný)^{3–5}.

Pro redukci karbonylové skupiny na methylenovou je používána řada dalších činidel. Mezi ně patří triisopropylfosfit P(O-i-Pr)₃ (cit.⁶), LiAlH₄-AlCl₃ (cit.^{7,8}), LiAlH₄-CpTiCl₃ (cit.^{9,10}) (Cp = cyklopentadienyl), LiAlH₄-P₂I₄ (cit.¹¹), NaBH₄-AlCl₃ (cit.^{12,13}), Et₃SiH-CF₃SO₃H (cit.¹⁴), Et₃SiH-CF₃COOH (cit.¹⁵), Et₃SiH-AlCl₃ (cit.¹⁶) aj.

V neposlední řadě k těmto redukčním vedou katalytické hydrogenace. Katalytické hydrogenace karbonylových sloučenin bývají nejčastěji využívány k přípravě odpovídajících alkoholů, přičemž hydrogenace aldehydů na primární alkoholy probíhají obvykle snadněji než hydrogenace ketonů, u kterých svou roli hraje sterické stínění reagující

skupiny. Další redukce alkoholu vodíkem na uhlovodík je závislá na jeho struktuře, reakčních podmínkách, katalyzátoru a reakčním prostředí.

K deoxygenaci může ovšem také vést přímá hydrogenolýza vazby C=O. Hydrogenolýza vazby C=O obvykle neprobíhá u alifatických karbonylových sloučenin^{17,18}.

2. Přeměna skupiny C=O na CH₂ nebo CH₃ skupinu

Katalytické hydrogenace karbonylových sloučenin spolehlivě vedou ke vzniku hydroxysloučenin. Někdy je však žádoucí převést skupinu C=O až na CH₂ nebo CH₃ skupinu, tedy provést deoxygenaci výchozí látky.

Snadnost této přeměny je ovlivněna strukturou látky (tento typ přeměn je popsán především pro aromatické a cyklické aldehydy a ketony) a reakčním prostředím. Většina těchto hydrogenací je katalyzována tuhým katalyzátorem a provádí se v rozpouštědle, k němuž bývá velmi často přidávána silná kyselina, která napomáhá požadované přeměně a omezuje vznik alkoholu jako konečného produktu. Používají se jak anorganické kyseliny (HCl, H₂SO₄, HClO₄)^{19–22}, tak i kyseliny organické (kyselina octová – nejširší použití v těchto reakcích)^{19,21,23–26}. Použití kyselin sebou samozřejmě přináší vyšší korozivní působení, a proto dnes bývají nahrazovány anorganickými heterogenními kyselými katalyzátory, především na bázi zeolitů. Použity byly například zeolity ZSM-5 (cit.^{27–29}), mordenit (cit.²⁷), beta (cit.^{27,30}), Y (cit.²⁷), faujasit (cit.^{30,31}), MCM-41 (cit.³⁰), K-10 montmorillonit³².

Lansink-Rotgerink a spol.²⁷ porovnávali aktivitu a selektivitu hydrogenace skupiny C=O na skupinu CH₂ s katalyzátory se zeolitovými nosiči oproti běžným postupům s katalyzátorem naneseným na aktivní uhlí a přidávkem H₂SO₄ k reakční směsi. Katalyzátory se zeolitovými nosiči se ukázaly při těchto přeměnách aktivnější a selektivnější. Provedeno bylo i srovnání různých kyselých nosičů (zeolity oproti SiO₂). Katalyzátory s méně kyselými nosiči vykazovaly menší aktivitu.

Většina reakcí bývá prováděna v rozpouštědlech. Jde buď o alkoholická rozpouštědla (nejčastěji methanol^{19,22,23,33,34}, ethanol^{20,27}, 2-methyl-2-propanol^{34–36}, 2-propanol^{23,34,37}) nebo jiná rozpouštědla obsahující kyslík (např. ethylacetát^{34,38}, dioxan³⁴, kyselina octová^{26,39}). Druhým typem používaných rozpouštědel jsou alkyly (hexan⁴⁰, pentadekan³⁷, apod.).

Závislostí rychlosti hydrogenace některých karbonylových sloučenin (acetofenon, benzaldehyd) na použitím rozpouštědle se zabýval Baltzly²³. Použil methanol neutrální, okyselený HCl, HClO₄ nebo se zbytkovou kyselostí z přípravy katalyzátoru, s různě velkým přidávkem destilované vody. Při použití 3% Pd/C jako katalyzátoru klesala

reakční rychlost s rostoucím obsahem vody a v okyselených rozpouštědlech byla vyšší než v neutrálních²³.

2.1. Katalyzátory hydrogenační deoxygenace

Redukce karbonylové skupiny aldehydů a ketonů vodíkem na methylovou, resp. methylenovou skupinu bývají nejčastěji katalyzovány katalyzátorem Pd/C (cit.^{19,20,24–26,37,41}). Palladium je neaktivnějším kovem pro tyto hydrogenolytické reakce a pro hydrogenaci dvojných vazeb konjugovaných s aromatickým kruhem (látky typu: Ar-C=C, Ar-C=O, Ar-C=NR). Při nízké teplotě je neaktivní pro hydrogenace aromatických kruhů a vykazuje nízkou aktivitu pro hydrogenace alifatických aldehydů a ketonů⁴².

Reakce obvykle probíhají za mírných podmínek (teploty do 80 °C, tlaky do 0,5 MPa), v alkoholických rozpouštědlech okyselených kyselinou octovou nebo anorganickou kyselinou nebo bývá kyselina octová použita přímo jako rozpouštědlo.

Sajiki, Hattori a Hirota^{43,44} hydrogenovali nejrůznější aromatické ketony a aldehydy s použitím katalyzátoru 10% Pd/C a dále komplexu 10% Pd-ethylendiamin/C. Hydrogenace na komerčním katalyzátoru Pd/C vedla u testovaných aromatických ketonů a aldehydů ke vzniku odpovídajícího alkylaromátu, kdežto reakce katalyzované komplexem 10% Pd-ethylendiamin/C poskytovaly ve vysokých výtěžcích (více než 90 %) odpovídající alkohol. Autoři rovněž zjistili^{43,44}, že komplex Pd-ethylendiamin/C má menší katalytickou aktivitu, neboť koordinovaný ethylendiamin působí jako slabý katalytický jed.

Aktivní uhlí však není jediným nosičem palladia, které se pro tyto přeměny používá. Dalšími materiály jsou např. Al₂O₃, SiO₂ – Al₂O₃, SiO₂ (cit.^{27,45,46}), zeolity^{27,30,31} apod.

Abu-Reziq a spol.⁴⁰ použili pro redukci aromatických ketonů na odpovídající alkany komplex Pd-[RhCl(cod)]₂, kde cod značí cyklooktadienyl. Reakce byly vedeny v autoklávu při tlaku 3 MPa a teplotě 80 °C v heptanu. Po dlouhé reakční době (24–72 h, podle druhu ketonu) byly získány produkty s karbonylovou skupinou přeměněnou na skupinu CH₂, ale i s hydrogenovaným aromatickým kruhem. Například hydrogenací acetofenonu za uvedených podmínek byl získán ethylcyklohexan ve výtěžku 79 %.

Redukcí aromatických ketonů a aldehydů na odpovídající nasycené uhlovodíky se zabývali i Kogan a spol.⁴⁷, kteří využili katalytické vlastnosti polyoxometalátů obsahujících Pd. Polyoxometaláty se jako katalyzátory začínají uplatňovat teprve v posledních dvaceti letech. Hydrogenací zkoumaných karbonylových sloučenin s 10 % sloučeniny K₅PPdW₁₁O₃₉ zakotvené na aktivním uhlí při 0,3 MPa

a 200 °C v pentadekanu se zredukovala skupina C=O na CH₂, ale došlo i k nasycení aromatického kruhu.

Kromě palladia byly ke katalytickým redukci karbonylových skupin aldehydů a ketonů na odpovídající uhlovodíky použity i další kovy a jejich sloučeniny, například CuCr (cit.³³), Fe (cit.⁴⁸), Ni/Al₂O₃ (cit.⁴⁹) nebo sulfidy^{50–52} W, Mo, CoMo, NiMo. Použití těchto pro hydrogenace a hydrogenolýzy karbonylových sloučenin méně aktivních kovů s sebou nese nutnost pracovat za tvrdších reakčních podmínek, za teploty 200–300 °C a tlaku až 15 MPa. Platina byla pro tento druh reakcí použita nanesená na zeolitech^{28,29,32} nebo ve formě platinové černi^{35,36}. Katalytický efekt může být modifikován přidávkem promotorů (prvky z IV. A skupiny – Sn, Ge, Pb, In)⁵³.

3. Mechanismus přeměny karbonylové skupiny na methylenovou

Katalytická redukce karbonylové skupiny vodíkem na methylenovou skupinu může probíhat třemi mechanismy:

- hydrogenačně-dehydratačním mechanismem
- hydrogenačně-hydrogenolytickým mechanismem
- přímou hydrogenolýzou vazby C=O

3.1. Mechanismus hydrogenačně-dehydratační

Přeměny skupiny C=O na skupinu CH₂ mechanismem hydrogenačně-dehydratačním vyžadují přítomnost kyselého prostředí nebo bifunkčního katalyzátoru^{31,32}. Bifunkční katalyzátor se skládá z kovové hydrogenační složky a kyselého nosiče, přičemž obě součásti katalyzátoru se podílejí na reakci.

Při redukci karbonylové skupiny na methylenovou v přítomnosti bifunkčního katalyzátoru nejprve hydrogenační složka (Pd, Pt) katalyzuje redukci skupiny C=O na hydroxyskupinu, poté následuje odštěpení vody vlivem kyselosti nosiče za vzniku vazby C=C, která je v posledním stupni hydrogenována (viz schéma 1).

Příkladem katalyzátorů podporující tento mechanismus jsou Pt/K-10 montmorillonit³², Pd nanesené na β-zeolitech, faujasitu, MCM 41 (cit.^{30,31}) nebo Pt/ZSM-5 (cit.^{28,29}).

Kyselá složka může ovšem při redukci karbonylové skupiny působit i v řadě vedlejších kyselé katalyzovaných katalyzovaných reakcí – aldolizaci, dimerizaci^{28,29,31}.

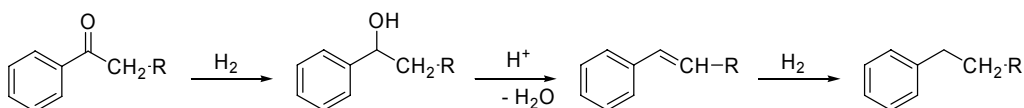


Schéma 1. Přeměna aromatických ketonů na alkylaromáty s použitím bifunkčních katalyzátorů

3.2. Mechanismus hydrogenačně-hydrogenolytický

Druhým možným mechanismem vzniku uhlovodíků z karbonylových sloučenin je mechanismus hydrogenačně-hydrogenolytický, který vyžaduje katalyzátory a prostředí podporující hydrogenolytické štěpení. Palladium je nejaktivnější kov pro hydrogenolytické reakce, hydrogenolýze napomáhá rovněž kyselé prostředí nebo kyselý nosič.

Tento mechanismus byl popsán pro aromatické ketony typu ArCOR (cit.^{26,27}) a pro cyklohexandiony^{35,36}. Skládá se ze dvou stupňů – nejprve je karbonylová skupina ketonů hydrogenována na odpovídající alkohol, poté následuje hydrogenolýza vazby C–OH za vzniku příslušného uhlovodíku (viz schéma 2).

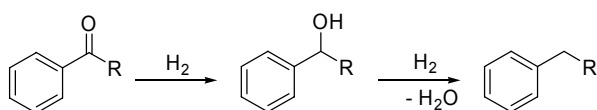


Schéma 2. Přeměna aromatických ketonů hydrogenačně-hydrogenolytickým mechanismem

3.3. Přímá hydrogenolýza vazby C=O

Třetím teoreticky možným mechanismem přeměny skupiny C=O na skupinu CH₂ je přímé štěpení vazby C=O vodíkem (viz schéma 3).

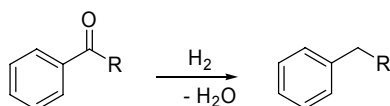


Schéma 3. Hydrogenolytické štěpení karbonylových sloučenin

Mechanismus přímé hydrogenolýzy karbonylových sloučenin na odpovídající uhlovodíky je nejméně pravděpodobný. Reziq a spol.⁴⁰ se zabývali hydrogenolýzou celé řady karbonylových sloučenin a tento mechanismus prokázali pouze u přeměny benzofenonu na dicyklohexylmethan za použití katalyzátoru Pd-[RhCl(cod)]₂ při teplotě 80 °C a tlaku 3 MPa v heptanu, kde v prvním stupni prokázali hydrogenolytické štěpení vazby C=O benzofenonu za vzniku difenylmethanu.

4. Závěr

Katalytické hydrogenace karbonylových sloučenin vedou ke vzniku alkoholů. Při vhodně zvolených reakčních podmínkách může hydrogenace vést až ke vzniku methylové či methylenové skupiny.

Existují tři možné mechanismy katalytické redukce karbonylové skupiny vodíkem na methylenovou skupinu.

Hydrogenačně-dehydratační, při kterém se po hydrogenaci karbonylu na alkohol odštěpuje voda za vzniku vazby C=C, která se v posledním stupni hydrogenuje. Druhým možným mechanismem vzniku skupiny CH₂ ze skupiny C=O je hydrogenolýza, při které se vazba C–OH štěpí vodíkem. Při redukci hydrogenolytickým mechanismem se nejprve karbonylová skupina aldehydů nebo ketonů hydrogenuje na odpovídající alkohol a poté následuje hydrogenolytické štěpení vazby C–OH. Teoreticky možné je i přímé hydrogenolytické štěpení vazby C=O karbonylových sloučenin.

Redukci karbonylové skupiny lze ovlivnit volbou katalyzátoru, nosiče i rozpouštědla, přičemž přeměnu karbonylových sloučenin na odpovídající uhlovodíky podporují kyselé nosiče a rozpouštědla s přidavkem kyseliny. Nejaktivnějším kovem pro hydrogenolytické reakce je palladium.

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky za finanční podporu tohoto projektu (No.203/03/0804).

LITERATURA

- Risinger G. E., Mach E. E., Barnett K. W.: Chem. Ind. (London) 16, 679 (1965).
- Reeves W. P., Murry J. A., Willoughby D. W., Friedrich W. J.: Synth. Commun. 18, 1961 (1988).
- March J.: *Advanced Organic Chemistry*, 4. vydání. Wiley, New York 1992.
- Gadhwal S., Baruah M., Sandhu J. S.: Synlett 10, 1573 (1999).
- Schmidt A. W., Hopp G., Schoeller V.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 72B, 1893 (1939).
- Olah G. A., Wu A.: Synlett 1, 54 (1990).
- Conover L. H., Tarbell D. S.: J. Am. Chem. Soc. 72, 3586 (1950).
- Austin R. P., Ridd J. H.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 6, 1972 (1993).
- Zhang Y., Wu S., Wang X.: Huaxue Shiji 14, 365 (1992), Chem. Abstr. 119, 72309 (1993).
- Zhang Y., Wu S., Wang X.: Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban: 27, 188 (1991), Chem. Abstr. 118, 168773 (1993).
- Suzuki H., Masuda R., Kubota H., Osuka A.: Chem. Lett. 6, 909 (1983).
- Ono A., Maruyama T., Suzuki N.: Synth. Commun. 17, 1001 (1987).
- Ono A., Suzuki N., Kamimura J.: Synthesis 1987, 736.
- Olah G. A., Arvanaghi M., Ohannesian L.: Synthesis 1986, 770.
- West Ch. T., Donnelly S. J., Kooistra D. A., Doyle M. P.: J. Org. Chem. 38, 2675 (1973).
- Kursanov D. N., Bolestova G. I., Ibatullin U. G., Kuramšina E. A., Parnes Z. N.: Ž. Org. Chim. 21, 2274 (1985).
- Augustine R. L.: *Catalytic Hydrogenation*. Marcel Dekker, New York 1965.

18. Rase H. F.: *Handbook of Commercial Catalysts, Heterogeneous Catalysts*. CRC Press, New York 2000.
19. Cromwell N. H., Cook K. E.: *J. Org. Chem.* **23**, 1327 (1958).
20. Wilt J. W., Scheider Ch. A.: *J. Org. Chem.* **26**, 4196 (1961).
21. Breitner E., Roginski E., Rylander P. N.: *J. Org. Chem.* **24**, 1855 (1959).
22. Kindler K., Scharfe E., Henrich P.: *Justus Liebigs Ann. Chem.* **565**, 51 (1949).
23. Baltzly R.: *J. Org. Chem.* **41**, 920 (1976).
24. Horning E. C., Reisner D. B.: *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 1036 (1949).
25. Hartung W. H., Crossley F. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **56**, 158 (1934).
26. Ofosu-Asante K., Stock L. M.: *J. Org. Chem.* **52**, 2938 (1987).
27. Lansink-Rotgering, DE 19,535,395, *Chem. Abstr.* **126**, 263926 (1997).
28. Alvarez F., Magnoux P., Ribeiro F. R., Guisnet M.: *J. Mol. Catal.* **92**, 67 (1994).
29. Melo L., Magnoux P., Giannetto G., Alvarez F., Guisnet M.: *J. Mol. Catal., A* **124**, 155 (1997).
30. Magnoux P., Lavaud N., Guisnet M.: *Top. Catal.* **13**, 291 (2000).
31. Lavaud N., Magnoux P., Alvarez F., Melo L., Giannetto G., Guisnet M.: *J. Mol. Catal. A: Chem.* **142**, 223 (1999).
32. Torok B., London G., Bartók M.: *Synlett* **5**, 631 (2000).
33. Nightingale D., Radford H. D.: *J. Org. Chem.* **14**, 1089 (1949).
34. Rylander P. N., Hasbrouck L.: *Engelhard Ind., Tech. Bull.* **8**, 148 (1968).
35. Chihara T., Teratani S., Hasegawa-Ohotoma M., Amemiya T., Taya K.: *J. Catal.* **90**, 221 (1984).
36. Chihara T., Shinzawa M., Yokoyama Y., Taya K., Ogawa H.: *React. Kinet. Catal. Lett.* **39**, 181 (1989).
37. Levine M., Temin S. C.: *J. Org. Chem.* **22**, 85 (1957).
38. Simon H., Berngruber O.: *Tetrahedron Lett.* **45**, 4711 (1968).
39. Mosby W. L.: *J. Org. Chem.* **18**, 485 (1953).
40. Abu-Reziq R., Avnir D., Blum J.: *J. Mol. Catal., A* **187**, 277 (2002).
41. Freifelder M.: *Practical Catalytic Hydrogenation: Techniques Application*. Wiley, New York 1971.
42. Blaser H. U., Indolese A., Schnyder A., Steiner H., Studer M.: *J. Mol. Catal., A* **173**, 3 (2001).
43. Sajiki H., Hattori K., Hirota K.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 4043.
44. Hattori K., Sajiki H., Hirota K.: *Tetrahedron* **57**, 4817 (2001).
45. Simons K., Griffin K., v knize: *Fine Chemicals through Heterogeneous Catalysis* (Sheldon R. A., van Bekkum H., ed.), kap. 8.2. Wiley-VCH, Weinheim 2001.
46. Chen H. W., Chen Ch. S.: *Catal. Lett.* **39**, 39 (1996).
47. Kogan V., Aizenshtat Z., Neumann R.: *New J. Chem.* **26**, 272 (2002).
48. Glebov L. S., Mikaya A. I., Yatsenko A. E., Zaikin V. G., Kliger G. A., Loktev S. M.: *Tetrahedron Lett.* **26**, 3337 (1985).
49. Maier W. F., Bergmann K., Bleicher W., Schleyer P. V. R.: *Tetrahedron Lett.* **22**, 4227 (1981).
50. Landa S., Weisser O.: *Chem. Listy* **50**, 569 (1956).
51. Landa S., Mostecký J.: *Chem. Listy* **49**, 67 (1955).
52. Laurent E., Delmon B.: *Appl. Catal., A* **109**, 77 (1994).
53. Ponc V.: *Appl. Catal. A: General* **149**, 27 (1997).

M. Bejblová and L. Červený (*Department of Organic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Hydrodeoxygenation of Aromatic Ketones and Aldehydes**

A review on catalytic hydrogenation and hydrogenolysis of aromatic ketones and aldehydes is presented. Possible mechanisms of the transformation of the carbonyl to methylene group, catalysts, supports and reaction conditions are given.

ODSTRAŇOVÁNÍ HALOGENOVANÝCH UHLOVODÍKŮ Z VODY ELEMENTÁRNÍM ŽELEZEM

PETR VAŠEK, JANA BÍŽOVÁ a VÁCLAV JANDA

Ústav technologie vody a prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
Vaclav.Janda@vscht.cz

Došlo 11.12.03, přijato 16.2.04.

Klíčová slova: halogenované uhlovodíky, železo, dekontaminace

Obsah

1. Úvod
2. Základní údaje
3. Praktické využití
4. Závěr

1. Úvod

Halogenované uhlovodíky představují jeden z nejnápadnějších problémů znečištění životního prostředí. Nejenom v České republice, ale prakticky po celém světě se vyskytují oblasti s velmi těžkou kontaminací především podzemních vod. Časté jsou i případy, kdy se koncentrace halogenovaného uhlovodíku ve vodě blíží hodnotě nasyceného roztoku a na nepropustném podloží vodonosné vrstvy spočívá organická fáze. Likvidace těchto starých zátěží, které vznikly haváriemi, nedbalostí, pracovní a technologickou nekázní, je velmi nákladná, a proto se hledají nové, efektivnější a především levnější způsoby jejich odstraňování.

V posledních několika letech jsou zkoumány parametry a možnosti technologického využití reakce kovového železa s halogenovanými uhlovodíky ve vodě. Sumární reakce je velmi prostá: za anaerobních podmínek redukuje kovové železo chlorované organické látky za vzniku chloridů. Předpokládá se, že na dehalogenaci se podílí dva základní reakční mechanismy:

1. Hydrogenolýza: $RX + 2e^- + H^+ = RH + X^-$
Při této reakci dochází u polychlorovaných látek k postupnému odstraňování organického halogenu přes níže chlorované meziproducty, přičemž rychlost reakce je nižší pro látky s nižším stupněm chlorace^{1,2}.
2. Reduktivní eliminace: $-CHX-CHX- + 2e^- = -CH=CH- + 2X^-$

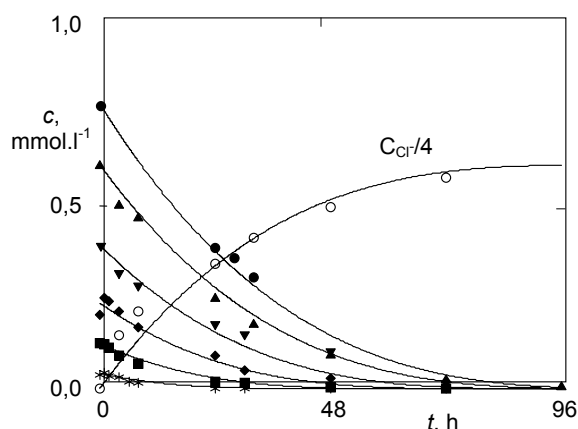
Zde je zapotřebí, aby atom halogenu byl přítomen na dvou sousedních atomech uhlíku. V obou případech slouží jako redukční činidlo kovové železo, které se oxiduje za anaerobních podmínek na Fe^{+II} .

2. Základní údaje

Průběh dehalogenační reakce byl studován především pro těkavé halogenované uhlovodíky. Při redukcí chlorovaných ethenů se při dechloraci uplatňují oba výše naznačené mechanismy. Převažuje však pravděpodobně druhý, takže meziproducty hydrogenolýzy se vyskytují ve vodě vždy v daleko nižší koncentraci než mateřské látky. To je zvláště důležité u vinylchloridu, který je toxičtější než trichlorethen a tetrachlorethen.

V nejjednodušším přiblížení lze sumárně rychlost odstraňování halogenovaných uhlovodíků popsat kinetikou prvního řádu³⁻⁷. Někteří autoři doporučují kombinaci kinetické rovnice 1. a 2. řádu⁵, popřípadě kinetické rovnice necelistvých řádů⁸. Na obr. 1 je uveden výsledek laboratorního experimentu s různou počáteční koncentrací tetrachlorethenu v demineralizované vodě. Přírůstek koncentrace chloridů ve vodě je kvůli přehlednosti obrázku uveden jen pro jednu koncentraci tetrachlorethenu. Křivky modelují rychlost reakce pomocí mocninné kinetiky⁸. Uspořádání pokusů bylo vsádkové, objem reaktoru 22 ml, hmotnost železa 5 g, jeho zrnění 150 μm , specifický povrch 0,66 $m^2 \cdot g^{-1}$, teplota 22 °C.

Protože se jedná o heterogenní reakci, je její rychlost přímo úměrná specifickému povrchu železa. Není prozatím jednoznačně zjištěno, který pochod je pro celkový průběh reakce limitující: adsorpce na povrchu železa nebo samotná chemická reakce. Hodnoty aktivačních energií jsou uváděny v rozmezích 30–80 $kJ \cdot mol^{-1}$ (cit.^{6,9}) podle typu halogenovaného uhlovodíku. Konečným produktem rozkladu jsou pak jednoduché uhlovodíky jako methan (v případě jednoválcových halogenovaných uhlovodíků) ethen, ethan a acetylen (v případě dvouválcových³⁻⁹) – viz



Obr. 1. Úbytek tetrachlorethenu ve vodě reakcí s kovovým železem

Tabulka I

Zastoupení plynných produktů (v molárních procentech) rozkladu trichlorethenu během vsádkového laboratorního experimentu¹⁰ v závislosti na době reakce

Čas [h]	Složení [mol. %]									
	methan	ethan	ethen	propan	propen	butan	cis-2- -buten	trans-2- -buten	1-buten	isobutan
6	0,0	20,2	64,2	1,7	2,3	2,5	1,4	4,1	1,2	2,4
24	0,6	35,1	48,3	2,0	2,9	2,7	1,4	4,1	0,5	2,5
72	2,5	81,0	1,1	2,9	2,4	3,6	1,4	2,4	0,4	2,3

Tabulka II

Zastoupení plynných produktů (v molárních procentech) rozkladu trichlormethanu během vsádkového laboratorního experimentu¹⁰ v závislosti na době reakce

Čas [h]	Složení [mol. %]				
	methan	ethan	ethen	propan	propen
6	80,2	4,8	7,4	2,6	5,1
40	78,4	5,7	7,2	2,8	5,8
72	77,1	8,3	5,7	3,2	5,6

tabulky I a II (cit.¹⁰). Kromě těchto plynných produktů dehalogenace je v plynné fázi přítomno také značné množství vodíku, který vzniká reakcí železa s vodou.

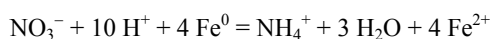
Dekontaminace vod elementárním železem není omezena jen na těkavé halogenované uhlovodíky. Někteří autoři prokázali, že ji lze aplikovat i na vody s obsahem DDT (cit.¹¹), popřípadě jiných pesticidů¹². U některých chlorovaných látek (např. chlorfenolů nebo chlorovaných chinonů) však pravděpodobně dochází pouze k sorpci z vody na povrchu železa, aniž by došlo k následné dehalogenační reakci^{13,14}. Některé práce však ukazují, že např. v případě pentachlorofenolu je dehalogenační reakce velmi pomalá¹⁵.

Při dehalogenační reakci a redukci vody železem dochází k růstu hodnoty pH vodného roztoku. V anaerobním prostředí se vylučuje hydroxid železnatý a dehalogenační reakce nakonec probíhá v nasyceném roztoku Fe(OH)₂, jehož hodnota pH je zhruba 9,5. Nárůst hodnoty pH je samozřejmě závislý i na aktuální koncentraci halogenovaných uhlovodíků ve vodě a přirozené neutralizační kapacitě reálné vody (tlumičem je systém hydrogenuhlíčitany-oxid uhlíčitý). Je-li přirozený systém tlumen slabě, může během dehalogenační reakce vzrůst pH vody až nad 10 (cit.¹⁶).

Tvorba sraženin na povrchu kovového železa, které samozřejmě zpomalují dehalogenační reakci¹⁷, je závislá na složení podzemní vody. Hlavní precipitační reakcí, která probíhá, je srážení Fe(OH)₂ ($K_s = 8,1 \cdot 10^{-16}$, cit.^{16,18}). V podzemních vodách obsahujících vyšší koncentrace oxidu uhličitého a hydrogenuhlíčanů lze očekávat i tvorbu FeCO₃ ($K_s = 3,2 \cdot 10^{-11}$) a CaCO₃ ($K_s = 2,8 \cdot 10^{-9}$, cit.^{16,18}). Je-li v podzemní vodě vyšší koncentrace sulfidů (sulfanu),

pak může dojít ke srážení FeS ($K_s = 1,59 \cdot 10^{-19}$, cit.¹⁸). Sulfan může vznikat i redukcí síranů, pokud hodnota redox potenciálu odpovídá anaerobním podmínkám (nižší než zhruba –50 mV). Redox potenciál při dehalogenaci železem činí až –500 mV (cit.¹⁰). Hydroxid železnatý je poměrně nestabilní a v přítomnosti rozpuštěného kyslíku nebo jiných oxidačních činidel podléhá zvláště při vyšších hodnotách pH snadno oxidaci na Fe(OH)₃ ($K_s = 2,64 \cdot 10^{-39}$) případně na Fe₃O₄ ($K_s = 1,70 \cdot 10^{-52}$, cit.¹⁵). Přítomnost hydroxidů nebo oxidů železa na povrchu kovového železa způsobuje také jeho pasivaci. Tato vrstva zabraňuje přesunu elektronů a omezuje tak průběh dehalogenačních reakcí¹⁹. Pro rozrušení oxidové vrstvy v laboratorních podmínkách někteří autoři používají předčištění kovového železa roztokem kyseliny chlorovodíkové, který byl nejprve zbaven rozpuštěného kyslíku probubláním inertním plynem. Ve všech případech byly po předčištění pozorovány vyšší hodnoty rychlostních konstant. Pokusy s komplexací železa například kyselinou ethylendiamintetraoctovou²⁰ nebo přidávkem ethanolu²¹ nedopadly nijak přesvědčivě (naproti tomu je popsán kladný katalytický vliv pyritu na dehalogenační reakci – S^{-II} centra zřejmě slouží jako přenašeč elektronů²²). Komplexotvorné látky mohou naopak podporovat desorpci chlorovaných uhlovodíků z povrchu železa a snižovat tak rychlost reakce na jeho povrchu. Naproti tomu preparace povrchu železa některými kovy (Pt, Cu, Ni, Pd) vede k urychlení dehalogenační reakce^{21,23}. Využití této skutečnosti v praxi však nebude zřejmě nijak masové. Příčinou zvýšené reaktivity povrchu může být i důlková koroze železa způsobená chloridovými ionty. Dalším faktorem, který ovlivňuje dostupnost povrchu pro dehalogenační reakce je vznik vodíku reakcí železa s vodou. Vodík může vytvářet při povrchu železa tenký film, který brání kontaktu odstraňovaných látek s reaktivním povrchem¹⁸.

Kromě srážecích reakcí dochází i k dalším vedlejším reakcím, které ovlivňují složení vody po dehalogenaci. Například reakcí železa s dusičnany dochází za anoxických podmínek k prakticky kvantitativní redukci dusičnanů na amonné ionty^{10,24} podle rovnice:



Tato reakce může ovlivňovat rychlost dechlorace chlorovaných uhlovodíků²⁵.

Vedle železa dochází k reduktivní dechloraci halogenovaných uhlovodíků ve vodě i jinými elementárními kovy – hliníkem, mědí nebo hořčíkem^{26,27}. Pro praktické účely jsou však tyto kovy i v budoucnosti zřejmě neupotřebitelné.

3. Praktické využití

Těkavé halogenované uhlovodíky patří k nejčastějším kontaminantům podzemních vod. V ČR se jedná především o tetrachlorethen (PCE) a trichlorethen (TCE), které byly a jsou používány jako průmyslová rozpouštědla pro odmašťování nebo při povrchové úpravě kovů. Pro odstranění těchto látek z vod bývají nejčastěji používány sorpční postupy, např. sorpce na granulovaném aktivním uhlí při úpravě vlastností pitné vody, odvětrávací postupy nebo postupy biologické^{28–30}. Katalytické postupy *in situ*³¹ jsou prozatím v počátcích. Všechny uvedené metody vykazují určitě a v některých případech principiální nevýhody. Sorpční hmoty jsou drahé a mají omezenou sorpční kapacitu, odvětrávací postupy přemísťují zátěž z vody do vzduchu a mají poměrně vysoké provozní náklady a biologické procesy jsou v případě halogenovaných uhlovodíků účinné jen v anaerobním prostředí a navíc jsou pomalé. Při využití biologických postupů je také nepříjemné to, že sekvence biochemických reakcí mnohdy končí na produktu, který má srovnatelnou nebo dokonce vyšší toxicitu než látka, kterou jsme si dali za úkol odstraňovat. Za přítomnosti kovového železa však lze předpokládat, že na rozkladu se podílí jak mikroorganismy, tak Fe^0 (cit.³²). Problematické jsou také všechny postupy dekontaminace podzemních vod se starými zátěžemi. Pokud je kontaminovaná voda čerpána ze zvodnělé vrstvy a upravována konvenční technologií na povrchu a zasakována zpět (systém nazývaný také „pump and treat“), nebo vypouštěna do vodoteče, pak mnohdy musíme úpravářskou technologii dimenzovat na nepříjemně velké kapacity, abychom vzhledem k obrovskému objemu kontaminované podzemní vody dosáhli v reálném čase vůbec nějaký pozorovatelný výsledek. Pak je na místě uvažovat o uplatnění technologií *in situ*, tedy o úpravě vlastností podzemní vody přímo ve zvodnělé vrstvě.

Alternativou k výše naznačeným postupům pro odstranění halogenovaných uhlovodíků z podzemní vody je právě zde diskutovaná abiotická reakce halogenovaných uhlovodíků ve vodě s elementárním kovovým železem. V zásadě jsou uvažovány dvě alternativy technologie: (1.) průtok podzemní vody přes permeabilní bariéru granulovaného železa při době zdržení vody v bariéře na úrovni několika desítek hodin³³ nebo (2.) využití jemných částic elementárního železa. Při druhém způsobu se díky vysokému specifickému povrchu železa dosahuje daleko vyšších reakčních rychlostí a podle konkrétní hodnoty specifického povrchu postačují k efektivní dechloraci doby zdržení na úrovni několika jednotek až desítek minut³⁴. Ideou je injektování jemných částic železa přímo do kontaminovaného horninového prostředí zvodnělé vrstvy. Plnoprovoz-

ně nebyl tento způsob doposud aplikován.

4. Závěr

Ukazuje se, že reakce halogenovaných uhlovodíků ve vodě s kovovým železem je použitelná pro odstraňování těchto kontaminantů z podzemních vod. Jako technologické řešení se nabízejí především pasivní permeabilní bariéry granulovaného železa, přes které kontaminovaná podzemní voda samovolně protéká. Ve srovnání s doposud konvenčně používanými technologiemi pro dekontaminaci podzemních vod vykazuje tento postup určité výhody.

Práce byla vytvořena v rámci grantového projektu GA ČR 203/03/0925.

LITERATURA

- Matheson L. J., Tratnyek P. G.: Environ. Sci. Technol. 28, 2045 (1994).
- Johnson T. L., Fish W., Gorby Y. A., Tratnyek P. G.: J. Contam. Hydrol. 29, 379 (1998).
- Burris D. R., Campbell T. J., Manoranjan V. S.: Environ. Sci. Technol. 29, 2850 (1995).
- Johnson T. L., Scherer M. M., Tratnyek P. G.: Environ. Sci. Technol. 30, 2634 (1996).
- Wüst W. F., Köber R., Schlicker O., Dahmke A.: Environ. Sci. Technol. 33, 4304 (1999).
- Deng B., Buris D. R., Campbell T. J.: Environ. Sci. Technol. 33, 2651 (1999).
- Weerasooriya R., Dharmasena B.: Chemosphere 42, 389 (2001).
- Janda V., Vašek P., Bižová J., Bělohav Z.: Chemosphere 54, 917 (2004).
- Schreier C. G., Reinhard M.: Chemosphere 29, 1743 (1994).
- Vašek P.: *Diplomová práce*. VŠCHT Praha, Praha 2001.
- Sayles G. D., You G., Wang M., Kupferle M. J.: Environ. Sci. Technol. 31, 3448 (1997).
- Ghauch A., Gallet C., Charef A., Rima J., Martin-Bouyer M.: Chemosphere 42, 419 (2001).
- Svobodová H.: *Diplomová práce*. VŠCHT Praha, Praha 2003.
- Bižová J., Mádlová H., Janda V.: *Sborník z 5. mezinárodní bienální konference Odpadní vody – Wastewater 2003, Olomouc 13. – 15. 5. 2003*, str. 309. Asociace čistírenských expertů, Olomouc 2003.
- Kim Y. H., Carraway E. R.: Environ. Sci. Technol. 34, 2017 (2000).
- Liang L., Korte N., Gu B., Puls R., Reeter C.: Adv. Environ. Res. 4, 273 (2000).
- Ruiz N., Seal S., Reinhart D.: J. Hazard. Mater. 80, 107 (2000).
- Mackenzie P. D., Horney D. P., Sivavec T. M.: J. Hazard. Mater. 68, 1 (1999).
- Gotpagar J., Lyuksyutov S., Cohn R., Grulke E., Bhat-tacharya D.: Langmuir 15, 24 (1999).

20. Chen J. L., Al-Abed S., Ryan J. A., Li Z.: *J. Hazard. Mater.* **83**, 243 (2001).
21. Clark II C. J., Rao P. S. C., Annable M. D.: *J. Hazard. Mater.* **84**, 3907 (2002).
22. Weerasooriya R., Dharmasena B.: *Chemosphere* **42**, 389 (2001).
23. Kim Y., Carraway E. R.: *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2014 (2000).
24. Cheng I. F., Muftikiiian R., Fernando Q., Korte N.: *Chemosphere* **35**, 2689 (1997).
25. Schlicker O., Ebert M., Fruth M., Weidner M., Wuest W., Dahmke A.: *Ground Water* **38**, 403 (2000).
26. Lien H. L., Zhang W.: *Chemosphere* **49**, 371 (2002).
27. Morales J., Hutcheson R., Cheng I. F.: *J. Hazard. Mater.* **90**, 97 (2002).
28. Furukawa K.: *Trends Biotechnol.* **21**, 187 (2003).
29. Ferguson J. F., Pietari J. M. H.: *Environ. Pollut.* **107**, 209 (2000).
30. Antizar-Ladislao B., Galil N. I.: *Water Res.* **37**, 238 (2003).
31. Centi G., Parathoner S.: *Appl. Catal., B* **41**, 15 (2003).
32. Lampron K. I., Chiu P. C., Cha D. K.: *Water Res.* **35**, 3077 (2001).
33. Morkin M., Delvin J. F., Barker J. F., Bulter B. J.: *J. Contam. Hydrol.* **45**, 283 (2000).
34. Choe S., Lee S. H., Chang Z. Z., Hwang K. Z., Khim J.: *Chemosphere* **42**, 367 (2001).

P. Vašek, J. Bižová, and V. Janda (*Department of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Removal of Halogenated Hydrocarbons from Water by Zero-Valent Iron**

Removal of halogenated hydrocarbons from water by zero-valent iron is discussed. *In situ* processes based on filtration of groundwater through a permeable barrier formed by granular iron seem to be an advantageous alternative to traditional methods using, e.g., sorption or air stripping. However, only a few full-scale units for the decontamination of groundwater by the *in situ* “zero-valent” technology have been installed all over the world.



Kontakt 2005

veletrh pracovních příležitostí

**Fakulta ekonomicko-správní,
Fakulta chemicko-technologická**

pořádají dne 17. března 2005 v Aule Arnošta z Pardubic

setkání zástupců firem působících v ČR se studenty Univerzity Pardubice s cílem poskytnout jim informace o profilech podniků a možnostech uplatnění absolventů fakult.

K dispozici bude katalog s informacemi o zúčastněných firmách.

Bližší informace o veletrhu, přihlášky k účasti a podmínky účasti je možné získat u kontaktních osob Ing. Ivy Ulbrichové, tel. 466 037 514, e-mail: iva.ulbrichova@upce.cz, Ivany Veselé, tel. 466 036 454, e-mail: ivana.vesela@upce.cz, nebo na www.upce.cz

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

POUŽITIE VYSOKOÚČINNEJ TENKOVRS- VRSTVOVEJ CHROMATOGRAFIE A STOLNÉHO SKENERA NA KVANTI- TATÍVNE STANOVENIE VEDĽAJŠÍCH METABOLITOV ANTIBIOTIKA SALI- NOMYCÍNU

MILOŠ BLAZSEK, OTAKAR IŠTVÁNFY
a STANISLAV ROMAN

Úsek výskumu a vývoja, Biotika a.s., 976 13 Slovenská
Lupča, Slovensko
blazsek@biotika.sk

Došlo 23.7.02, prepracované 12.6.03, prijaté 1.9.03.

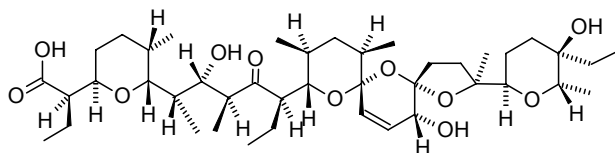
Kľúčové slová: salinomycín, 17-epi-20-deoxysalinomycín,
fermentačná pôda, premixy veterinárnych produktov, vy-
sokoúčinná tenkovrstvová chromatografia, HPTLC, stolný
skener

Úvod

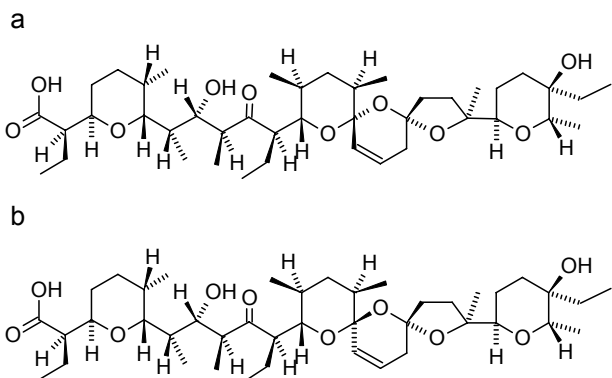
Salinomycín (obr. 1) patrí do skupiny monokarboxy-
lových polyéterových antibiotík, ktoré sa vyznačujú iono-
forbnými vlastnosťami. Jeho antimikrobiálne vlastnosti sa
využívajú vo veterinárnej praxi pri liečbe a prevencii kok-
cidiózy u hydiny a tiež pre stimuláciu rastu hospodárskych
zvierat. Salinomycín je produkováný fermentačne kmeňom
Streptomyces albus. Okrem hlavnej zložky produkuje
kmeň aj príbuzné látky s veľmi podobnou chemickou
štruktúrou a antimikrobiálnymi vlastnosťami ako salino-
mycín. Ich výskyt a množstvo je závislé od podmienok
fermentácie. Medzi najvýznamnejšie patrí 20-deoxy-
salinomycín a jeho epimér 17-epi-20-deoxysalinomycín
(obr. 2, cit.¹). Podľa direktívy európskej komisie je obsah
17-epi-20-deoxysalinomycínu v produktoch salinomycínu
limitovaný na 40 g v 1 kg salinomycínátu sodného². Sna-
hou každého výrobcu je preto minimalizovať produkciu
vedľajších látok.

Cieľom tejto práce bol vývoj rýchlej a lacnej metódy
vhodnej na screening týchto látok v produkčných fermen-
tačných pôdach a produktoch salinomycínu. Pre tento účel
bola navrhnutá metóda vysokoúčinnnej tenkovrstvovej
chromatografie (HPTLC) na silikagélových platniach.
Nevýhodou tenkovrstvovej chromatografie (TLC) je nízka
spoľahlivosť kvantitatívnych výsledkov. Semikvantitativ-
nu TLC analýzu možno uskutočniť vizuálnym porovnáva-
ním veľkosti a intenzity škvrny štandardnej látky
a neznámej vzorky. Správnejšie a presnejšie výsledky

možno dosiahnuť zoškrabaním separovaných
škvŕn, elúciou analytov do rozpúšťadla a analýzou eluátov
ďalšími technikami (spektrofotometria, GC, HPLC). Me-
dzi modernejšie techniky vyhodnotenia TLC patrí patria
optické denzitometrické techniky založené na meraní re-
flektancie alebo transmitancie svetelného lúča aplikovaného
na platňu cez štrbinu (slit-densitometry). Ich alternatívou
sú video-denzitometre obsahujúce digitálne CCD
kamery a svetelné zdroje umožňujúce ilumináciu celej
platne svetlom vo viditeľnej, alebo UV oblasti. Zosníma-
ný a zdigitalizovaný obraz TLC platne sa analyzuje na
počítači pomocou špeciálneho softvéru. Nevýhodou spo-
menutých techník je pomerne vysoká cena zariadení, ktorá
neumožňuje ich širšie rozšírenie. Aj preto boli v posled-
ných rokoch publikované práce popisujúce použitie cenovo
prístupnejších konvenčných, alebo upravených kance-
lárskeho skenerov na zoskenovanie (zdigitalizovanie) TLC
platní pri analýze farebných látok³⁻⁵ a fluorescenčne aktív-
nych analytov⁶⁻⁷. Oproti komerčným vyhodnocovacím den-
zitometrom má stolný skener niekoľko výhod. Je to predovšetkým
jeho cenová dostupnosť, rýchlosť a vysoké farebné
rozlíšenie vhodné na identifikáciu farebných škvŕn
a dokumentáciu TLC platní. Základnou nevýhodou je limi-
tovaný rozsah detekčných vlnových dĺžok. Tento nedostatok
je spôsobený používanými CCD poľami, ktoré nemajú
dostatočnú odozvu v UV oblasti a tiež typom bežne použí-



Obr. 1. Chemická štruktúra salinomycínu



Obr. 2. Chemická štruktúra vedľajších metabolitov salinomy-
cínu; a – 20-deoxysalinomycín, b – 17-epi-20-deoxysalino-
mycín

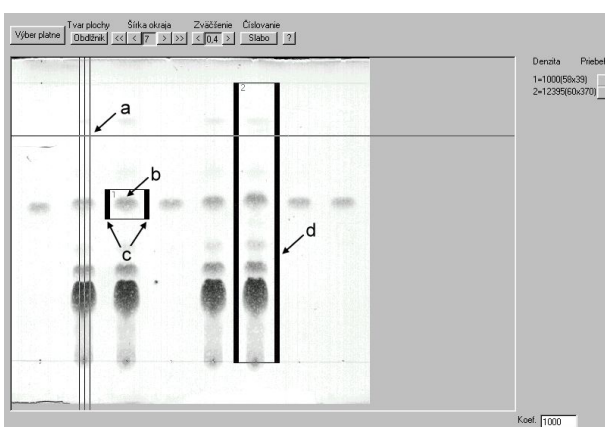
vaných iluminačných zdrojov (biele svetlo) vhodných na vyhodnotenie farebných škvŕn. Tento problém bol už ale riešený úpravou bežných skenerov s použitím alternatívnych iluminačných zdrojov pri analýze fluorescenčne aktívnych látok⁶⁻⁷.

Naskenované obrázky TLC platní sa kvantitatívne vyhodnocujú pomocou bežných grafických a dáta spracujúcich softvérových nástrojov, alebo pomocou špeciálnych komerčne dostupných programov (napr. QuantiScan⁹). Ich nevýhodou je pomerne vysoká cena, preto sa v našom prípade použil vlastný jednoduchý program (TLCpix), ktorého funkcia je založená na sčítaní intenzity pixelov analyzovaných škvŕn.

Experimentálna časť

Separáčn é p o d m i e n k y

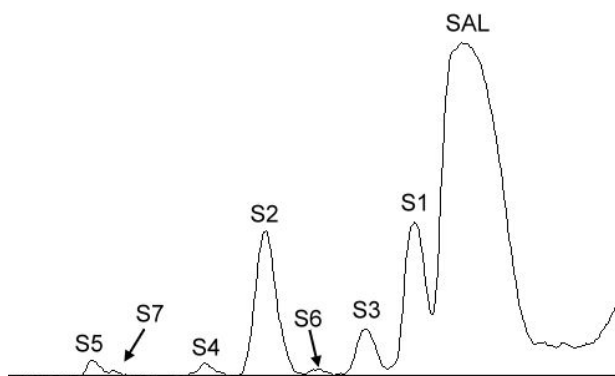
Separácia salinomycínu a jeho metabolitov bola robená na hliníkových HPTLC platniach s rozmermi 20×20 cm (Merck, Darmstadt, Nemecko) pokrytých 0,25 mm vrstvou silikagélou 60. Analyzované vzorky boli na platňu nanášané 10 µl mikrostriekačkou (Hamilton, USA) v množstve 1–5 µl. Platne boli vyvíjané v sklenenej komore (200/200 mm), mobilná fáza pozostávala z etylacetátu a dichlórmetánu (Mikrochem, Pezinok, Slovensko) v pomere 1 : 1 (v/v). Po vyvinutí HPTLC platne (elučná dráha 45 mm) sa suchá platňa postriekala detekčným činidlom, ktoré bolo pripravené z metanolu (Scharlau Chemie, Barcelona, Španielsko), koncentrovanej kyseliny sírovej (Mikrochem, Pezinok, Slovensko) a vanilínu (Merck, Darmstadt, Nemecko) v pomere 100 : 3 : 3 (v/v/w). Škvŕny analyzovaných látok boli zviditeľnené po vložení platne na 30 s do teplotydušného termostatu vyhriateho na 50 °C.



Obr. 3. Zobrazenie HPTLC platne analyzovanej programom TLCpix, a – zameriavací kríž, b – ohraničená škvŕna 17-epi-20-deoxysalinomycínu, c – okrajové pásy pozadia, d – ohraničená analyzovaná dráha

A n a l ý z a H P T L C p l a t n e

Vyhodnocovací systém pozostával zo skenera Microtec ScanMaker 4600 (Microtec International, Taiwan) s ilumináciou bieleho svetla a personálneho počítača s použitím softvéru ScanWizard 5 (Microtec International, Taiwan). HPTLC platne boli skenované pri 100% veľkosti s rozlíšením 300 dpi a uchované v bitmapovom farebnom formáte RGB (True Color, 24 bit). Obrázok platne bol vyhodnotený pomocou programu TLCpix. Program umožňuje kvantifikáciu škvŕn dvoma spôsobmi a to samostatnou analýzou jednotlivých škvŕn, alebo analýzou celej chromatografickej dráhy (obr. 3). V prvom prípade sa škvŕna manuálne ohraničí obdĺžnikom pomocou zameriavacieho kríža (a) a to tak, aby vertikálne okrajové pásy pokrývali oblasť okolo škvŕny reprezentujúcu pozadie platne. Vo vnútornej ohraničenej oblasti (b) program sčíta po riadkoch sumu intenzít pixelov (denzitu), korekcia po-



Obr. 4. Vyhľadný profil (chromatogram) analyzovanej dráhy – d (obr. 3), píky: SAL – salinomycín, S2 – 17-epi-20-deoxysalinomycín, S1, S3–S7 – neidentifikované látky

zadia je docielená tak, že od intenzity každého pixelu v riadku sa odčíta priemerná hodnota intenzity pixelov nachádzajúcich sa v tom istom riadku na okrajových vertikálnych pásoch (c). Výsledná hodnota je vhodná na kvantifikáciu analyzovanej škvŕny. Pri ohraničení celej chromatografickej dráhy (d) program umožní zobrazit' aj profil dráhy (chromatogram) analyzovanej vzorky a stanovit' R_f faktor a plochu jednotlivých píkov (obr. 4). Tento spôsob umožňuje identifikovať a vyhodnotiť aj škvŕny, ktoré sú na platni vizuálne horšie detekovateľné (S6–S7).

P r í p r a v a r o z t o k o v

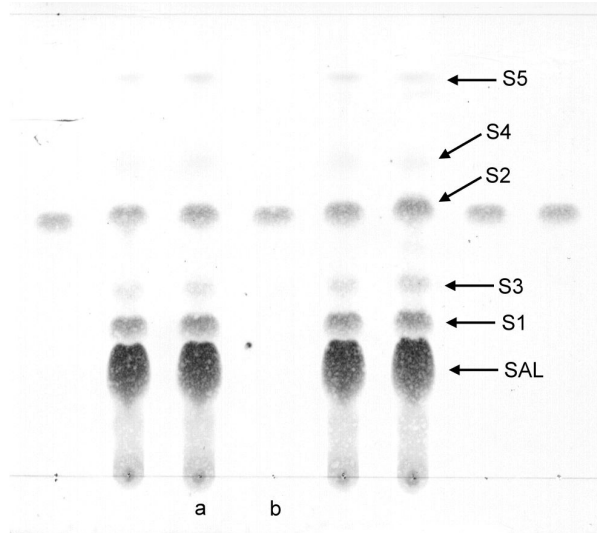
Na analýzu boli použité metanolové extrakty fermentačnej pôdy a produktov pripravené nasledovným spôsobom. Do 25 ml odmernej banky sa navázilo vhodné množstvo vzorky (~ 2 g), pridala sa metanol a banka sa vložila na 15 min do ultrazvukového kúpeľa. Po premiešaní sa extrakt prefiltraval cez filtračný papier (Filtrak 388, Spezialpaper Filtrak, Nemecko) a filtrát sa ďalej analyzoval. Porovnávacia substancia 17-epi-20-deoxysalinomycínu bola

pripravená izolačnými a čistiacimi krokmi z fermentačnej pôdy na pracovisku útvary pre výskum a vývoj v Biotike a.s. Základný roztok substancie ($0,2 \text{ mg.ml}^{-1}$) sa pripravil rozpustením presne odváženého množstva v metanole. Roztoky boli skladované pri $-5 \text{ }^\circ\text{C}$.

Výsledky a diskusia

Obr. 5 predstavuje typickú zoskenovanú HPTLC platňu konvertovanú do čiernobielych formátu. Na platňu boli nanosené vzorky metanolového extraktu fermentačnej pôdy salinomycínu (a) a porovnávacieho roztoku 17-epi-20-deoxysalinomycínu (b). Vo vzorkách vidno výraznú škvrnu salinomycínu (SAL, $R_f = 0,26$) a dvoch vedľajších látok 17-epi-20-deoxysalinomycínu (S2, $R_f = 0,58$) a pravdepodobne 20-deoxysalinomycínu (S1, $R_f = 0,34$). Okrem nich je vo vzorke aj množstvo menej výrazných škvrn neidentifikovaných látok (S3–S7). V analyzovaných vzorkách sa kvantitatívne vyhodnocovala škvrna 17-epi-20-deoxysalinomycínu porovnaním so škvrnou štandardnej látky o známej koncentrácii (metóda externého štandardu).

Linearita stanovenia bola robená nanosením rôznych objemov ($1\text{--}7 \text{ } \mu\text{l}$) roztoku 17-epi-20-deoxysalinomycínu ($0,2 \text{ mg.ml}^{-1}$) na jednu platňu. Pre zvýšenie objektívnosti výsledkov bola denzita každej škvrny nameraná trikrát. Kalibračná krivka bola získaná nanosením priemernej hodnoty denzít škvrn na os y a nanoseného množstva analytu (μg) na os x , linearita bola vyhodnotená metódou najmenších štvorcov. V sledovanom rozsahu $0,2\text{--}1,4 \text{ } \mu\text{g}$ bol nájdený lineárny vzťah medzi denzitou škvrn a nanoseným



Obr. 5. Obrázok preskenovanej HPTLC platne s analyzovaným extraktom fermentačnej pôdy (a) a porovnávacieho roztoku 17-epi-20-deoxysalinomycínu (b), škvrny: SAL – salinomycín, S2 – 17-epi-20-deoxysalinomycín, S1, S3–S5 – neidentifikované látky

množstvom analytu s hodnotou korelačného koeficientu $r = 0,994$.

Presnosť stanovenia bola overená na troch platniach, a to šesťnásobným nanosením rovnakého objemu ($5 \text{ } \mu\text{l}$) štandardného roztoku 17-epi-20-deoxysalinomycínu ($0,2 \text{ mg.ml}^{-1}$) na každú platňu. Pre zvýšenie objektívnosti výsledkov bola denzita každej škvrny nameraná trikrát a na ďalšie výpočty sa používal aritmetický priemer hodnôt. Výsledné hodnoty presnosti na jednotlivých platniach vyjadrené relatívnou smerodajnou odchýlkou (RSD) boli $5,4 \%$, $7,4 \%$ a $10,0 \%$. Tieto výsledky sú porovnateľné s výsledkami publikovanými Mustoem a McCrossenom^{5,6}. Stanovená presnosť predstavuje sumu príspevkov variability rôznych experimentálnych faktorov (aplikácia vzorky, vývoj platne, homogenita nanosenia detekčného činidla) ako aj variabilitu denzitometrického vyhodnotenia. Jednotlivé príspevky neboli zvlášť vyhodnotené.

Záver

Navrhované podmienky metódy HPTLC umožňujú dostatočnú separáciu vedľajších metabolitov salinomycínu. Použitie vlastného vyhodnocoacieho programu pri spracovaní zoskenovaného obrázku HPTLC platne umožňuje kvantitatívne stanovenie obsahu 17-epi-20-deoxysalinomycínu. Metóda preukazuje v sledovanej oblasti dobrú linearitu ($r = 0,994$) a dostatočnú presnosť (priemerná hodnota RSD $7,6 \%$).

Stanovenie sa už niekoľko rokov úspešne využíva na našom pracovisku a nahradilo drahšiu HPLC metódu.

Pre všetkých záujemcov je demo verzia programu TLCpix dostupná na internetovej adrese www.biotika.sk v položke „Na stiahnutie“ pod názvom „TLC demo“.

LITERATÚRA

1. Berdy J., Aszalos A., Bostian M., McNitt K.L.: *CRC Handbook of Antibiotic Compounds*, díl V. CRC Press, Boca Raton 1980.
2. Commission Directive 96/66/EC of 14 October 1996 amending Council Directive 70/524/EEC concerning additives in feeding stuffs.
3. Valente A. L. P., Augusto F., Lemes A. C., Lukjanenko K.: *Anal. Commun.* 34, 193 (1997).
4. Mustoe S. P., McCrossen S. D.: *Chromatographia* 53, 474 (2001).
5. Johnson M. E.: *J. Chem. Educ.* 77, 368 (2000).
6. Mustoe S. P., McCrossen S. D.: *J. Planar Chromatogr.* 14, 252 (2001).
7. Stroka J., Peschel T., Tittelbach G., Otterdijk R., Anklam E.: *J. Planar Chromatogr.* 14, 109 (2001).
8. <http://www.biosoft.com/w/quantiscan.htm>, stiahnuté 16.6.2001.

M. Blazsek, O. Ištvánfy, and S. Roman (*Research and Development Section, Biotika Co., Slovenská Lupča, Slovak Republic*): **Application of High-Performance Thin-Layer Chromatography and a Flatbed Scanner for the Quantitation of Cometabolites of Antibiotic Salinomycin**

A computer-driven office scanner has been used as a densitometer for the quantitation of analytes after separation by HPTLC. This densitometry is based on measuring the intensity of pixels covering the spots using a home-made program. This methodology has been successfully applied in the HPTLC determination of derivatives of the polyether antibiotic salinomycin in fermentation broths and animal feed preparations.



EURACHEM-ČR
Technická 5, 166 28 Praha 6
www.eurachem.cz

- KVALIMETRIE 8** **O. Mestek, M. Suchánek: Základy metrologie v chemii (1998)**
Kalibrace chemických měření; referenční materiály; metrologické zabezpečení analytické laboratoře
- KVALIMETRIE 9** **Vhodnost analytických metod pro daný účel. Laboratorní příručka pro validaci metod a související činnosti (1999)**
Oficiální překlad Pokynu EURACHEM *The fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Kdy je třeba validovat postup; kdo má validovat; jak se validuje; používání blanků, standardů a replikátů; používání validovaných metod; validační údaje při řízení jakosti, dokumentování postupů.
- KVALIMETRIE 10** **Kolektiv autorů: Jakost v analytické laboratoři 2000 (2000)**
Odpovědi manažerům jakosti. Sborník stejnojmenného semináře k zavádění normy ČSN EN ISO/IEC 17 025.
- KVALIMETRIE 11** **Stanovení nejistoty analytického měření (2001)**
Oficiální překlad druhého, rozšířeného a doplněného vydání Pokynu EURACHEM/CITAC *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*. V českém jazyce vydání třetí.
- KVALIMETRIE 12** **Průvodce jakostí v analytické chemii. Pomůcka k akreditaci (2003)**
Oficiální překlad anglického vydání Pokynu CITAC/EURACHEM *Guide to Quality in Analytical Chemistry. An Aid to Accreditation*.
- KVALIMETRIE 13** **Kolektiv autorů: Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření (2003)**
Metodická příručka. Z obsahu: Využití údajů z validací, řízení jakosti a zkoušení způsobilosti k odhadu nejistoty; odhad nejistoty kvalitativních analýz, mikrobiologických zkoušek a výsledků empirických metod aj.
- KVALIMETRIE 14** **Návaznost chemických měření. Průvodce k dosažení porovnatelných výsledků měření. Oficiální překlad Pokynu EURACHEM/CITAC *Traceability in Chemical Measurement*.**
K. Bičovský, J. Dempír, L. Dohnal, B. Friedecký, J. Kratochvíla, J. Kučera, Z. Plzák: Používání referenčních materiálů v chemické analýze. Metodická příručka. Z obsahu: Výběr vhodného RM; použití RM k hodnocení; RM při přenosu hodnot; zacházení s RM; použití RM v laboratorní medicíně; příklady.

Objednávky:

e-mailem: koruna@vuv.cz

faxem: 224 319 783

poštou: EURACHEM-ČR, c/o ASLAB, Výzkumný ústav

vodohospodářský T. G. Masaryka, Podbabská 30, 160 62 Praha 6

POROVNANIE VIACROZMERNÝCH KALIBRAČNÝCH TECHNÍK PRI STA- NOVENÍ RNA-NUKLEOTIDOV

MILOSLAV FOLTIN^a, JANA ŠULEAKOVÁ^a,
MARTIN FOLTIN^b a IVAN SEKAJ^b

^aKatedra analytickej chémie Prírodovedeckej fakulty Uni-
verzity Komenského, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava,

^bKatedra automatizovaných systémov riadenia, Fakulta
elektrotechniky a informatiky, Slovenská technická univer-
zita, Ilkovičova 3, 812 19 Bratislava

Miloslav.Foltin@fns.uniba.sk

Došlo 10.1.03, prijaté 18.2.04.

Kľúčové slová: Viacrozmerná kalibrácia, genetický algo-
ritmus, nukleotidy

Úvod

Tvorba kalibračného modelu je kľúčovým krokom v procese analýzy komplexných vzoriek. Súčasná inštrumentálna technika (HPLC-DAD, GC-MS, GC-FTIR a iné) je schopná produkovať viacrozmerné analytické signály, ktoré obsahujú viac informácií, ale ich spracovanie si vyžaduje nové chemometrické prístupy. Pre tento účel boli vyvinuté viaceré viacrozmerné kalibračné metódy (MLR, PCR, PLS a iné), ktoré sú stále predmetom skúmania analytických chemikov.

Teoretická časť

Množinu viacrozmerných kalibračných dát môžeme zapísať vo forme matic \mathbf{C} , \mathbf{R} , kde matica \mathbf{C} ($n \times p$) obsahuje $p > 1$ nezávislých premenných (koncentrácií jednotlivých zložiek) pre každú z n vzoriek. Maticu \mathbf{R} ($n \times q$) tvorí n analytických signálov (spektier) nameraných v q polohách (vlnových dĺžkach). Kalibračný model v najvšeobecnejšej forme vyjadríme vzťahom:

$$\mathbf{R} = f(\mathbf{C}; \mathbf{B}) + \mathbf{E}_R \quad (1)$$

kde \mathbf{B} ($p \times q$) je matica parametrov modelu a \mathbf{E}_R ($n \times q$) je matica chýb, pričom platí, že funkcia f je lineárnou funkciou parametrov.

Kalibračný model sa vytvorí zmeraním analytického signálu kalibračných vzoriek, ktorých zloženie je známe, a ktoré viac alebo menej reprezentujú skutočné zloženie neznámych vzoriek.

Na predikciu koncentrácie v neznámych vzorkách je

potrebné použiť model v inverznom tvare:

$$\hat{\mathbf{C}} = f^{-1}(\mathbf{R}_{\text{new}}, \hat{\mathbf{B}}) \quad (2)$$

Problémom pri použití kalibračného modelu na predikciu koncentrácie analytov v neznámych vzorkách je nájdenie inverznej funkcie f^{-1} , pretože funkcia f je stochastická a jej inverzia nie je triviálna. Preto niektorí autori doporučujú vytvárať kalibračný model priamo v inverznom tvare:

$$\mathbf{C} = F(\mathbf{R}; \mathbf{B}) + \mathbf{E}_C \quad (3)$$

Pri použití tohoto kalibračného modelu na predikciu koncentrácií nie je potrebná inverzia funkcie F :

$$\hat{\mathbf{C}} = F(\mathbf{R}_{\text{new}}, \hat{\mathbf{B}}) \quad (4)$$

Ak predpokladáme, že aj závislosť medzi \mathbf{C} a \mathbf{R} je lineárna, potom klasický resp. inverzný kalibračný model môžeme zapísať jednoduchými rovnicami:

$$\mathbf{R} = \mathbf{C} \mathbf{B} + \mathbf{E}_R \quad (5)$$

$$\mathbf{C} = \mathbf{R} \mathbf{B} + \mathbf{E}_C \quad (6)$$

Príkladom takéhoto lineárneho modelu je napríklad Lambertov-Beerov zákon.

Úlohou kalibrácie je potom určiť (odhadnúť) maticu \mathbf{B} z kalibračných dát \mathbf{C} , \mathbf{R} . Na tento účel sa najčastejšie používa metóda označená ako MLR (multiple linear regression), ale v poslednom čase sa stále viac presadzujú metódy, ktoré sú založené na rozklade matic zdrojových dát na maticu hlavných komponentov (matica skóre) a maticu záťaží (loadings). Tieto metódy sú v literatúre známe pod názvami regresia hlavných komponentov (PCR), resp. metóda parciálnych najmenších štvorcov (PLS). Princípy a použitie týchto metód sú opísané vo viacerých monografiách¹⁻³, preto ich tu neuvádzame.

Napriek tomu, že matematický princíp týchto metód je známy a algoritmy riešenia sú prepracované, mnohé štatistické vlastnosti nie sú dostatočne preskúmané⁴.

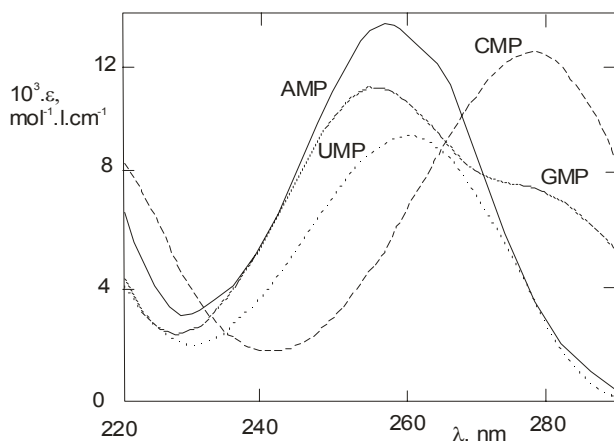
Cieľom práce bolo preveriť možnosti a štatistické vlastnosti viacrozmerných kalibračných postupov (MLR, PCR, PLS) pri kvantifikácii 4 nukleotidov adenínmonofosfátu, (AMP), guanínmonofosfátu (GMP), uridínmonofosfátu (UMP) a cytidínmonofosfátu (CMP), ktorých prítomnosť a vzájomné pomery v analyzovaných vzorkách môže slúžiť na identifikáciu biologického zdroja alergénov^{5,6} v prachových časticách ovzdušia.

Experimentálna časť

Na testovanie vlastností kalibračných postupov boli použité súbory 15 modelových kalibračných vzoriek a 12 validačných vzoriek. Zloženie kalibračných vzoriek bolo určené metódou štatistického plánovania SIMPLEX tak, aby sa minimalizovala možnosť multikolinearity v kalibračných dátach a aby vzorky pokrývali rovnomerne celý kalibračný priestor. Zloženie kalibračných vzoriek (matica $\mathbf{C}_{15 \times 4}$) je uvedené v tabuľke I. Spektrá nukleotidov

Tabuľka I
Zloženie kalibračného súboru

$10^5 c$ [mol.l ⁻¹]			
CMP	AMP	GMP	UMP
0,15	0,00	0,00	0,00
0,00	0,15	0,00	0,00
0,00	0,00	0,15	0,00
0,00	0,00	0,00	0,15
7,50	7,50	0,00	0,00
7,50	0,00	7,50	0,00
0,00	7,50	7,50	0,00
7,50	0,00	0,00	7,50
0,00	7,50	0,00	7,50
0,00	7,50	7,50	7,50
4,95	4,95	4,95	0,00
4,95	0,00	4,95	4,95
4,95	4,95	0,00	4,95
0,00	4,95	4,95	4,95
3,75	3,75	3,75	3,75



Obr. 1. Spektrá nukleotidov

(matica $S_{4 \times 36}$) boli prevzaté z literatúry⁷ a sú prezentované na obr. 1.

Analytické signály kalibračných vzoriek boli vypočítané ako súčin $R_{15 \times 36} = C_{15 \times 4} * S_{4 \times 36}$. Aby vypočítané signály simulovali reálne experimentálne dáta, boli zaťažené ná-

hodným šumom na 4 úrovniach so štatistickými parametrami μ , σ : $N1(0; 0,001)$, $N2(0; 0,005)$, $N3(0; 0,01)$, $N4(0; 0,02)$. Matice šumu boli generované funkciou RANDN v programe Matlab.

Súbor neznámych vzoriek, označený ako validačný súbor, bol vytvorený analogickým postupom. Koncentračné zloženie vzoriek validačného súboru je v uvedené v tabuľke II.

Funkčnosť kalibračných modelov získaná metódami MLR, PCR a PLS bola testovaná vyhodnotením správnosti predikcie koncentrácií nukleotidov vo validačnom súbore. Na kvantifikáciu predikčnej chyby boli použité hodnoty

$$MSEP = \sqrt{\frac{\sum_i (\hat{c}_i - c_i)^2}{n - p}} \quad (7)$$

resp. jej relatívne hodnoty vzťahnuté na priemerné hodnoty koncentrácií daného nukleotidu vo validačných vzorkách.

Tabuľka II
Zloženie validačného súboru

$10^5 c$ [mol.l ⁻¹]			
CMP	AMP	GMP	UMP
0,150	2,070	2,670	2,540
2,280	2,600	0,700	1,240
2,310	1,890	0,919	2,520
2,480	2,210	1,050	0,808
0,376	2,180	1,540	1,250
0,050	3,000	1,770	1,610
0,375	0,375	0,375	0,375
3,000	0,750	0,750	0,075
0,075	1,800	1,280	3,000
1,050	3,000	1,950	0,075
2,400	0,300	0,135	0,300
0,900	0,450	0,600	0,750

Na spracovanie kalibračných dát metódami MLR, PCR a PLS bol použitý program Matlab ver. 5.6 (The MathWorks, Inc., Natick, Mass., USA) doplnený chemometrickým toolboxom. Na optimalizáciu počtu vlnových dĺžok pre kalibračný model spracovaný metódou MLR bola použitá technika genetických algoritmov^{8,9}. Na jej spracovanie bol použitý vlastný toolbox napísaný v jazyku Matlab.

Výsledky a diskusia

Predikčná schopnosť kalibračných modelov, získaných rôznymi viacrozmernými metódami, je prezentovaná v tabuľke IV a V: Správnosť predikcie je vyjadrená hodnotou strednej kvadratickej chyby predikcie MSEP, resp. jej relatívnej hodnoty. Z tabuľky IV je zrejmé, že uspokojivú správnosť predikcie je možné dosiahnuť iba v prípade dát,

Tabuľka III

Korelačná matica spektier RNA nukleotidov

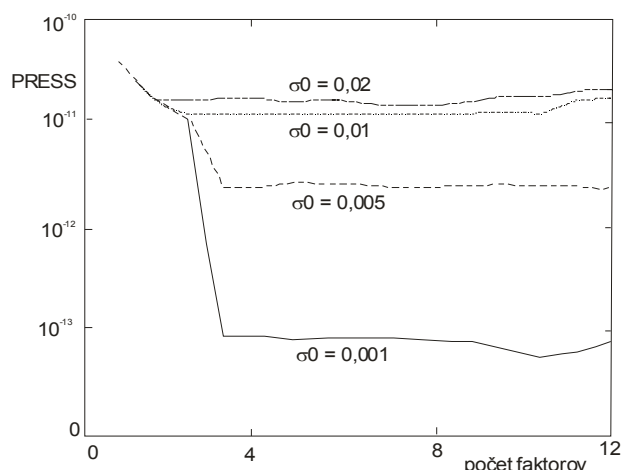
	CMP	AMP	GMP	UMP
CMP	1,00	-0,24	0,12	-0,08
AMP	-0,24	1,00	0,79	0,98
GMP	0,12	0,79	1,00	0,82
UMP	0,08	0,98	0,82	1,00

Tabuľka IV

Relatívna stredná chyba predikcie koncentrácií nukleotidov vo validačných vzorkách

Nukleotidy	σ_0	MSEP _{rel} [%]			
		CMP	AMP	GMP	UMP
MLR	0,001	0,80	2,86	1,94	5,73
	0,005	4,78	13,99	8,76	28,69
	0,01	11,76	42,14	22,79	75,45
	0,02	26,52	39,36	60,45	79,22
MLR-GA	0,001	0,78	1,63	2,14	2,42
	0,005	3,16	5,46	8,40	8,82
	0,01	7,79	17,85	16,58	36,44
	0,02	18,14	29,14	27,08	64,50
PCR	0,001	0,81	2,93	1,91	5,88
	0,005	5,11	15,74	8,92	32,61
	0,01	10,39	37,47	22,77	68,04
	0,02	28,16	38,00	54,41	70,77
PLS	0,001	0,81	2,91	1,91	5,86
	0,005	5,10	14,85	9,15	30,18
	0,01	11,84	40,16	24,18	71,13
	0,02	26,88	38,00	52,83	75,34

ktoré sú zaťažené šumom, ktorého smerodajná odchýlka je menšia ako $\sigma_0 < 0,01$. Pri zaťažení analytických signálov väčším šumom žiadny z testovaných kalibračných modelov nie je schopný predikovať koncentrácie validačných vzoriek s akceptovateľnou správnosťou.



Obr. 2. Závislosť súčtu štvorcov predikovaných reziduí (PRESS) od počtu faktorov v kalibračnom PCR modeli

Najväčšie hodnoty MSEP_{rel} boli získané pri predikcii nukleotidu UMP, a to vo všetkých kalibračných modeloch. Nesprávna predikcia tohoto nukleotidu je spôsobená tým, že jeho spektrum v rozsahu 220–290 nm vykazuje veľké hodnoty korelačných koeficientov so spektrami AMP aj GMP (viď. tabuľka III). Spektrá AMP a GMP sú vzájomne menej podobné ($\rho = 0,79$). Významný vplyv podobnosti spektier na správnosť predikcie koncentrácie potvrdzujú najmenšie hodnoty MSEP_{rel} pre nukleotid CMP, ktorého spektrum sa výrazne odlišuje od zvyšných troch nukleotidov.

Korelačné vzťahy spektier analytov môžu teda významne ovplyvňovať správnosť predikcie koncentrácie neznámych vzoriek. Tento záver potvrdzujú aj výsledky získané kombináciou metódy MLR s optimalizáciou počtu vlnových dĺžok pomocou procedúry genetického algoritmu (GA). Významné zlepšenie predikcie (pokles hodnôt MSEP_{rel} asi o 50%) môžeme vysvetliť tým, že vlnové dĺžky, pri ktorých je korelácia spektier najvyššia, sú z riešenia GA vynechané. Zníženie dimenzie matice signálov z pôvodných $\mathbf{R}_{12 \times 36}$ na $\mathbf{R}_{12 \times 17}$, resp. $\mathbf{R}_{12 \times 22}$ konečný výsledok významne neovplyvní.

Použitie metód PCR a PLS sa všeobecne doporučuje na spracovanie viacrozmerných analytických signálov, v ktorých buď spektrá analytov, alebo ich elučné profily, sa silne prekrývajú¹⁰, alebo sú silne zašumené¹¹. Vhodne voleným počtom relevantných faktorov je možné do určitej miery eliminovať vplyv korelácie v dátach (prekrytie spektier) alebo šumu. Za ideálnych podmienok je počet relevantných faktorov rovný počtu analytov v kalibračnom modeli. Vlastné čísla kalibračnej matice s poradovým číslom väčším ako je počet analytov už reprezentujú iba neúžitelnú informáciu t.j. šum.

Pri aplikácii týchto metód na naše modelové dáta sa ukázalo, že pri zaťažení šumom, ktorého $\sigma_0 > 0,02$, kalibračný model modeluje predovšetkým šumovú informáciu. Počet požadovaných relevantných faktorov nebolo možné jednoznačne určiť. Minimum optimalizačných funkcií

Tabuľka V
Stredná chyba predikcie koncentrácií nukleotidov vo validačných vzorkách

Nukleotidy	σ_0	$10^5 \cdot \text{MSEP}$				
		CMP	AMP	GMP	UMP	celková
MLR	0,001	0,0103	0,0491	0,0222	0,0695	0,0377
	0,005	0,0615	0,2404	0,1003	0,3477	0,1871
	0,01	0,1514	0,7243	0,2609	0,9144	0,5137
	0,02	0,3413	0,6766	0,6921	0,9600	0,5992
MLR-GA	0,001	0,0100	0,0280	0,0245	0,0293	0,0206
	0,005	0,0406	0,0938	0,0961	0,1069	0,0752
	0,01	0,1002	0,3067	0,1899	0,4416	0,2469
	0,02	0,2335	0,5008	0,3100	0,7817	0,4291
PCR	0,001	0,0104	0,0504	0,0218	0,0712	0,0386
	0,005	0,0658	0,2705	0,1021	0,3952	0,2107
	0,01	0,1337	0,6440	0,2607	0,8245	0,4633
	0,02	0,3625	0,6532	0,6230	0,8577	0,5530
PLS	0,001	0,0104	0,0501	0,0218	0,0711	0,0385
	0,005	0,0657	0,2553	0,1048	0,3657	0,1973
	0,01	0,1524	0,6902	0,2768	0,8621	0,4898
	0,02	0,3459	0,6530	0,6049	0,9131	0,5634

používaných na výber počtu faktorov v programe Matlab (CROSS, PRESS)^{11,13} bolo veľmi ploché v rozsahu hodnôt 3–15. Hodnoty oboch funkcií sa výrazne neznižili ani pri použití všetkých 15 faktorov, čo je celkový počet vlastných čísel kalibračnej matice. Je teda zrejme, že hodnota šumu $\sigma_0 \approx 0,02$ v spektrálnych dátach nukleotidov predstavuje hraničnú hodnotu pre kvantifikáciu RNA-nukleotidov metódami PCR a PLS v intervale vlnových dĺžok 220–290 nm.

Závislosť funkcie PRESS od počtu faktorov, pre dáta zaťažené rôznym šumom, je na obr. 2. Z obrázku je vidieť, že pre hodnoty šumu $\sigma_0 < 0,01$ funkcia PRESS vykazuje minimum pri hodnote 4, čo zodpovedá počtu analytov v modeli. Pri vyšších hodnotách šumu minimum je neurčité a s rastúcim počtom použitých faktorov sa hodnota PRESS neznižuje. Značí to, že užitočná informácia je silne prekrytá neužitočnou informáciou t.j. šumom.

Záverom môžeme konštatovať, že viacrozmerné kalibračné techniky MLR, PCR a PLS sú pre spracovanie spektrálnych dát nukleotidov CMP, AMP, GMP a UMP približne rovnocenné ak šum spektrálnych dát neprekročí hodnotu $\sigma_0 \approx 0,02$. Pri optimalizácii počtu vlnových dĺžok, napríklad s použitím genetických algoritmov, môžeme chybu predikcie metódy MLR znížiť asi o 50 %.

Ďalšie zníženie predikčnej chyby kalibračných modelov je možné dosiahnuť s použitím vhodných procedúr na

filtráciu šumu ešte pred tvorbou kalibračného modelu. Tento prístup bude predmetom ďalšej práce.

Táto práca vznikla za finančnej podpory VEGA MŠ a SAV v rámci projektu č.1/6222/99.

LITERATÚRA

1. Martens H., Naes T.: *Multivariate calibration*. Wiley, Chichester 1989.
2. Vandeginste B. M. G., Massart L. M., Buydens L. M. C., De Jong S., Lewi P. J., Smeyers-Verbeke J.: *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*, díl B. Elsevier, Amsterdam 1998.
3. Meloun M., Militký J.: *Kompendium statistického zpracování dat*. Academia, Praha 2002.
4. Booksh S. K., Kowalski R. B.: *Anal. Chem.* 66, 782A (1994).
5. Reijenga J. C., Verheggen Th. P. E. M., Everaerts F. M.: *J. Chromatogr.* 267, 75 (1983).
6. De Bruijn C. H. M. M., Reijenga J. C., Aben G. V. A., Verheggen Th. P. E. M., Everaerts F. M.: *J. Chromatogr.* 320, 205 (1985).
7. Lorber A.: *Anal. Chem.* 58, 1171 (1986).
8. Goldberg D. E.: *Genetic Algorithms in Search, Optimisation, and Machine Learning*. Addison-Wesley

Publishing Company, New York 1989.

9. Michalewicz Z.: *Genetic Algorithms + Data Structures = Evolution Programs*. Springer-Verlag, Berlin 1996.
10. Sentellas S., Saurina J., Hernández-Cassou S., Galceran T. M., Pignou L.: *J. Chromatogr.* **909**, 259 (2001).
11. Brereton R. G.: *Analyst* **125**, 2125 (2000).
12. Faber N. M., Bro R.: *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **61**, 133 (2002).
13. Kramer R.: *Chemometrics Toolbox for Use with Matlab*. The MathWorks, Natick 1994.

M. Foltin^a, J. Šul'aková^a, M. Foltin^b, and I. Sekaj^b
(^a*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Comenius University, Bratislava, and* ^b*Department of Automatic Control Systems, Faculty of Electrical Engineering and Information Technology, Slovak University of Technology*): **Comparison of Multiway Calibration Techniques in Determination of RNA Nucleotides**

The quality of several multiway calibration models of spectral data of four RNA nucleotides with different noise is compared. An own genetic algorithm for optimization of the number of wavelengths in spectral matrix for multiple linear regression methods (MLR) was used. Useful analytical information was obtained only for data with noise $\sigma_0 < 0.02$. The prediction error of analyte concentration using a combination of MLR and genetic algorithm was decreased by ca. 50 %.

VÝUKA CHEMIE

MULLIKENOVY HODNOTY ELEKTRO-NEGATIVIT APLIKOVANÉ NA NĚKTERÉ ORGANICKÉ SLOUČENINY

JOSEF PACÁK^a a JIŘÍ PODEŠVA^b

^a Katedra učitelství a didaktiky chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 3, 128 42 Praha 2,
^b Ústav makromolekulární chemie, Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6
pacak@natur.cuni.cz, podesva@imc.cas.cz

Došlo 21.11.03, přepracováno 20.8.04, přijato 15.9.04.

Klíčová slova: elektronegativita, Pauling, Mulliken, I-efekt vodíku ve vazbě C-H

Při vysvětlování reakčních mechanismů za pomoci indukčních efektů se téměř výlučně používá hodnot Paulingovy stupnice elektronegativity¹⁻³. Pauling při jejich výpočtu vycházel z teorie valenční vazby a navrhl numerickou stupnici elektronegativit χ vyjádřenou pomocí disociačních energií vazeb D (obvykle v eV). Rozdíl v elektronegativitách atomů A a B pak vyjádřil výrazem

$$\chi_A - \chi_B = 0,102 [D_{A-B} - \frac{1}{2} (D_{A-A} + D_{B-B})]$$

kde indexy A-A, B-B a A-B označují příslušné vazby.

Vedle Paulingových hodnot elektronegativit existují i jiné, např. Mullikenovy⁴⁻⁷, které se vypočtou jako polovina součtu ionizačního potenciálu a elektronové afinity příslušného prvku (I a E_{af}):

$$\chi = \frac{1}{2} (I + E_{af})$$

Hodnoty Paulingových a Mullikenových elektronegativit se pro většinu prvků příliš neliší. Pro organickou chemii je však významný nesoulad u hodnot elektronegativit uhlíku a vodíku. Zatímco podle Paulinga platí $\chi_C > \chi_H$ (2,55 a 2,20), podle Mullikena naopak $\chi_C < \chi_H$ (2,67 a 3,06).

Tento rozpor nás přivedl na myšlenku posoudit, jak se změní kvalitativní úvahy o reakčních mechanismech, pokud se místo Paulingových hodnot elektronegativity uhlíku a vodíku použijí hodnoty Mullikenovy. A dospěli jsme k závěru, že tato alternativa lépe vysvětluje některé jevy. Rozdíl spočívá v tom, že v kovalentní vazbě C-H se podle Mullikena vytváří na uhlíkovém atomu částečný kladný náboj, δ^+ , a na atomu vodíku částečný záporný náboj, δ^- . Tedy vůči atomu uhlíku jeví atom vodíku záporný I-efekt.

Samozřejmě, tyto úvahy jsou poněkud spekulativní a mohlo by se zdát, že při současné úrovni kvantové chemie, která je schopna učinit kvantitativní předpověď rozlo-

žení elektronových hustot v dané částici, nejsou potřebné. Zvládnutí kvantové chemických výpočetních technik však vyžaduje náročnou přípravu a ne každý chemik si je dokáže osvojit. Nejen pro účely výuky organické chemie, ale i pro běžnou praxi syntetického chemika si proto svou praktickou hodnotu uchovává i klasický formalismus elektronových vzorců.

Uvedeme nyní porovnání použití Paulingových a Mullikenových stupnic elektronegativity na některé reakční mechanismy.

Použití Mullikenových hodnot elektronegativity se zdá být velmi užitečné při vysvětlování průběhu reakcí, vyplývající např. ze snižování reaktivity karbonylové skupiny vůči nukleofilním činidlům od methanalu přes ostatní aldehydy ke ketonům. Je to zřejmě proto, že dvojice vazeb C-H v molekule methanalu významně zvyšuje již přítomný částečný kladný náboj uhlíkového atomu karbonylu, a tím jej činí vůči nukleofilním činidlům atraktivnějším. U ostatních aldehydů k tomuto zvýšení přispívá jen jedna vazba C-H, u ketonů žádná.

Praktickým důkazem výše uvedených úvah je to, že methanal existuje ve vodném prostředí zcela jako hydrát, ethanal jen z 58 % a propanon jej vůbec netvoří.

Symbole Σ^+ , Σ'^+ a Σ''^+ v následujících schématech označují velikost částečných nábojů na příslušném atomu, přičemž apostrof či apostrofy značí jejich odlišnost. Elektronový posun je znázorněn klínky.

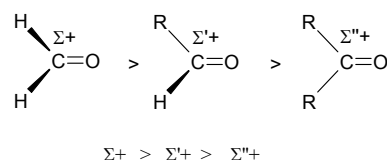


Schéma 1

Nelze pochybovat o tom, že při těchto úvahách hrají v přístupu molekul nukleofilních činidel ke karbonylové skupině významnou úlohu i sterické faktory (především malý objem vodíkových atomů), což ale není v rozporu s našimi úvahami o ovlivňování těchto procesů zvyšováním částečného kladného náboje uhlíkového atomu negativním I-efektem atomu H.

Podobně lze vysvětlit větší kyselost methanové kyseliny oproti jiným nesubstituovaným karboxylovým kyselinám. Vodíkový atom vázaný v molekule kyseliny methanové k uhlíkovému atomu karboxylu zvyšuje svým negativním I-efektem kladný náboj na tomto uhlíkovém atomu již přítomný. Tím podporuje snadnější odštěpení protonu za vzniku karboxylátového aniontu, což do jisté míry připomíná chování α -halogenkyselin. Alkyllová skupina takový efekt nejeví, a proto ostatní karboxylové kyseliny se svojí kyselostí kyselině methanové nevyrovňají.

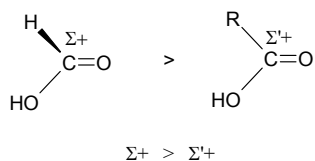


Schéma 2

Mullikenovými hodnotami elektronegativit prvků C a H lze rovněž vysvětlit zvýšenou reaktivitu karboxylátové skupiny alkylformiátů při Claisenových reakcích oproti jiným podobným esterům. I zde k ní přispívá negativní I-efekt atomu H.

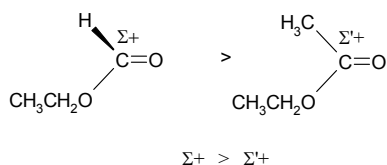


Schéma 3

Dalším zajímavým příkladem aplikace Mullikenových hodnot je stoupající stálost karbokationtů od primárních k terciárním. Vazby C-H ještě zvyšují svým záporným indukčním efektem náboj kladně nabitého uhlíkového atomu karbokationtu, a tím jej činí méně stabilním. To zdůvodňuje tendenci primárních karbokationtů

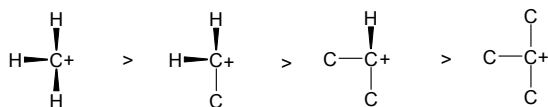


Schéma 4

k přesmykům na stálejší karbokationty sekundární nebo terciární. Toto vysvětlení větší stálosti *terc-* resp. *sek-* karbokationtů, např. meziproduktů regioselektivních elektrofilních adicí na C=C vazbu nesouměrných alkenů, racionalizuje empirické Markovnikovo pravidlo.

Zajímavá je aplikace Mullikenových hodnot elektronegativity na průběh elektrofilní substituce arenů, která se obejde bez zavádění nejasného pojmu hyperkonjugace. Tak např. vstup elektrofilu do *m*-polohy molekuly toluenu vyvolá u meziproduktu reakce vznik zvýšeného kladného náboje v polohách 2, 4 a 6, protože k celému kladnému náboji se přičítá částečný kladný náboj, způsobený negativním I-efektem atomu H. Při substituci do poloh *o*, *p* se bude tento zvýšený náboj objevovat jen v polohách 3 a 5, protože poloha 1 je obsazena methylovou skupinou. Tento meziprodukt je tedy stálejší, a proto elektrofilní substituce toluenu bude přednostně probíhat do poloh *o*, *p*, (viz schéma 5).

Skutečnost, že elektrofilní substituce u vícealkylovaných benzenů, např. u mesitylenu, je ještě snazší než u toluenu, lze vysvětlit větším počtem alkylových skupin, které nezpůsobují zvyšování jednotkového kladného náboje negativním I-efektem vodíkových atomů, (viz schéma 6).

Z předchozích příkladů vyplývá, že Mullikenovy hodnoty elektronegativit C a H při výkladech uvedených reakčních mechanismů dobře vyhovují. Nevidíme proto objektivní důvod, proč by bylo nutné dávat při jejich objasňování přednost hodnotám Paulingovým před Mullikenovými.

Faktorů ovlivňujících chemické děje je mnoho a samozřejmě nelze vysvětlování průběhu reakcí zúžit jen na rozdílné pojetí polarizace vazby C-H podle Mullikena a Paulinga. Nicméně se domníváme, že toto „přepólování“ proti dosavadním zvyklostem může sehrát při výkladu reakčních mechanismů významnou úlohu a vnést zásadní změnu pohledu na některé z nich.

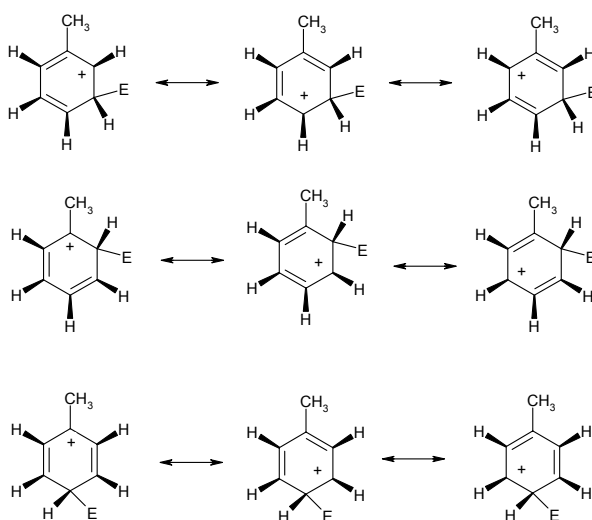


Schéma 5

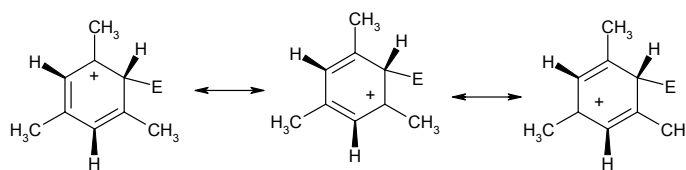


Schéma 6

LITERATURA

1. Pauling L.: *The Nature of the Chemical Bond*, 3. vydání. Cornell University Press, Ithaca, New York 1960.
2. Allred A. L.: *J. Inorg. Nucl. Chem.* 17, 215 (1961).
3. Allen L. C., Huheey J. E.: *J. Inorg. Nucl. Chem.* 42, 1523 (1980).
4. Mulliken R. S.: *J. Chem. Phys.* 2, 782 (1934).
5. Mulliken R. S.: *J. Chem. Phys.* 3, 573 (1935).
6. Simons G., Zandler M. E., Talaty E. R.: *J. Am. Chem. Soc.* 98, 7869 (1976).
7. Allen L. C.: *J. Am. Chem. Soc.* 111, 9003 (1989).

J. Pacák^a and J. Podešva^b (^a*Department of Teaching Chemistry and Didactics, Faculty of Science, Charles University of Prague,* ^b*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Mulliken Electronegativities Applied to Some Organic Compounds**

The application of Mulliken instead of Pauling electronegativities makes it possible to interpret more reliably some chemical properties of organic compounds.

Odborná skupina organické, bioorganické a farmaceutické chemie ČSCH



Sborník abstraktů

Konference
Pokroky v organické, bioorganické
a farmaceutické chemii

39. Konference

26. - 28. listopadu 2004

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 a pomáhají k uskutečnění této tradiční akce, jejíž význam stále roste. 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
Léčiva, 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



SYNTEZA ALKYLACNÍCH ČINIDEL ALLYLOVÉHO TYPU A JEJICH POUŽITÍ PRO KOMPLEXACÍ ŘÍZENOU REGIOSELEKTIVNÍ ALKYLACÍ β -CYKLODEXTRINU

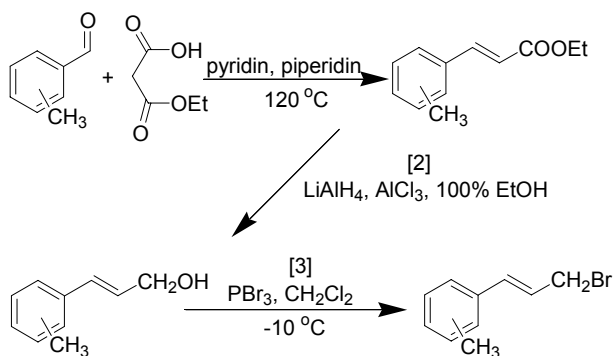
ANTONÍN BERAN a JINDŘICH JINDŘICH

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

Cyklohextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy, jejichž významnou vlastností je schopnost vytvářet inkluzní komplexy s organickými látkami. Komplexace je možno využít pro dosažení regioselektivní substituce hydroxylové skupiny CD komplexovaným činidlem. Jedním z takovýchto činidel je cinnamylbromid (cinBr), který ve vodném alkalickém roztoku poskytuje 20% výtěžek 3¹-O-cinnamyl- β -CD¹.

Cílem této práce bylo připravit jednoduché deriváty cinnamylbromidu, zvoleny byly *orto*-, *meta*- a *para*-methyl-cinBr (viz schéma), a zjistit, zda poskytují při alkylationi β -CD větší výtěžek nebo odlišnou regioselektivitu.

Syntetizovaná činidla však při stejné regioselektivitě poskytovala podstatně nižší výtěžky. Pro *orto*-methyl-cinBr 8.5%, pro *meta*-methyl-cinBr 4.9%. *Para*-methyl-cinBr s β -CD nereagoval.



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

LITERATURA

1. Kusák M.: *Diplomová práce*, PřF UK Praha, 2002.
2. Ryo T., Naoky U., Keisuke T., Kengo Y., Norihito S.: *J. Am. Chem. Soc.* 39, 9525 (2001).
3. Hammond M. L., Zambias R. A., Chang M. N., Jensen M. P., McDonald., Thompson K., Boulton D. A., Kopka I. E., Hand K. M., Opas E., Luell S., Bach T., Davies P., MacIntyre D. E., Bonney R. J., Humes J. L.: *J. Med. Chem.* 33, 908 (1990).

SYNTEZA SUBSTITUOVANÝCH TRIPTYCENŮ

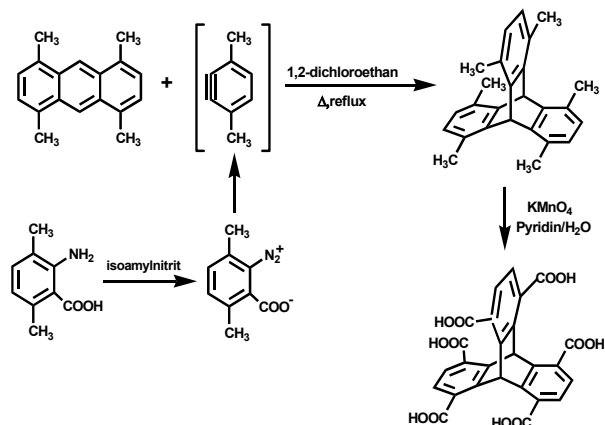
VÁCLAV DEKOJ^b, MARTIN BĚLOHRADSKÝ^a, PETR HOLÝ^a, MARKĚTA RYBÁČKOVÁ^a a JIŘÍ ZÁVADA^a

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

Triptycenové deriváty s různým počtem *para*-disubstituovaných aromatických jader tvoří zajímavé stavební bloky pro supramolekulární samoskladebné útvary.

Naše koncepce vychází z methylderivátů, které je možné využít pro transformaci na funkční skupiny – oxidací lze připravit karboxylové kyseliny, snadno přístupné jsou i halogenmethyl deriváty.

Syntéza těchto látek vychází z odpovídajících methylovaných anthracenů.



Schema 1: Syntéza triptycylhexakarboxylové kyseliny.

Arynovou adicí na methylované anthraceny získáme methylované triptyceny. Užitím nesubstituované anthranilové nebo dimethylantranilové kyseliny lze získat různě methylované triptyceny. Následuje finální oxidace methylderivátů na karboxylové kyseliny manganistanem draselným v pyridino-vodném roztoku. Příkladem je příprava 1,4,5,8,13,16-hexamethyltriptycenu a jeho transformace na odpovídající hexakarboxylovou kyselinu (Schema 1).

Uvedený postup umožňuje přípravu *para*-methyl-substituovaných triptycenů v gramových množstvích, což z těchto látek činí atraktivní synthony pro využití v supramolekulární chemii.

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

LITERATURA

1. Pakusch J., Ruechardt Ch.: *Chem. Ber.* 123, 2147 (1990).

TEORETICKÁ STUDIE A PŘÍPRAVA 1-HETERACYKLOPENTANŮ A JEJICH DERIVÁTŮ

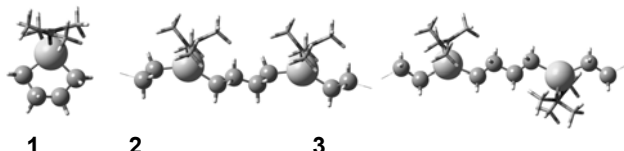
JAROSLAV KVÍČALA, ONDŘEJ BASZCZYŃSKI a DENISA HOŘČICOVÁ

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

C₂-symetrické chirální sloučeniny jsou perspektivními chirálními činidly, katalyzátory a pomocnými látkami. Poměrně novou skupinou takových látek jsou substituované 1-heteracyklopentany, jako je (2*R*,5*R*)-2,5-dimethylborolan,

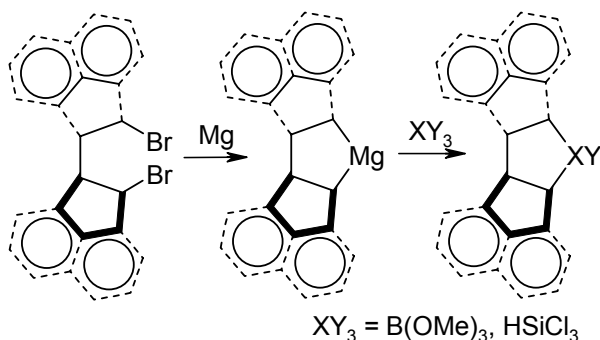
jedno z neúčinnějších hydroboračních činidel¹. Klíčovým krokem pro syntézu těchto látek je reakce 1,4-bifunkčních organokovových sloučenin s vhodnými heteroelektrofilny.

Jako první krok k teoretickému studiu těchto látek jsme pomocí DFT metod vypočetli energie rovnovážných geometrií 1-magnesia-, 1-bora- a 1-silacyklopentanů a jejich derivátů a porovnali je s energiemi jejich necyklických polymerních analogů. Ve vybraných případech jsme simulovali solvataci pomocí PCM metody a přidavku explicitních molekul rozpouštědla. Dále jsme pro substituované 1-heteracyklopentany porovnali energie C₂-symetrických sloučenin s analogicky substituovanými mezoformami.



Obr. 1 Vypočtené rovnovážné geometrie solvovaného cyklického (C₄H₈)Mg (1), *gauche*-poly(C₄H₈)Mg (2) a *anti*-poly(C₄H₈)Mg (3).

Z C₂-symetrických dibromidů jsme připravili pomocí normálního nebo Riekeho hořčičku odpovídající Grignardova činidla a podrobili je reakci s borovými nebo křemíkatými elektrofilními činidly.



Práce byla provedena za podpory GA ČR (grant č. 203/03/0496).

LITERATURA

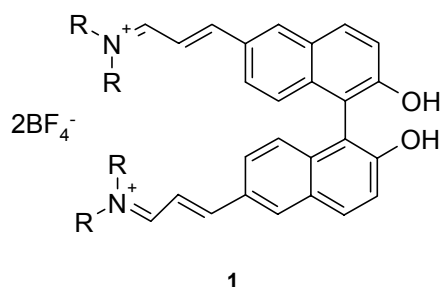
- Masamune S., Kim B., Petersen J.S., Sato T., Veenstra S., Imai T.: *J. Am. Chem. Soc.* 107, 4549 (1985).

APLIKACE INHERENTNĚ CHROMOFORNÍCH BINAFTOLOVÝCH DERIVÁTŮ PRO FOTODYNAMICKOU TERAPII

TOMÁŠ BŘÍZA^a, PETR VAŠEK^a, JARMILA KRÁLOVÁ^b, PAVEL MARTÁSEK^c a VLADIMÍR KRÁL^{a*}

^aÚstav analytické chemie, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bÚstav molekulární genetiky, AV ČR, Praha 6; ^cPrvní lékařská fakulta, UK, Praha
kralv@vscht.cz

Fotodynamická terapie představuje zajímavý přístup k léčení nádorových onemocnění kombinující záření vhodné vlnové délky s vlastnostmi zvoleného fotosensitizeru. Dosud byly pro tento účel využívány převážně deriváty jak přírodních, tak syntetických porfyrinů. V poslední době byla však připravena řada dalších oligopyrrolových makrocyclů, a to jak isomerů porfyrinů, (především porfycen je velice účinný pro generaci singletového kyslíku), tak expandovaných porfyrinů, které vykazují lepší vlastnosti než Fotofrin. Naším cílem bylo navrhnout, připravit a otestovat nové systémy pro fotodynamickou terapii¹. Jedním z možných kandidátů jsou polymethiniové sole, představující velmi zajímavé, stabilní konjugované chromoforní systémy. Cílem této práce byla příprava a užití chromoforních binaftolových derivátů. Naše strategie je založena na substituci dibrombinaftolových derivátů trimethiniovými a pentamethiniovými řetězci.



Podarilo se nám připravit nové deriváty struktury **1**, který vykazoval zajímavou schopnost indukovat apoptózu v rakovinových buňkách.

Autoři děkují za finanční podporu GACR grant č. 203/02/0420, 301/04/1315 a 309/02/1193.

LITERATURA

- Mishra A., Behera K. R., Behera K. P., Mishra K. P., Behera B. G.: *Chem. Rev.* 100, 1973 (2000).

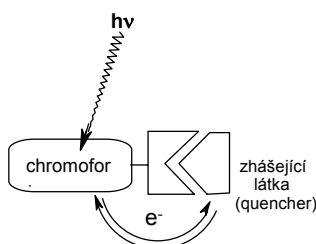
FOTOAKTIVNÍ SYSTÉMY PRO POHÁNĚNÍ CHEMICKÝCH REAKCÍ

RADEK CIBULKA^a a BURKHARD KÖNIG^b

Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bInstitut für Organische Chemie, Universität Regensburg, Universitätstraße 31, D-93040 Regensburg, Germany
cibulka@vscht.cz; burkhard.koenig@chemie.uni-regensburg.de

Příroda využívá světelnou energii pro pohánění chemických reakcí již od svého vzniku. Využití světla při endothermní přeměně vody a oxidu uhličitého na sacharidy při fotosyntéze představuje účinný a elegantní způsob přeměny světelné energie na energii chemickou. Odhalení struktury fotosyntetického centra^{1,2} a objasnění podstaty dějů spojených s fotosyntézou inspirovaly řadu chemiků k návrhu, přípravě a testování rozličných modelů fotosyntetických center.

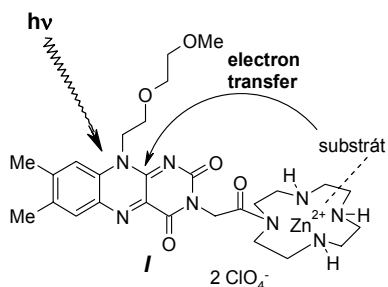
Podstatou procesů využívajících světelnou energii je fotoindukovaný přenos elektronů^{3,4}. Při něm dochází k přenosu elektronů mezi chromoforem v excitovaném stavu a zhášející látkou (*quencher*), která se nachází v jeho blízkosti (příklad viz schema 1). Chromofor vstupuje absorpcí fotonu do excitovaného stavu a stává se tak silnějším oxidačním či redukčním činidlem v porovnání se základním stavem. Excitovaná molekula chromoforu pak může snadno oxidovat elektronově bohatý či redukovat elektronově chudý substrát. Tento proces lze snadno monitorovat ztrátou luminiscence chromoforu.



Schema 1. Schematické znázornění fotoindukovaného přenosu elektronů v supramolekulárním systému.

Energie získaná absorpcí fotonů chromoforem umožňuje provedení reakcí, které bez přítomnosti světla neprobíhají. Cílem chemiků je proto příprava systémů, které po ozáření umožňují průběh reakcí s vysokou aktivací energií nebo endothermních reakcí⁵. Zvláštní pozornost je věnována systémům schopným po ozáření uvolňovat kyslík⁶ či vodík⁷ z molekuly vody. S cílem porozumět lépe mechanismu přenosu elektronů ve fotosyntetických centrech byla rovněž navržena a připravena řada umělých systémů obsahujících chromofor a zhášející látku (buď vázané kovalentně^{1,8} nebo pomocí nekovalentních interakcí²: vodíkových vazeb, koordinace, hydrofobních interakcí), na kterých byl studován mechanismus fotoindukovaného přenosu elektronů. V přednášce budou diskutovány příklady fotoaktivních systémů s výše uvedeným využitím.

Námí připravený komplex **I** představuje ve vodě rozpustný fotomediátor obsahující chromofor a vazebné místo pro substrát kovalentně vázané v jedné molekule. Zinek v komplexu Zn(II)-cyklen poskytuje volné místo pro reverzibilní navázání substrátu, který může po koordinaci vyměňovat intramolekulárně (a tudíž efektivněji než intermolekulárně) elektrony s flavinovou jednotkou (chromofor) excitovanou účinkem viditelného záření (schema 2). Dosud publikované mediátory byly představovány především jednoduchými molekulami, které neinteragovaly se substrátem.



Schema 2. Fotoindukovaný přenos elektronů mezi vázaným substrátem a excitovaným flavinem.

Tento projekt je podporován grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České Republiky (1K04105) a DAAD (projekt International Quality Network – Medicinal Chemistry).

LITERATURA

1. Deisenhofer J., Epp O., Miki K., Huber R., Michel H.: *Nature* 318, 618 (1985).
2. Deisenhofer J., Michel H.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 28, 848 (1989).
3. Whitten D. G.: *Acc. Chem. Res.* 13, 83 (1980).
4. Ward M. D.: *Chem. Soc. Rev.* 26, 365 (1997).
5. Balzani V., Bolletta F., Ciano M., Maestri M.: *J. Chem. Educ.* 60, 447 (1983).
6. Yagi M., Kaneko M.: *Chem. Rev.* 101, 21 (2001).
7. Okura I.: *Coord. Chem. Rev.* 68, 53 (1985).
8. Holten D., Bocian D. C., Lindsey J. S.: *Acc. Chem. Res.* 35, 57 (2002).

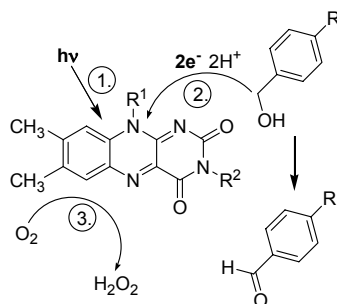
DERIVÁTY FLAVINU JAKO MEDIÁTORY FOTOOXIDACE ALKOHOLŮ

RADEK CIBULKA^a, LENKA MARKOVÁ^a a BURKHARD KÖNIG^b

^aÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; e-mail: cibulka@vscht.cz; ^bInstitut für Organische Chemie, Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, D-93040 Regensburg, Germany; e-mail: burkhard.koenig@chemie.uni-regensburg.de

Flaviny patří mezi biologicky aktivní látky, které se podílejí na činnosti řady enzymů¹ jako oxidační či redukční činidla. Oxidační síla flavinů ($F_{I_{ox}}$) resp. redukční síla jejich redukované formy ($F_{I_{red}}$) se silně zvyšuje přechodem do excitovaného stavu². Excitací flavinů, která probíhá účinkem viditelného světla, tak lze získat energii až 241 kJ/mol.

Silného oxidačního účinku excitovaného flavinu bylo využito při aerobní oxidaci *para*-substituovaných benzylalkoholů ($R = Cl, OCH_3$) účinkem katalytického množství 2',3',4',5'-tetraacetylriboflavinu³. Tato reakce probíhá mechanismem intermolekulárního fotoindukovaného přenosu elektronů. Redukovaný flavin je zpětně reoxidován přítomným kyslíkem (schema 1).



Schema 1. Katalytická fotooxidace benzylalkoholu účinkem flavinů

Reakce vyžadující přenos elektronů probíhá daleko rychleji, pokud je intramolekulární. Proto jsme připravili nový

flavinový derivát obsahující vazebné místo pro substrát. Tento fotokatalyzátor je po excitaci schopen vázat a posléze oxidovat 4-methoxybenzylalkohol intramolekulárním přenosem elektronů. Další možnost zvýšení pravděpodobnosti kontaktu substrátu s flavinovým fotokatalyzátorem představuje solubilizace obou reagentů v nanoagregátech (např. micelách).

Autoři děkují Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy za finanční podporu projektu číslo: 1K04105.

LITERATURA

1. Müller F., (Ed.): *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes*, CRC: Boca Raton, FL, 1991.
2. Fritz B. J., Kasai S., Matsui K., Photochem. Photobiol. 45, 113 (1987).
3. Fukuzumi S., Yasui K., Suenobu T., Ohkubo K., Fujitsuka M., Ito O., J. Phys. Chem. A 105, 10501 (2001).

PYRAZINY PŘÍRODNÍHO A SYNTETICKÉHO PŮVODU

MARTIN DOLEŽAL

*Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv,
Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského
1203, Hradec Králové 500 05
dolezalm@faf.cuni.cz*

Před čtyřiceti lety vyšel souborný referát s názvem *Chemie pyrazinu*¹. Od té doby bylo získáno obrovské kvantum nových informací. Pyraziny se v přírodních zdrojích vyskytují v relativně malých množstvích, proto byl počet známých derivátů přírodního původu před zavedením citlivých analytických metod dlouho relativně nízký. Rovněž počet synteticky získaných sloučenin nebyl do poloviny 20. století vysoký, obrat nastal teprve na přelomu 70. a 80. let minulého století. Od 70. let byla intenzivně studována role jednoduchých látek odvozených od pyrazinu v přírodě, především v rostlinách či hmyzu, kde pyraziny plní úlohu atraktantů, feromonů či signálních látek. Paralelně byly podobné látky objeveny i v potravinách, a následně zjišťovány i jejich senzorické vlastnosti (vonidla, chutidla). Zároveň byl potvrzen i mechanismus tvorby pyrazinového jádra v přírodních zdrojích. Pyrazinové sloučeniny jsou vytvářeny rovněž celou řadou plísní, např. baktericidně účinné antibiotikum aspergillová kyselina, příp. antifungálně aktivní pigment pulcherrimin.

Dnes jsou synteticky připravené pyraziny běžně používány jako identická „vonidla“ či „chutidla“ při výrobě umělých pokrmových tuků, instantní kávy, při výrobě cukrovinek či v tabákovém průmyslu². Synteticky připravené pyraziny vykazují rovněž celou škálu biologických účinků. Některé z nich se používají jako důležitá léčiva. Prvními z nich byly sulfonamidové chemoterapeutikum sulfapyrazin a jeho strukturální varianta sulfalen a antituberkulotikum pyrazinamid. Dalšími důležitými léčivy jsou např. kalium šetřící diuretikum amilorid, hypolipidemikum acipimox, perorální antidiabetikum glipizid, nebenzodiazepinové hypnotikum zopiklon, potenciální antineoplastikum

pyrazindiazohydroxid či zajímavé antivirotikum 6-fluor-3-hydroxypyrazin-2-karboxamid.

Deriváty pyrazinu přírodního či syntetického původu představují velmi významný zdroj účinných sloučenin pro potravinářství, kosmetiku a především medicínu.

Studie je součástí projektu IGA Ministerstva zdravotnictví ČR č. 1A/8238-3.

LITERATURA

1. Nováček L., Palát K., Čeladník M.: Chem. Listy 57, 298 (1963).
2. Flavors & Fragrances 2003-2004. Sigma-Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee 2003, 140 p.

SYNTÉZA DERIVÁTŮ ELIPTICINU A VÝPOČTY JEJICH INTERAKCÍ S PÁRY BÁZÍ DNA (*ab initio* A EMPIRICKÉ POTENCIÁLY)

MARTIN DRAČÍNSKÝ^a, JAN SEJBAL^a, OBIS D. CASTAÑO^b

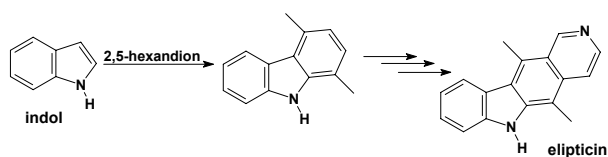
*^aKatedra organické chemie PŘF UK, Albertov 6, 12843 Praha 2;
^bDepartamento de química física, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Španělsko
martindraca@yahoo.com*

Elipticin a jeho deriváty (zejména 9-hydroxyderiváty) jsou protinádorová léčiva¹. Dosud není znám mechanismus jejich působení, silná vazba na DNA (zejména interkalace) je však nutnou podmínkou jejich účinku².

Pro naše budoucí NMR experimenty jsme se rozhodli pro přípravu několika derivátů elipticinu. Je známa celá řada metod přípravy elipticinu a jeho derivátů^{3,4}, žádná však není zcela univerzální pro přípravu různě substituovaného základního skeletu. Jako nejvhodnější se ukázala syntéza vycházející z indolu a 2,5-hexandionu. Tímto způsobem jsou v jednom reakčním kroku vybudovány kruhy A, B a C elipticinu. Následující sekvencí pěti reakcí lze připravit elipticin ve 12 procentním výtěžku (vzhledem k výchozímu indolu).

Jinou možností jak studovat interakce DNA s interkalátory je výpočetní chemie. Nejjednodušší model pro popis interkalujících systémů je jeden pár bází a jedna molekula interkalátoru⁵. I pro tento jednoduchý model jsou výpočty interakční energie *ab initio* velmi náročné (jak časově tak na počítačové vybavení) a pro rozsáhlejší systémy jsou zcela neproveditelné. Empirické potenciály se běžně používají pro výpočet geometrií a dalších vlastností (včetně termodynamických) a lze je použít i v případě velkých molekul (DNA, proteiny).

V této práci byly provedeny výpočty *ab initio* interakční energie pěti různých derivátů elipticinu s páry bází DNA (adenin-thymin a guanin-cytosin) a byla zkoumána závislost interakční energie na vzdálenosti mezi interkalátorem a párem bází a na úhlu pootočení mezi nimi. Výsledky byly porovnány se třemi různými empirickými potenciály a byla vyhodnocena účinnost jednotlivých potenciálů.



LITERATURA

1. Fosse P., Rene B., Charra M., Paoletti C., Saucier J.M.: *Mol. Pharm.* 42, 590 (1992).
2. Auclair C.: *Arch. Biochem. Biophys.* 259, 1 (1987).
3. Gribble G.W., Saulnier M.G.: *Heterocycles* 23, 1277 (1985).
4. Barone R., Chanon M.: *Heterocycles* 16, 1357 (1981).
5. Řeha D., Kabeláč M., Ryjáček F., Šponer J., Šponer J. E., Elstner M., Suhai S., Hobza P.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 3366 (2002).

BIOFARMACIE – JAKÉ JSOU JEJÍ ŠANCE V ČESKÉ REPUBLICE?

LADISLAV CVAK^a a MARTIN FUSEK^b^a*IVAX Pharmaceuticals s.r.o., Ostravská 29, 747 70, Opava;*^b*Sigma-Aldrich, s.r.o., Pobřežní 46, 186 00, Praha 8**ladislav_cvak@ivax-cr.com; mfusek@europe.sial.com*

Biotechnologie vstoupila do historie farmacie již mnohokrát. Stačí připomenout antibiotika, námelové alkaloidy, cyklosporin a jiná, dnes běžně používaná léčiva. Podstatnou částí jejich výroby je mikrobiologický postup, který danou látku produkuje. Produktem těchto výrob jsou pak komplikované, nicméně v zásadě dobře fyzikálně a chemicky charakterizovatelné molekuly s relativně nízkou molekulovou hmotností. Výroba a distribuce těchto léčiv se řídí v podstatě stejnou legislativou jako výroba a distribuce molekul, které jsou vyrobeny klasickou organickou syntézou či izolací z rostlinného materiálu.

V posledních dvaceti letech však pozorujeme nástup nových biofarmak – léčiv připravených za pomoci manipulace s genovou výbavou organismu, který slouží jako hostitel pro mikrobiologickou výrobu. Konkrétním příkladem může být výroba lidského insulinu a jeho derivátů, které jsou produkovány bakteriemi, do jejichž buněk byla vnesena příslušná genetická informace (tzv. rekombinantní insulin). Insulin je polypeptid nebo malý protein, skládající se dvou řetězců tvořených 51 aminokyselinami. V současnosti je jeho produkce v bakteriích základem výroby v několika farmaceutických firmách. Všechny tyto firmy vyrábějí a distribuují insulin pod vlastní ochrannou značkou jako originální léčivo. Znamená to, že před uvedením na trh musel daný produkt projít stejnými procedurami jako každé nové léčivo, tedy velmi nákladnými klinickými zkouškami¹. Podobnými příklady by mohly být další, dnes už běžně vyráběné a používané rekombinantní proteiny jako interferony, erythropoietin či růstové faktory, tedy vesměs proteiny, po chemické stránce ještě složitější než insulin.

Vedle rekombinantních proteinů jsou nyní používána další nová biofarmaka jako monoklonální protilátky či rekombinantní vakcíny. Celkem je nyní používáno v léčebné

praxi na desítky až stovky preparátů, které spadají do těchto takzvaných nových biofarmak. Všechna tato léčiva jsou registrována jako originální léčiva, vyrábět generická léčiva těmito postupy zatím není možné, protože neumíme dostatečně dobře porovnat kvalitativní parametry těchto látek², tj. prokázat jejich bioekvivalenci.

Současný stav je zřejmě ale pouze začátek biofarmaceutické revoluce. Jsou prováděny první pokusy s genovými terapiemi. Není pravděpodobně daleko doba, kdy bude možno „opravit“ poškozený genom daného jedince, zastavit translaci nebezpečného onkogenu či dodat určité tkáni chybějící protein. Otázkou zůstává, zda je reálné, že některý z těchto biotechnologických postupů bude sloužit výrobě léčiv v České republice. Rozhodně tomu nebude do té doby, než bude možnost alespoň některá biofarmaka vyrábět jako generická léčiva.

LITERATURA

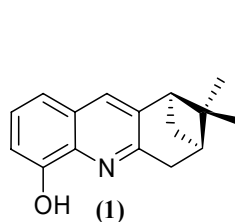
1. DiMasi J.A., Hansen R.W., Grabowski H.G., *J. Health Econ.* 22, 151 (2003).
2. Crommelin D.J.A., Storm G., Verrijck R., de Leede L., Jiskoot W., Hennik, W.E., *Int. J. Pharm.* 266, 3(2003).

SYNTECKÉ PŘÍSTUPY K CHIRÁLNÍM DERIVÁTŮM 8-HYDROXYCHINOLINU

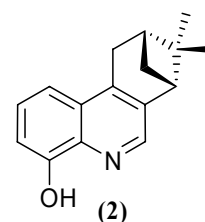
DUŠAN DRAHOŇOVSKÝ, THOMAS BARK a ALEX VON ZELEWSKY

*Department of Chemistry, University of Fribourg, Pérolles, 1700 Fribourg, Switzerland
dusan.drahoňovsky@unifr.ch*

8-Hydroxychinolin představuje široce užívaný ligand k přípravě komplexů kovů různého využití. Anelací pinenového skeletu je možné odvodit několik isomerních struktur chirálních ligandů, z nichž některé, jako např. **Pin[2,3]Oxin 1** a **Pin[3,4]Oxin 2** byly připraveny. Stericky náročnější **Pin[2,3]Oxin 1** tvoří bis-komplexy, jako je např. čtvercový Pd(II) komplex¹, ale v porovnání s **Pin[3,4]Oxinem 2** již nevytváří stabilní oktaedrické tris-komplexy. Práce směřuje k využití těchto nových stavebních bloků v oblasti tvorby supramolekulárních struktur², chirálních separací a organokatalýzy. Syntetické přístupy k ligandům vycházející z myrtenalu, myrtenolu nebo pinokarvonu budou hlavní náplní prezentace.



Pin[2,3]Oxine



Pin[3,4]Oxine

This work was supported by the Swiss National Science Foundation.

LITERATURA

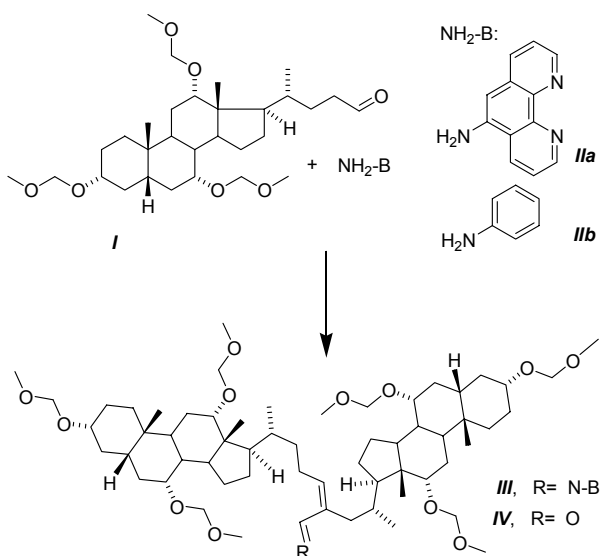
1. Bark T., von Zelewsky A.: unpublished results.
2. Knof U., von Zelewsky A.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 38, 302 (1999).

SUPRAMOLEKULÁRNÍ DENDRITICKÉ SYNTHONY ZE ŽLUČOVÝCH KYSELIN

LUKÁŠ DRAŠAR^{a,b}, VLADIMÍR KRÁL^{a,b}, VLADIMÍR POUZAR^a, IVAN ČERNÝ^a, MYKHAYLO DUKH^b a PAVEL DRAŠAR^{a,b}

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, 16610 Praha 6,

^bVysoká škola chemicko-technologická, 166 28 Praha 6
Pavel.Drasar@vscht.cz



Při výzkumu kondenzace Schiffovy base tvořené ze žlučové kyseliny a aromatických aminů jsme zjistili, že za použitých pokusných podmínek dochází ke vzniku produktů s rozvětvenou uhlíkatou kostrou typu **III**. Tento dendritický synthon otevírá možnost syntézy komplexních supramolekulárních systémů, u kterých se očekávají zajímavé vlastnosti. Tudiž jsme hlouběji zkoumali reakci 3 α ,7 α ,12 α -tri(methoxymethoxy)-5 β -cholan-24-alu (**I** cit.^{1,2}) s 5-amino-1,10-fenanthrolinem (**IIa**) v benzenu za basické katalýzy za vzniku rozvětveného kondenzačního produktu **IIIa**. Tato reakce byla studována i s jinými basemi, jako např. anilinem (**IIb**), u kterého byl nalezen analogický kondenzační produkt **IIIb**. V případě použití pyridinu a 1,10-fenanthrolinu nebyla zjištěna reakce žádná.

Předpokládali jsme, že kondenzace aldehydu je katalyzována basí, a proto jsme se zaměřili na srovnání našich čtyř basických reaktantů z tohoto hlediska. Jelikož jsme v literatuře nenalezli hodnoty pK_a pro všechny base, využili jsme softwarového produktu ACD/Labs pK_a DB (cit.³) k jejich predikci. Ze zjištěných hodnot je zřejmé, že basicita není klíčovým faktorem kondenzace. Zjištění je potvrzeno i faktem, že nebyl v žádném z případů izolován rozvětvený aldehyd **IV**.

Tabulka I, Basicita aminů

	vypočtené pK _a (cit. ³)	pK _a nalezené v literatuře
anilin IIb	4.61	4.69 (20 °C) ⁴
5-amino-1,10-fenanthrolin IIa	5.87	n/a
1,10-fenanthrolin	4.86	n/a
pyridin	5.23	5.28 (20 °C) ⁵

Výsledky byly získány za finančního příspěví účelové podpory výzkumu a vývoje v rámci projektů Z4 055 905 (IC, VP, VK), 223300006 (LD, PD) a COST D-31 č. 1P04OCD31.001 (MD).

REFERENCES

1. Dukh M., Černý I., Pouzar V., Král V., Drašar P.: *Chem. Listy* 95, 749 (2001).
2. Dukh M., Šaman D., Lang K., Pouzar V., Černý I., Drašar P., Král V.: *Org. Biomol. Chem.* 1, 3458 (2003).
3. ACD/Labs pK_a DB Software, ver. 8.07 (2004).
4. Bolton P.D., Hall F.M.: *Aust. J. Chem.* 20, 1797 (1967).
5. Green R.W.: *Aust. J. Chem.* 22, 721 (1969).

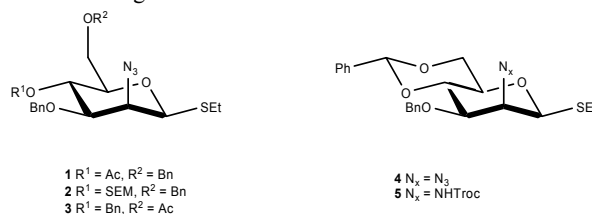
PREPARATION OF ORTHOGONALLY PROTECTED 2-AZIDO- AND 2-AMINOHEXOPYRANOSIDES DERIVATIVES

JAN VESELÝ^a, MARTINA DŽOGANOVÁ^a, TOMÁŠ TRNKA^a a MIROSLAV LEDVINA^b

^a Department of Organic Chemistry, Charles University, Albertov 2030, 128 40 Praha 2; ^b Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6
m_dzoganova@yahoo.com

Mono- and oligosaccharides derived from D-aminosugars are frequently occurring structural units in various biologically important oligosaccharides and their glycoconjugates, having multiple biological functions and activities, e.g. play a key role in molecular recognitions of the type cell-cell, cell-bacteria and cell-virus¹. Preparation of convenient sugar units necessary for building up of structural part of above mentioned oligosaccharides is known by direct functionalization of common D-aminosugars (D-glucosamine², D-galactosamine³ and D-mannosamine⁴). Other synthetic route to derivatives of aminosugars is *via* replacement of sulfonyloxy group at C-2 position to azide.

We have focused on preparation of orthogonally protected 2-amino-2-deoxy-D-mannopyranosides from the most common D-*gluco* precursors by S_N2 substitution at C-2. This synthetic approach affords building units for construction of various oligosaccharide chains.



REFERENCES

1. Varki A.: *Glycobiology* 3, 97 (1993).
2. Ledvina M., Zyka D., Ježek J., Trnka T., Šaman D.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 63, 577 (1998).
3. Hansson J., Garegg P. J., Oscarson S.: *J. Org. Chem.* 66, 6234 (2001).
4. Veselý J., Ledvina M., Jindřich J., Šaman D., Trnka T.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 68, 1264 (2003).

OPTIMALIZÁCIA PRÍPRAVY 2-METYLTETRALÓNU A 2-HYDROXY-2-METYLTETRALÓNU

VLADISLAV SEMAK, BORIS GÁŠPÁR, MAREK PAŽICKÝ, MARTA SALIŠOVÁ a ANDREJ BOHÁČ

*Katedra organickej chémie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina CH-2, 84215 Bratislava, Slovensko
salisova@fns.uniba.sk*

V nedávnej práci¹ sme opisali možnosť využitia 2-hydroxy-2-metyltetralónu **II** na prípravu a deracemizáciu α -aminokyselín. Pri syntéze zlúčeniny **II** sme ako východiskovú zlúčeninu použili 2-metyltetralón **I**, ktorý sme pripravili metyláciou 1-tetralónu. Za uvedených podmienok bola syntéza **I** sprevádzaná vznikom dimetylovaného vedľajšieho produktu, ktorý sme museli pracne oddeliť. Alkylácia však prebiehala selektívne, ak sme pri reakcii použili drahú fosfazénovú bázu. Cieľom našej ďalšej práce bolo preto nájdenie selektívnejších a lacnejších metód tak na prípravu zlúčeniny **I** ako aj **II**.

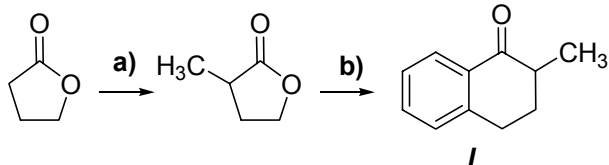


Schéma 1. a) $1/K_2CO_3$, DMC, 50atm, 210°C, autokláv b) benzen, $AlCl_3$

Zistili sme, že zlúčeninu **I** je možné pripraviť selektívne dvoma spôsobmi, uvedenými na schémach 1 a 2. Optimalizáciu podmienok vysokotlakovej syntézy² sme uskutočnili v autokláve. Navrhli a vysvetlili sme mechanizmus metylácie prostredníctvom DMC. Zlúčeninu **II** sme pripravili v dobrých výťažkoch, s využitím vzduchu na oxidáciu, podľa postupu naznačeného na schéme 2 -f.

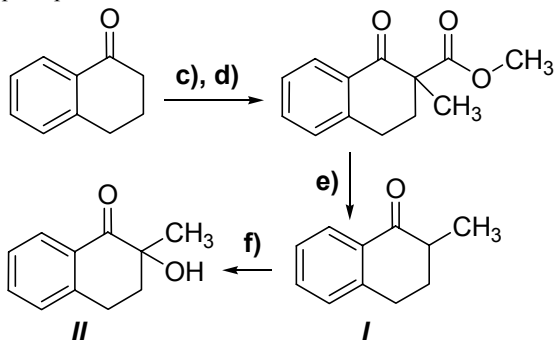


Schéma 2. c) $1/NaH$, DMC, d) MeI, e) AcOH, HCl, H_2O , f) O_2 (vzduch), 50% NaOH, $P(OMe)_3$, TEBA

Autori ďakujú Slovenskej grantovej agentúre za finančnú podporu grantu VEGA 1/0217/03 a za technickú pomoc firme SYNKOLA.

LITERATURA

1. Solladié-Cavallo A., Šedý O., Sališová M., Biba M., Welch C. J., Nafié L., Freedman, T.: *Tetrahedron: Asymmetry* 12, 2703 (2001).
2. Selva M., Marques C.A., Tundo P.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1.* 1994, 1323.

COORDINATION OF LIPOPHILIC ALKYL 2-PYRIDYL KETOXIMES TO Ni^{2+} IONS AS A PROBE FOR STUDYING THE AQUEOUS/MICELLAR INTERFACERADEK CIBULKA^a, RADEK JUROK^a, TILMANN SCHULZ^b and FRANTIŠEK HAMPL^a

^aDepartment of Organic Chemistry, ICT Prague, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bUniversität Hamburg, BRD
TilmannSchulz@gmx.de; hamplf@vscht.cz

One of the important features of self-assemblies as micelles, vesicles, and microemulsions is their influence on the course and rate of chemical reactions known as micellar catalysis or inhibition^{1,2}. Apart from the generally accepted concept of the attractive or palisade effect of ionic micelles on charged species, only sporadic attempts have been hitherto made to explain the influence of the nanoaggregate interface properties on chemical reactions occurring in these systems^{3,4}.

Formerly, we observed slow coordination of Ni^{2+} ions to lipophilic ligand tridecyl 2-pyridyl ketoxime (**Ig**) in cationic micelles of hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) requiring tens of minutes⁵. On the other hand, the same reaction with homologous methyl 2-pyridyl ketoxime (**Ia**) runs immediately after mixing the reactants. We suppose that the formation of Ni^{2+} complexes with ligand **Ig** (the stoichiometry of them being 1:2 or 1:3) at the nanoaggregate interface is disfavoured since one of the lipophilic ligand molecules must approach the metal ion from aqueous phase. Nevertheless, the mass transfer does exist to some extent in the proximity of the interface due to its dynamic character and there is some probability of the Ni^{2+} complex formation. Once formed, the Ni^{2+} complex exists due to its high stability. Therefore, the described complex formation seems to be a simply probe for the investigation of the character of the interface between the nanoaggregate and bulk aqueous phase.

Analysis of the kinetic data obtained from coordination of lipophilic alkyl 2-pyridyl ketoximes **I** (from C_6 to C_{16}) to Ni^{2+} in solutions of cationic, anionic, and non-ionic micelles reveals that the entitled reaction can serve as a probe for the investigation of the interface between micelles and bulk aqueous phase.

The authors thank to Grant Agency of the Czech Republic for financial support of this research, grant. No. 203/04/0488.

REFERENCES

1. Feiters M. C. in: *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Vol. 10, Chap. 11, p. 267. Elsevier Science, Ltd., Oxford, 1996, and references cited therein.
2. Shah D. O. (Ed.): *Micelles, Microemulsions, and Monolayers, Science and Technology*. M. Dekker, New York 1998.
3. Ogino K., Yoshida T., Yamamoto H., Tagaki W.: *Chem. Lett.* 1992, 1197.
4. Ismaël M., Tondre C.: *Langmuir* 8, 1039 (1992) and references cited therein.
5. Hampl F., Liska F., Mancin F., Tecilla P., Tonellato U.: *Langmuir* 15, 405 (1999).

PŘÍPRAVA POLYFLUOROVANÝCH ZIRKONA-CYKLOPENTADIENŮ NA BÁZI 1,8-BIS(PERFLUORHEXYL)OKT-4-YNU A JEJICH VYUŽITÍ

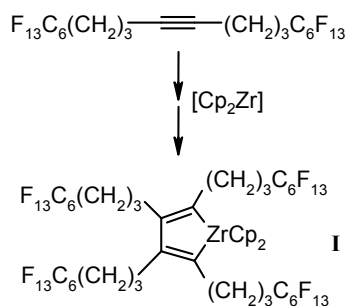
MARTIN HAVLÍK^a, TOMÁŠ BŘÍZA^a, MARTIN KOTORA^b, JAROSLAV KVIČALA^a a OLDŘICH PALETA^a

^a Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, Praha 6, 166 28;

^b Katedra organické chemie a radiochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Hlavova 2030, Praha 2, 128 40 havlikm@email.cz

Polyfluorované acetyleny s dvěma perfluoralkylovými řetězci izolovanými od trojné vazby ethylenovou nebo trimethylenovou spojkou jsou perspektivní stavební bloky v organické syntéze. Klíčovými intermediiaty těchto reakcí jsou polyfluorované trifláty¹.

S pomocí 1,8-bis(perfluorhexyl)okt-4-ynu jsme tak připravili polyfluoralkylované cyklopentadieny, butadieny a benzen se čtyřmi polyfluoralkylovými řetězci. Syntéza využívá zirkonacyklopentadienový komplex I jako klíčový intermediát.



Práce byla provedena za podpory GA AV ČR (grant č. A407220361).

LITERATURA

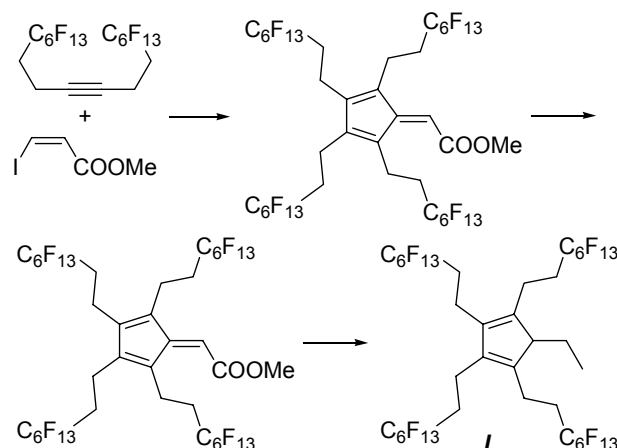
1. Bříza T., Kvičala J., Paleta O.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 68, 1043 (2003).

SYNTÉZA POLYPERFLUORALKYLOVANÉHO CYKLOPENTADIENU

DAVID HAZAFY^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 2030, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6 kotora@natur.cuni.cz

Schéma 1



V posledním desetiletí byla věnována značná pozornost reakcím v dvoufázovém prostředí organické rozpouštědlo/perfluorované rozpouštědlo. Zvláštní pozornost je pak zaměřena na použití katalyzátorů na bázi komplexů přechodných kovů obsahujících perfluoralkylované řetězce navázané na ligandy, které jsou příčinou jejich snadné rozpustnosti v perfluorovaných rozpouštědlech. Z velké skupiny potenciálních ligandů byla pozornost zaměřena převážně na perfluoralkylované fosfíny, jako zástupce nejčastěji používaných ligandů. Na druhé straně další skupina často používaných ligandů, cyklopentadieny, zatím stály na okraji zájmu².

Cílem této práce bylo pokusit se vypracovat metodu, která by v několika jednoduchých krocích umožnila připravit polyperfluoralkylované cyklopentadieny. Naše strategie byla založena na použití bis(perfluoralkylethyl)alkynů² a jejich [2+2+1]-cyklotrimerizační reakce³, která by v jednom kroku vedla k vytvoření požadovaného pětičlenného kruhu. Dalšími transformacemi funkčních skupin byl získán požadovaný 1-ethyl-2,3,4,5-[tetra(perfluoralkylethyl)cyklopentadien.

Práce byla podpořena grantem GA AV IAA4072203.

LITERATURA

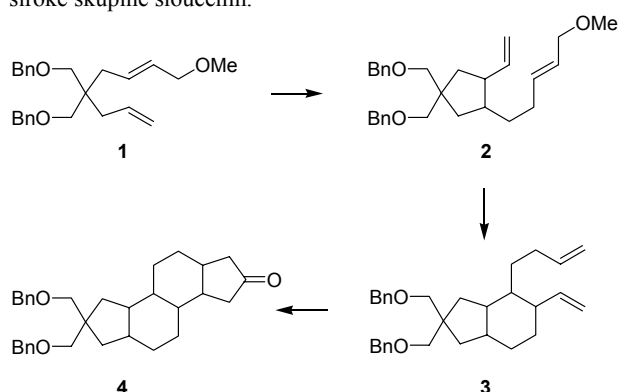
1. Bříza T., Kvičala J., Paleta O., Čermák J.: *Tetrahedron* 58, 3841 (2002).
2. Bříza T., Kvičala J., Paleta O.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 68, 1039 (2003).
3. Kotora M., Matsumura H., Gao G. H., Takahashi T.: *Org. Lett.* 3, 3467 (2001).

MODULÁRNÍ SYNTÉZA TERPENOIDNÍCH LÁTEK

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

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, Flemingovo nám. 2, 16610 Praha 6; ^bPřírodovědecká fakulta UK, Albertov 2030, 128 43 Praha 2
katora@natur.cuni.cz; herrmann@uochb.cas.cz

Terpenoidy a jejich deriváty představují významnou skupinu přírodních látek, z nichž mnohé vykazují biologickou aktivitu. Nejčastěji jsou získávány izolací z přírodního materiálu a následnou derivatizací. Je proto v syntetickém zájmu vypracovat dostatečně obecnou syntetickou cestu k této široké skupině sloučenin.



Náš přístup je založen na modulární syntéze využívající jedné „one-pot“ reakční sekvence – stechiometrické cyklizace 1-alkoxy-2,7-dienů Negishiho činidlem¹ (Cp_2ZrBu_2), následované transmetalací (CuCl) a allylací² tak, aby produkt této reakční kaskády nesl opět stejné funkční skupiny jako výchozí látka a mohl tedy reagovat stejnou reakcí a mechanismem znovu za vzniku dalšího cyklu. Vhodným počtem takových reakčních kaskád by pak mělo být možné vystavět polycyklický skelet. Volba substrátu pro první cyklizaci a použití různých allylhalogenidů (modulů) pro allylací by měla umožnit funkcionalizaci skeletu. Společným jmenovatelem těchto reakčních kaskád je právě dibutylzirkonocen (Negishiho reagent).

Jako modelový substrát byl vybrán 1-methoxy-2,7-dien **1**, který lze snadno připravit ve 4 krocích. Jeho cyklizací za výše uvedených podmínek byl získán methoxyderivát **2**. S ním provedená stejná reakční sekvence poskytla α,ω -dien **3**, který po cyklizaci a karbonylaci³ poskytl tetracyklický keton **4**. Různé syntetické a stereochemické aspekty výše popsaných reakčních sekvencí budou diskutovány.

LITERATURA

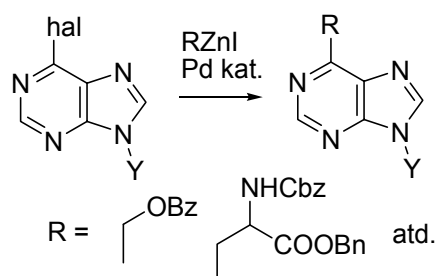
1. Takahashi T., Kondakov D. Y., Suzuki N. *Organometallics* 13, 3411 (1994).
2. Kotora M., Umeda C., Ishida T., Takahashi T., *Tetrahedron Lett.* 38, 8355 (1997).
3. Negishi, E.; in *Comprehensive Organic Synthesis*; Eds Trost, B. M.; Paquette L. A.; Pergamon: 1991, Vol. 5, 1163.

SYNTÉZY NOVÝCH PURINOVÝCH DERIVÁTŮ NESOUCÍCH FUNKCIONALIZOVANÉ C-SUBSTITUENTY

MICHAL HOCEK*, PETR ČAPEK a PETER ŠILHÁR

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
hocek@uochb.cas.cz

Modifikované puriny nesoucí C-substituenty v poloze 6 jsou důležité biologicky aktivní látky a jsou připravovány cross-coupling reakcemi 6-halogenpurinů s organokovy.¹ Většina těchto cross-coupling reakcí byla ale v minulosti použita jen pro zavedení jednoduchých nefunkcionalizovaných alkyl-, alkenyl- nebo arylsubstituentů. V tomto sdělení budou prezentovány naše první výsledky s cross-coupling reakcemi chráněných funkcionalizovaných organokovů vedoucími např. k zavedení hydroxymethylové skupiny² nebo aminokyseliny zbytku.³



Schema 1.

Tato práce je součástí Výzkumného záměru Z4 055 905 a byla porporována GAČR (203/03/0035) a firmou Sumika Fine Chemicals Co. Ltd.

LITERATURA

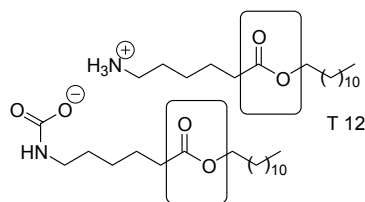
1. Hocek M.: *Eur. J. Org. Chem.* 2003, 245.
2. Šilhár P., Pohl R., Votruba I., Hocek M.: *Org. Lett.* 6, 3225 (2004).
3. Čapek P., Pohl R., Hocek M.: *J. Org. Chem.*, v tisku.

OXID UHLIČITÝ JAKO AKCELERANT TRANSDERMÁLNÍ PENETRACE ?

TOMÁŠ HOLAS, ALEXANDR HRABÁLEK, JANA KLIMENTOVÁ a KATEŘINA VÁVROVÁ

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
holas@faf.cuni.cz

S cílem vysvětlit mechanismus účinku a zároveň neobvykle vysokou akcelerační aktivitu Transkarbamu 12 byla připravena řada sloučenin, ve které bylo esterové seskupení přítomné uprostřed lipofilního řetězce akceleraantu (viz obr.) nahrazeno isosterním ketonickým, karbamátovým a karbonátovým. Připraven byl rovněž analog odvozený od uhlovodíku.



Takto získané soli karbamových kyselin byly otestovány na transdermálně akcelerační aktivitu.

Bylo zjištěno, že akcelerační aktivita soli je závislá na jejich stabilitě. Při pH kůže (5,5) dochází k různě rychlému rozkladu solí za uvolnění CO₂. Zánikem kovalentní vazby, jíž je CO₂ vázán, dojde ke konformačním změnám v molekule akceleraantu, které vyvolají další změny ve svém bezprostředním okolí. CO₂ může ve *stratum corneum* dále reagovat s bazickými látkami, např. se sfingosinem, nebo zůstane ve volné formě. Tyto reakce vyvolávají ve *stratum corneum* reverzibilní změny, jejichž konečným důsledkem je porušení bariérové funkce kůže.

Porovnáním fyzikálních konstant a IČ spekter připravených akceleraantů bylo zjištěno, že stabilita solí je nepřímo úměrná akcelerační aktivitě.

Tato práce je podporována grantem FRVŠ (grant č. 963/G6/2004) a Výzkumným záměrem MSM 111600001

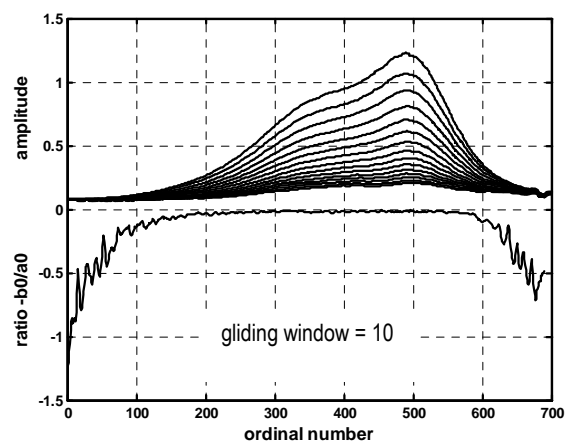
KLOUZÁNÍ PO CHEMICKÝCH DATECH

MIROSLAV HOLÍK^a a JOSEF HALÁMEK^b

^aKatedra teoretické a fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta MU v Brně, Kotlářská 2, CZ 611 37 Brno; ^bÚstav přístrojové techniky AV ČR v Brně, Královopolská 147, CZ 612 64 Brno
josef@isibrno.cz, holik@chemi.muni.cz

Metodu „klouzání“ jsme použili pro výpočet náklonu lineárně závislých křivek¹. Je to výpočet zátěží, při němž se podrobí singulárnímu rozkladu jen zvolená část matice dat – tzv. okno. Toto okno se postupně posouvá od začátku matice až ke konci. Takto se dá také např. zjistit² počet významných hlavních komponent v matici dat; v literatuře² je tento postup znám jako „fixed-size moving window evolving factor analysis“.

V kvantitativní analýze, která využívá spektrální odezvu jako míru obsahu látky, je třeba najít vhodný spektrální rozsah s nízkým šumem a vysokou citlivostí na změnu koncentrace. K tomu je velmi vhodné „klouzání“. Na obrázku jsou spektra se 700 místy detekce. Ze 700 sloupců matice dat se vezme prvních 10 (volitelné okno) a spočítají se singulárním rozkladem zátěže. Protože jsou ze začátku spektrální odezvy zatíženy šumem, který přesahuje informaci o koncentraci, je kromě první zátěže významná i hodnota zátěže druhé – poměr standardní odchylky druhé zátěže (b0) k odchylce zátěže první (a0) se významně liší od nuly. Minimální poměr b0/a0 udává oblast vhodnou pro kvantitativní analýzu (na obrázku jsou to sloupce 300-550). Pro výpočet používáme program GLIDING.M napsaný v Matlabu³.



Takto se dají spektra omezit v horizontálním směru. Podobně je možno omezit spektra i ve vertikálním směru. Z obrázku, který dokumentuje pokles amplitudy a tudíž i koncentrace s časem, je patrné, že nejvhodnější pro kvantitativní analýzu budou spektra z počátku měření. U spekter s nízkou amplitudou bude opět hrát významnou úlohu šum. Klouzání se nyní aplikuje na řádky matice dat. Pro výpočet se používá program KINGLID.M.

LITERATURA

- Holík M., Haláček J.: Chemom. Int. Lab. Syst. 67, 59 (2003).
- Keller H.R., Massart D.L., Kiechle P., Erni F.: Anal. Chim. Acta 256, 125 (1992).
- The MathWorks, USA; v ČR: Humusoft, Novákových 6, 180 00 Praha 8, info@humusoft.cz, www.matlab.cz.

STUDIUM PŘÍPRAVY CHIRÁLNÍCH C₂-SYMETRICKÝCH DIOLŮ POMOCÍ HYDROBORAČNÍCH REAKCÍ

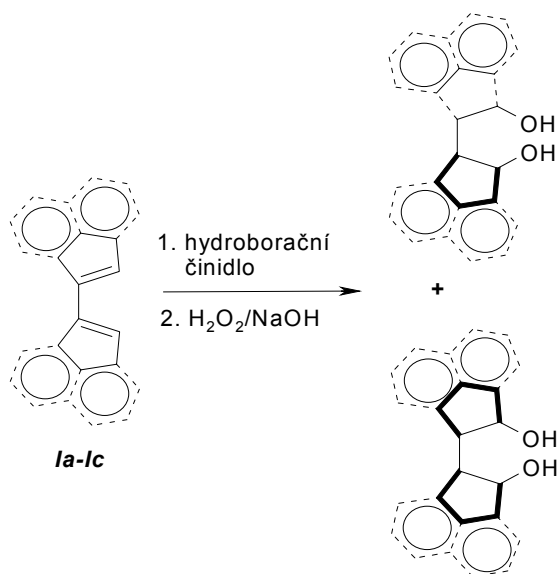
DENISA HOŘČICOVÁ, ONDŘEJ BASZCZYŃSKI A JAROSLAV KVÍČALA

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

C₂-symetrické dioly^{1,2} jsou perspektivními stavebními bloky pro syntézu chirálních sloučenin.

Hydroborace alkenů (*la-lc*), které jsme připravili pinakolovým zdvojením cyklopentanonu, indan-1-onu, indan-2-onu a jejich následnou dehydratací, poskytly směs diastereoisomerních diolů - mesoformy a racemátu.

Pro studium hydroborace jsme zvolili 4 hydroborační činidla: BH₃ jako nejjednodušší boran, stericky bráněný thexylboran jako primární boran, 9-BBN jako sekundární boran a chirální IpcBH₂. Na použitých činidlech jsme sledovali míru diastereo selektivity reakce. Hydroborací thexylboranem jsme získali racemickou směs o čistotě 95% d.e. Isomerní čistotu chirálních alkoholů jsme stanovili na základě ¹⁹F NMR spekter jejich esterů s Mosherovou kyselinou.



Práce byla provedena za podpory GA ČR (grant č. 203/03/0496).

LITERATURA

- Zhu G., Cao P., Jiang Q., Zhang X.: *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 1799 (1997).
- 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).

A SIMPLE METHOD FOR THE PREPARATION OF 5-ALKYLSULFINYL-1-ARYLTETRAZOLES

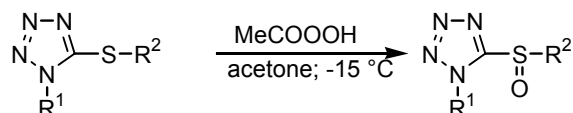
ALEXANDR HRABÁLEK^a, LEONID MYZNIKOV^b, JIRÍ KUNEŠ^a, KATEŘINA VÁVROVÁ^a a GRIGORII KOLDOBSKII^b

^aCharles University in Prague, ^bSt. Petersburg State Institute of Technology
hrabalek@faf.cuni.cz

Currently, the most widely used reagents for the preparation of alkylsulfonyltetrazaoles are *m*-chloroperbenzoic acid (MCPBA) at temperatures from -10 °C (ref.¹) to room temperature² and ammonium heptamolybdate tetrahydrate in ethanol³, a reagent introduced as early as 1963. Such sulfones have also been prepared using 30% H₂O₂ in acetic acid at 70 °C (ref.⁴).

Alkylsulfonyltetrazaoles can be prepared using practically the same method – MCPBA at 0 °C. The fact that this reaction can lead to both oxidation products was confirmed by the work of Jungheim, who obtained sulfoxides and sulfones at –78 °C and –10 °C, respectively.

We have developed a simple method for the preparation of 5-alkylsulfinyl-1-aryltetrazaoles which consists of oxidizing the relevant sulfanyl derivatives with 34% peracetic acid, where R¹=aryl, R²=alkyl.



The advantages of this method are the following: very low cost of the oxidizing agent, convenient preparation (the reagent can be added all at once into the cooled reaction mixture), and it affords a unique product – alkylsulfonyltetrazole – in very good yields even when there is steric hindrance of the sulfur atom by a bulky isopropyl group⁵.

This work was supported by The Grant Agency of the Czech Republic (GACR No. 203/04/2134) and the Ministry of Education of the Czech Republic (grant MSM 111600001).

REFERENCES

- Jungheim L.N., Shepherd T.A., Baxter A.J., Burgess J., Hatch S.D., Lubbehusen P., Wiskerchen M., Muesing M.A.: *J. Med. Chem.* **39**, 96 (1996).
- (a) Blakemore P.R., Cole W.J., Kocieński P.J., Morley A.: *Synlett* **1998**, 26; (b) Metternich R., Denni D., Thai B., Sedrani R.J.: *Org. Chem.* **64**, 9632 (1999); (c) Compostella F., Franchini L., Panza L., Prosperi D., Ronchetti F. *Tetrahedron* **58**, 4425 (2002).
- Schultz H.S., Freyermuth H.B., Buc S.R.: *J. Org. Chem.* **28**, 1140 (1963).
- Richard I.C., Thomas P.S.: *Pestic. Sci.* **30**, 275 (1990).
- Hrabálek A., Myznikov L., Kuneš J., Vávrová K., Koldobskii G. *Tetrahedron Lett.* in press.

PŘÍPRAVA ATROPOIZOMERNÍCH PYRIDINŮ [2+2+2] CYKLOTRIMERIZACÍ NITRILŮ S ALKYNŮ

RADIM HRDINA^a, LENKA DUFKOVÁ^a, SCOTT MITCHELL^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

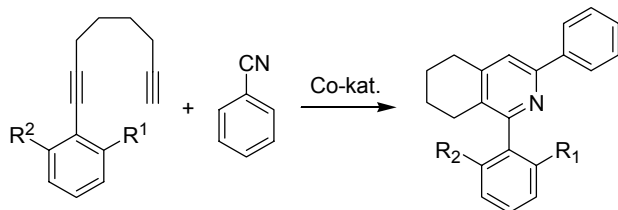
^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 6, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6
kotora@natur.cuni.cz, radimhrdina@email.cz

Atropoizomerní sloučeniny biarylového typu hrají klíčovou roli v enantiosektivní syntéze, především jako ligandy u reakcí katalyzovaných přechodnými kovy. V poslední době atropoizomerní biarylové sloučeniny s pyridinovým kruhem začaly být také využívány jako tzv. “organické” katalyzátory¹. Jejich příprava je založena převážně na kaplinkových reakcích.

Naším cílem bylo vypracovat alternativní metodu přípravy potenciálně atropoizomerních pyridinů. Syntetická strategie byla založena na [2+2+2] cyklotrimerizaci 1-aryl-1,7-oktadiynů s nitrily. Reakce byly prováděny za standardních podmínek a katalyzovaná cyklopentadienovými komplexy kobaltu². Byla provedena celá řada cyklotrimerizačních reakcí diynů s různými substituenty R¹ a R² za vzniku příslušných pyridinů v obstojných výtěžcích (Schema 1). Ukázalo se, že průběh reakce závisí na jak sterických, tak elektronických vlastnostech funkčních skupin R¹ a R². Jako cyklotrimerizační

katalyzátory byly zkoušeny i komplexy jiných přechodných kovů.

Schema 1



$R^1 = \text{Me, OMe, COOMe, NHCOCH}_3, \text{ atd.}; R^2 = \text{H, Me, aryl}$

Práce byla podpořena grantem GA ČR 203/01/0863.

LITERATURA

1. Malkov A. V., Dufková L., Farrugia L., Kočovský, P. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 42, 3674 (2003).
2. Bönnemann H., Brijioux W.: *Adv. Het. Chem.* 48, 177 (1990).

THERMOSENSITIVE POLYMERS AS PROMISING NEW MATERIALS FOR NUCLEAR MEDICINE

**MARTIN HRUBÝ^a, JAN KUČKA^b, JÁN KOZEMPEL^b,
ONDŘEJ LEBEDA^c and KAREL ULBRICH^a**

^a*Institute of Macromolecular Chemistry of the Czech Academy of Sciences, Heyrovského náměstí 6, 162 06 Prague 6,*

^b*Department of Organic & Nuclear Chemistry, Faculty of Science of the Charles University, Hlavova 2030, 128 43 Prague,* ^c*Nuclear Physics Institute of the Czech Academy of Sciences, 250 68 Řež near Prague, Czech Republic*
mhruby@centrum.cz

Water-soluble polymers are of tremendously increasing interest for biomedical applications nowadays. They are used in drug formulations, as blood plasma substituents, in drug delivery systems and numerous other applications.

Thermosensitive polymers based on *N*-alkyl substituted poly(meth)acrylamides that are soluble in aqueous environment at low (room) temperature and precipitate above a very narrow temperature range (body temperature) are promising candidates for medical and pharmaceutical applications.

There are some advantages in using radiopharmaceuticals for drug delivery systems if compared to chemical drugs. Above all the effective dose of the radionuclide is much lower than the effective dose of the chemical drug so a very small weight of polymer carrier is sufficient. It is also not necessary to cleave the drug from the carrier to accomplish the task.

In our contribution we describe a new thermosensitive system based on telecheic polyacrylamides carrying labelable phenolic (reactive towards iodine radioisotopes) respectively chelating (reactive towards polyvalent metal radioisotope cations) moieties at the end of the polymer chains. These polymers are readily soluble in water at room temperature what allows facile isotope labeling and administration *via* injection and they precipitate slightly below the body

temperature so they should persist on the place they were injected to. This is especially advantageous for local applications in nuclear medicine (synovectomy, cavities after surgical removal of solid tumours etc.). The use of the telecheic polymers also makes the precipitation temperature range very narrow in comparison to statistical copolymers that always contain molecules that have high and low content.

The high radioisotope binding ability of the polymers is demonstrated on ¹²⁵I (phenolic group) respectively ²¹¹At (chelating group).

Authors gratefully thank the Grant Agency of the Academy of Science of the CR for financial support (grants No. B4048302 and B4050408).

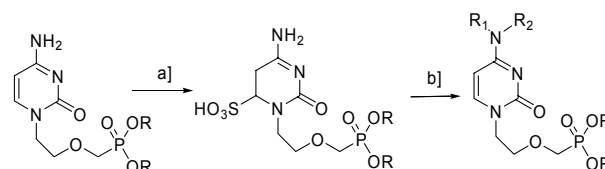
SYNTHESIS OF *N*⁴ - SUBSTITUTED DERIVATIVES OF DIISOPROPYL 1-[2-(PHOSPHONOMETHOXY)ETHYL]CYTOSINE IN THE PRESENCE OF TRIETHYLAMMONIUM HYDROGENSULFITE

ŠÁRKA CHALUPOVÁ^a and ANTONÍN HOLÝ^a

^a*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo n.2, 166 10, Praha 6*

sari.s@email.cz, holy@uochb.cas.cz

On reexamination of the old-known reaction (references 1-4) of cytosine derivatives with sodium bisulfite we have studied the reaction of diisopropyl 1-[2-(phosphonomethoxy)ethyl] cytosine with triethylammonium hydrogensulfite in 60 % methanol. In the presence of neutral salt of amine this reaction affords transaminated derivatives accompanied by uracil compounds. Reaction was run at 25 °C and gave the product; the product formation rapidly increased at 70 °C. However, with certain amines the reaction failed. Steric effect may have been responsible for this failure.



R = H, iPr

a) $\text{Et}_3\text{N}^+\text{HSO}_3^-$, 60% MeOH; b) $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}_2^+\text{CH}_3\text{COO}^-$ ($\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{Me, Et, Cp, Allyl, Bu}$) or $\text{R}_1\text{R}_2\text{H}^+\text{HCO}_3^-$ ($\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{Et, Pro, iPr, 2-methoxyethyl, 2-aminoethyl, Bu, iBu, HOEt, cyclohexyl, Bn, -CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2, -\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)

This study was performed as a part of research project #4055905 of the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry. It was supported by AmFAR grant #106456-34-RGNT, by the Rene Descartes Prize - 2001 of the European Commission (HPAW- 2002 -90001) and by Gilead Sciences (Foster City, CA, USA).

REFERENCES

1. Shapiro R., Servis R.E., Welcher M.: *J. Amer. Chem. Soc.* 92, 422 (1970).

- Shapiro R., Cohen B.I., Servis R.E.: *Nature* 1970, 227.
- Hayatsu H., Wataya Y., Kai K., Iida S.: *Biochemistry* 9, 2858 (1970).
- Hayatsu H., Miura A.: *Biochem., Biophys. Res. Commun.* 39, 983 (1970).

POROVNÁNÍ METOD STANOVENÍ ANTIRADIKÁLOVÉ AKTIVITY ZALOŽENÝCH NA ZHÁŠENÍ STABILNÍCH RADIKÁLŮ

KATEŘINA CHVÁTALOVÁ a JIŘÍ SLANINA

*Biochemický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Komenského nám. 2; 662 43 Brno
jslanina@med.muni.cz*

Porušení rovnováhy mezi tvorbou a zánikem volných radikálů vede v organismu k oxidačnímu stresu, který se podílí na vzniku řady závažných onemocnění včetně kardiovaskulárních a nádorových onemocnění. Při ochraně organismu před nadměrnou tvorbou volných radikálů hrají významnou roli nízkomolekulární antioxidanty především v extracelulárním prostředí, kde je aktivita většiny antioxidantů nebo jejich směsí v biologických vzorcích se často používají metody založené na zhášení stabilních barevných organických radikálů. K nejčastěji používaným patří 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH)¹ a radikál generovaný oxidací 2,2'-azino-bis(3-ethylthiazolin-6-sulfonové kyseliny) (ABTS)².

Naším cílem bylo porovnat výhody a nevýhody použití různých radikálů v testech antiradikálové aktivity a nalézt optimální podmínky testu založeného na měření rychlosti zhášení radikálů. Z našich výsledků vyplynulo, že použití radikálu DPPH bylo omezeno jeho nízkou rozpustností ve vodě. Nevýhodou použití radikálu ABTS pro měření byla jeho příliš rychlá reakce s antioxidanty, která umožnila určit rychlostní konstanty jen u relativně pomalu reagujících antioxidantů. Jako nejvýhodnější se ukázalo použití dosud málo užívaného radikálu generovaného oxidací *N,N*-dimethyl-*p*-fenylendiaminu (DMPD), protože použití DMPD, na rozdíl od výše jmenovaných radikálů, umožnilo stanovit rychlostní konstanty u všech antioxidantů ve vodném prostředí. Určitou nevýhodou je nutnost generovat tento radikál před měřením v roztoku oxidací.

Tato práce byla podpořena grantem FRVŠ 449/2004.

LITERATURA

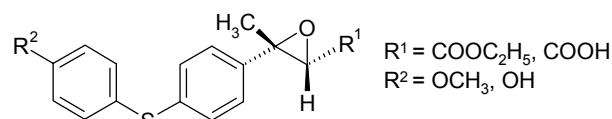
- Yokozawa T., Chen C. P., Dong E., Tanaka T., Nonaka G. I., Nishioka I.: *Biochem. Pharmacol.* 56, 213 (1998).
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B.: *Free Radical. Res.* 22, 375 (1995).

PREPARATION AND ANTIPLATELET ACTIVITY OF GLYCIDIC ACID DERIVATIVES

JOSEF JAMPÍLEK^a, MARTIN DOLEŽAL^a, JIŘÍ KUNEŠ^a and DANIEL JUN^b

*^aResearch Centre LN00B125, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové; ^bDepartment of Toxicology, Military Medical Academy, PO BOX 35/T, 500 01 Hradec Králové,
jun@pmfhk.cz; josef.jampilek@zentiva.cz;
dolezalm@faf.cuni.cz; kunes@faf.cuni.cz*

A number of methods of 2-phenylpropionic acids preparation^{1,2} were used for potential antileukotrienic agent VUFB 20615 synthesis³. The Darzens reaction⁴ was treated as one of the pathways of 2-arylpropionic acids preparation, nevertheless 2-arylpropionaldehyde or 2-arylpropionic acid was not obtained using this method. Glycidic esters and acids were only generated via the Darzens condensation. All the generated compounds were tested for their antiplatelet activity. The configurations of all prepared compounds were identified on the basis of the comparison of NMR interaction constants with those reported in the paper⁵. As well as preferred *cis*-glycidic ester generation, obtained in 89% fashion, is discussed.



The project was supported by the Ministry of Education of the Czech Republic (No. LN00B125) and by the League Against Cancer (funded from Terry Fox Run).

REFERENCES

- Jampílek J.: *Thesis*. Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Hradec Králové 2004.
- Jampílek J., Doležal M., Kuneš J.: *Folia Pharm. Univ. Carol.* 29-30, 13 (2003).
- Jampílek J., Doležal M., Kuneš J., Vichová P., Jun D., Raich I., O'Connor R., Clynes M.: *Curr. Org. Chem.* 8, 1235 (2004).
- Field L., Carlile C.G.: *J. Org. Chem.* 26, 3170 (1961).
- Valente V.R., Wolfhagen J.L.: *J. Org. Chem.* 31, 2509 (1966).

RADIOHALOGENACE BIOMOLEKUL WALLACHOVOU METODOU

JAN KADERÁVEK^a a LADISLAV LEŠETICKÝ^a

*^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2,
jan.kaderavek@tiscali.cz; lesetic@natur.cuni.cz*

Rozklad triazenové skupiny působením nukleofilní halogenační částice představuje jednoduchou metodu inkorporace radiohalogenu do vybrané molekuly¹. Nezbytnou přítomnost kyselého katalyzátoru je možno zajistit dvěma způsoby – přidáním katalytického množství kyseliny (například TFA), nebo použitím silně kyselého iontoměničce (např. Dowex 50 v H⁺ cyklu)². Druhá možnost nabízí výhodu jemně kyselých katalýz, obzvláště vhodné při reakcích s některými citlivými látkami. Přítomnost triazenové skupiny

v molekule byla zajištěna konjugací aktivního esteru³ nesoucího triazen s nechráněnou aminokupinou peptidu nebo amino-kyseliny. Takto modifikované látky byly následně podrobeny radiohalogenačním reakcím, přičemž byl sledován vliv použitého kyselého katalyzátoru (TFA nebo katex) na výtěžek radiohalogenační reakce.

Pro studium byly zvoleny estery aminokyselin (glycinethylester a fenylalanin methylester) a ester jednoduchého tripeptidu (fenylalanin-leucyl-glycin-ethylester). Radiohalogenační reakce s [¹³¹I]NaI byly provedeny v nosičovém i beznosičovém uspořádání, radiohalogenace s ²¹¹At byly provedeny v beznosičovém uspořádání. Přidavek redukčního činidla (Na₂SO₃) k preparátu ²¹¹At pozitivně ovlivnil výtěžek astatačních reakcí vlivem vyššího zastoupení At⁻ oproti jiným oxidačním stavům astatu. Použití katexu jako katalyzátoru vedlo především v případě astatačních reakcí k velmi dobrým radiochemickým výtěžkům (85 – 88 %).

LITERATURA

1. Satyamurthy N., Barrio J. R., Schmidt D. G., Kammerer C., Bida G.T., Phelps M.E.: J. Org. Chem. 55, 4560 (1990).
2. Satyamurthy N., Barrio J.R.: J. Org. Chem. 48, 4394 (1983).
3. Wilbur D.S.: Bioconjugate Chem. 3, 433 (1992).

MOŽNOSTI PŘÍPRAVY STERICKY BRÁNĚNÝCH BIARYLŮ PŘES DEWAROVY BENZENEY

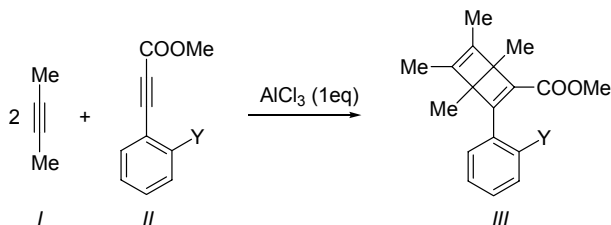
ŠTĚPÁNKA JANKOVÁ^a, LENKA DUFKOVÁ^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 2030, 128 43 Praha.

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

Dewarovy benzeny (DB) jsou prvními izolovanými valenčními izomery benzenu. Vzhledem k velkému kruhovému pnutí je možné přesmykovat DB termicky, fotochemicky a katalytickým působením komplexů přechodných kovů na benzeny. V projektu zabývajícím se [2+2+2] cyklotrimerizačními reakcemi alkyňů za vzniku biarylů byly v některých reakčních směsích detekovány kromě očekávaných biarylů též DB jako vedlejší produkty.

Schéma 1

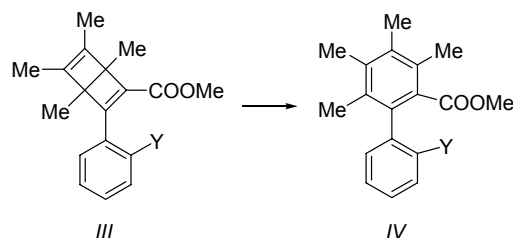


Naším cílem bylo pokusit se připravit potenciálně atropizomerní biarylové sloučeniny přes DB. Pro přípravu DB se studovala reakce but-2-ynu **I** s *ortho*-substituovanými

arylpropynoáty **II** v přítomnosti Lewisovské kyseliny (Schéma 1)¹.

U takto připravených DB **III** byl studován přesmyk² na biaryly **IV**. Ze získaných výsledků vyplývá, že v některých případech by tato metoda mohla být vhodná pro syntézu polysubstituovaných biarylů (schéma 2).

Schéma 2



Práce byla podpořena grantem GA ČR 203/01/0863.

LITERATURA

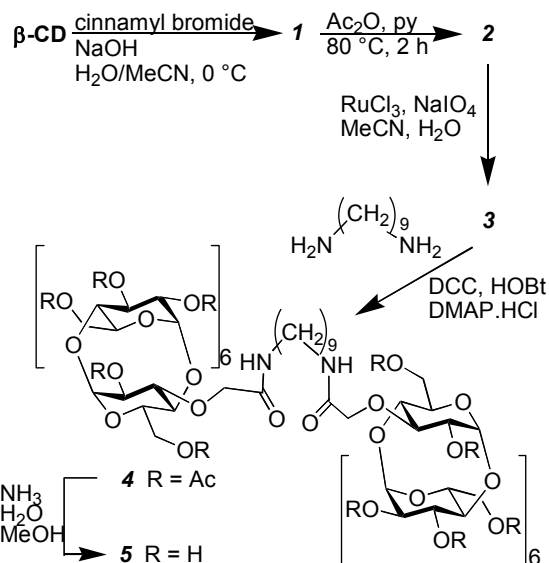
1. Koster J. B., Timmermans G. J., van Bekkum, H.: Synthesis 1971, 139.
2. van Tamelen E. E., Pappas S. P.: J. Am. Chem. Soc. 85, 3297 (1963).

SYNTHESIS OF CYCLODEXTRIN DIMERS - CARRIERS OF PHOTODYNAMIC SENSITISERS

HELENA PUDILOVÁ and JINDŘICH JINDŘICH

Department of Organic Chemistry, Charles University, Hlavova 2030, 128 40, Praha 2
jindrich@natur.cuni.cz

Cyclodextrins (CD) are being used in many applications due to their unique complexation abilities. Selectivity and strength of the complexation (mostly with lipophilic guests) can be modified by derivatization of CD molecules.



Regioselectively monosubstituted CDs belong to the most useful group of such derivatives. Among the monosubstituted derivatives 3-*O* isomers were most difficult to prepare (compared to 6-*O* and 2-*O* isomers)¹.

Now we present a new simple general method for preparation of 3¹-*O*-alkylaminocarbonylmethyl- β -cyclodextrins, that we used for synthesis of cyclodextrin dimer which will be tested as a carrier of photodynamic sensitizers for treatment of cancer. Alkylation of β -CD with cinnamyl bromide gives mainly (20% yield) 3¹-*O*-cinnamyl derivative (**1**), most probably due to inclusion of the reagent in CD cavity. From this compound peracetylated 3¹-*O*-carboxymethyl- β -CD (**3**) can be easily prepared and used as a substrate for preparation of cyclodextrin dimer (**5**) by forming amide bonds with diamines e.g. 1,9-diaminononane.

Project is funded by grants GACR 203/02/1483 and MSM 113100001.

REFERENCES

1. Tian S., Zhu H., Forgo P., D'Souza V. T.: *J. Org. Chem.* **65**, 2624 (2000).

LIPIDICKÉ LÁTKY ČMELÁKŮ

PAVEL JIROS^{a,b}, JOSEF CVAČKA^b, ANNA LUXOVÁ^{a,b} a IRENA VALTEROVÁ^b

^a*Ústav chemie přírodních látek, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT, Technická 5, 166 28, Praha 6, ^bÚOCHB AVČR Praha, Flemingovo náměstí 2, 166 10, Praha 6*
jiros@uochb.cas.cz

Při podrobnějším pohledu na složení alifatických látek v samých značkových feromonech¹ čmeláků a zastoupení mastných kyselin (včetně od nich odvozených látek) v jejich tukových tělesech jsme pozorovali podobnost v jejich strukturách. Proto jsme analyzovali složení tukových těles samečů čmeláků *Bombus lapidarius*, *B. lucorum*, *B. silvarum*, *B. terrestris*.

Tuková tělesa byla po extrakci rozdělena na TLC do jednotlivých lipidických skupin. Ty pak byly dále analyzovány. Analýzy probíhají na přístrojích LC/MS a GC/MS. Na LC/MS byly měřeny celé triacylglyceroly. Pro měření a kvantifikaci na GC/MS byly vzorky upraveny derivatizací na methylestery. Byly určeny polohy dvojných vazeb. Struktury lipidických složek jsme porovnali se složením feromonů. Na příklad ve složení feromonu druhu *B. lapidarius* je více než 80% derivátů hexadekanu, přičemž obsah triacylglycerolů v tukovém tělese je tvořen z 65% z acylů šestnáctiuhlíkatých kyselin. Podobnou shodu pozorujeme i u druhu *B. terrestris*. Naproti tomu u druhu *B. lucorum* jsou hlavními složkami feromonu deriváty tetradekanu (cca 56%), ale jako hlavní podíl v triacylglycerolech jsou acyly o délce 18 uhlíků řetězce. Na základě těchto porovnání jsme studovali biosyntetické souvislosti mezi zásobními lipidy v tukovém tělese a složení feromonů.

Práce byla provedena za podpory Grantové agentury AV ČR (granty č. A4055403 a ISP 1034) a výzkumného záměru č. Z4 055 905.

LITERATURA

1. Urbanová K., Valterová I., Hovorka O., Kindl J.: *Eur. J. Entomol.* **98**, 111 (2001).

AZIDOALDITOLY: KONFORMAČNÍ CHOVÁNÍ A SPEKTRÁLNÍ CHARAKTERISTIKA AZIDOXYLITOLU

JAKUB KAMINSKÝ, KATEŘINA BUCHALOVÁ a JAN STANĚK

Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha
kaminskj@vscht.cz

Azidoalditoly jsou velmi důležitými chemickými intermediáty, ale současně i sloučeninami se zajímavou biologickou aktivitou¹. Byla připravena široká škála ω -azido- ω -deoxyalditolů. Všechny byly získány redukcí z příslušných 5-azido-5-deoxy-D-pentos připravených z 1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylofuranosy.

Jako modelová látka pro konformační studie byl zvolen 5-azido-5-deoxy-D-xylytol. Pro nalezení jeho preferovaných konformací byly užity dvě rozdílné techniky molekulového modelování. V prvním případě byl konformační prostor prozkoumáván systematickým mapováním. 81 výchozích geometrií, které měly dostatečně pokrýt celý konformační prostor, bylo optimalizováno na PM3 úrovni a energeticky nejvýhodnější konformery poté znova optimalizovány s použitím řady vyšších úrovní (B3LYP, B3PW91, MPW1PW91 etc.). Pro potvrzení správnosti nalezených minim na hyperploše potenciální energie a tedy preferovaných konformací byly použity výpočty vicinálních vodíkových interakčních konstant a příslušných chemických posunů. Vypočtené hodnoty byly porovnávány s naměřenými experimentálními údaji. Vliv rozpouštědla na geometrii molekuly byl simulován jak implicitním CPCM modelem, tak explicitním klastrem molekul rozpouštědla obalujícím molekulu studovaného alditolu. Všechny výpočty byly provedeny s využitím programu Gaussian 03².

V druhém případě byla modelová struktura azidoxylytolu a její chování zkoumána pomocí molekulové dynamiky (MD) ve vodném periodickém boxu pomocí silového pole MM+. 101ps MD simulaci následoval výpočet vicinálních vodíkových interakčních konstant pomocí Karplusovy rovnice pro všechny získané geometrie. Výsledné hodnoty interakčních konstant byly opět porovnávány s experimentem.

Práce byla podporována grantem GA AV ČR č. A4055104.

REFERENCES:

1. Juříček M., Gruz P., Velemínský J., Staněk J., Kefurt K., Moravcová J., Jarý J.: *Mutat. Res.* **251**, 13 (1991).
2. Frisch M. J. *et al.*, Gaussian 03W, Rev. B03, Gaussian, Inc., Pittsburgh, 2003.

KONFORMACE DISACHARIDŮ OBSAHUJÍCÍCH D-A L-2-DEOXYHEXOPYRANOSU

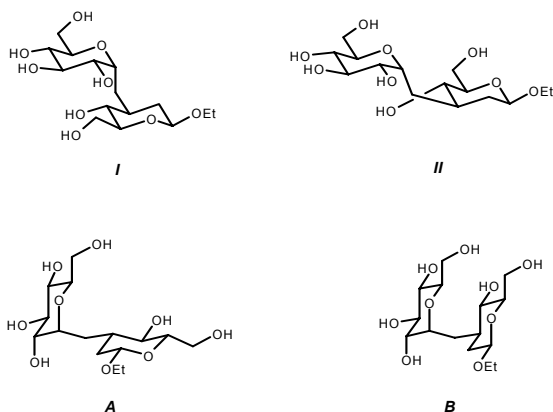
**LADISLAV KNIEŽO^a, ONDŘEJ VÍCH^a,
HANA DVOŘÁKOVÁ^b a IVAN RAICH^a**

^aÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bLaboratoř NMR, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Hana.Dvorakova@vscht.cz; Ladislav.Kniezo@vscht.cz

V posledních letech bylo věnováno hodně úsilí syntéze látek, ve kterých je glykosidový atom kyslíku v oligosacharidech nahrazen methylenovou skupinou. Tyto látky (triviálně nazývané jako C-oligosacharidy) jsou na rozdíl od přírodních oligosacharidů rezistentní vůči enzymatické hydrolyze, a proto se předpokládá, že by mohly rušit biosyntézu glykoproteinů, resp. mezibuněčnou komunikaci, což by v příznivých případech mohlo vést až k jejich terapeutickému využití¹.

Avšak náhradou glykosidového atomu kyslíku za methylenovou skupinu se mění i délka a vlastnosti původních C-O-C vazeb. Vzniká tedy otázka, jak věrně napodobují např. C-disacharidy konformační chování přírodních disacharidů při interakci s příslušnými proteinovými receptory. Proto je důležité obdržet co nejvíce informací o preferované konformaci těchto sloučenin. Zde uvádíme výsledky, které jsme získali studiem konformačního složení pro α -(1→3)-C-disacharidy **I** a **II**, jejichž syntézu jsme publikovali nedávno². Získané výsledky ukazují, že zatímco látka **I** výrazně preferuje konformer **A**, látka **II** je směsí minimálně dvou jiných konformerů, ve které je dominantní konformer **B**.



Práce byla provedena v rámci řešení výzkumného záměru MŠMT č. 223300006.

LITERATURA

- Liu L., McKee M., Postema M. H. D.: *Curr. Org. Chem.* 5, 1133 (2001).
- Štěpánek P., Vích O., Kniežo L., Dvořáková H., Vojtíšek P.: *Tetrahedron: Asymmetry* 15, 1033 (2004)

ISOFLAVONOIDY RODU RUTA (*Ruta*)

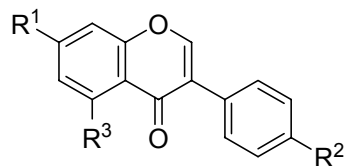
**RADKA KOBLOVSKÁ¹, MICHAELA VÍTKOVÁ¹,
ZUZANA MACKOVÁ¹, LADISLAV KOKOŠKA²,
BOŘIVOJ KLEJDUŠ³ a OLDŘICH LAPČÍK¹**

¹Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6; ²Institut tropického a subtropického zemědělství, Česká zemědělská univerzita, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6; ³Ústav chemie a biochemie, Mendlova zemědělská a lesnická Univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno,

Isoflavonoidy (3-fenylchromony) jsou biologicky aktivní sekundární metabolity rostlin, které byly doposud zaznamenány v omezeném počtu čeledi, 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 výskyt isoflavonoidů v čeledi routovitých (*Rutaceae*)¹. V tomto sdělení se zabýváme zástupci rodu *Ruta*: *Ruta graveolens*, *R. corsica* a *R. montana*.

Rostlinný materiál pocházel ze sbírky Institutu tropického a subtropického zemědělství České zemědělské univerzity v Praze. Listy a kvetoucí vrcholy byly bezprostředně po odběru zmrazeny a do lyofilizace uchovávány při -20°C. Suché vzorky byly namlety na tříštivém mlýnku a extrahovány směsí ethanol/voda 8:2 (v/v). Extrakty byly analyzovány HPLC v kombinaci s imunochemickými metodami a HPLC-MS v SIM modu².

Ve všech studovaných routách jsme zaznamenali řadu isoflavonoidů, jak aglykonů, tak glykosylovaných forem, v rozsahu od desítek mikrogramů až jednotek miligramů na kilogram suché váhy. Nejvíce zastoupeným isoflavonoidem v listech byl sissotrin (glykosid biochaninu A, až 7 mg/kg v *R. montana*) následovaný dalšími 4'-methoxyisoflavonoidy (formononetin, biochanin A, ononin). V květních vrcholech převládaly 4'-hydroxyisoflavony, zejména genistein. Kromě známých isoflavonoidů jsme v HPLC chromatogramech pozorovali několik imunoreaktivních frakcí, které byly prozatím popsány chromatografickými a imunochemickými charakteristikami.



Daidzein:	$R^1 = R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}$;
Genistein:	$R^1 = R^2 = R^3 = \text{OH}$;
Formononetin:	$R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{OCH}_3, R^3 = \text{H}$;
Biochanin:	$R^1 = R^3 = \text{OH}, R^2 = \text{OCH}_3$;
Prunetin:	$R^1 = \text{OCH}_3, R^2 = R^3 = \text{OH}$;
Daidzin:	$R^1 = \text{glukosa}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}$;
Genistin:	$R^1 = \text{glukosa}, R^2 = R^3 = \text{OH}$;
Sissotrin:	$R^1 = \text{glukosa}, R^2 = \text{OCH}_3, R^3 = \text{OH}$;
Ononin:	$R^1 = \text{glukosa}, R^2 = \text{OCH}_3, R^3 = \text{H}$;

Kontrolní vzorky, které byly sušeny volně, obsahovaly odlišné spektrum isoflavonoidů a celkové imunoreaktivity bylo o 50%-150% vyšší než u lyofilizovaného materiálu.

Význam isoflavonoidů v čeledi *Rutaceae* je zatím nejasný. Odlišný rozsah jejich glykosylace a methylace v listech a v květních vrcholech naznačuje, že by isoflavonoidy mohly hrát určitou roli ve fyziologii rodu *Ruta*.

Tato studie byla podpořena granty GAČR 525/03/0352 a FRVŠ 659/G4.

LITERATURA:

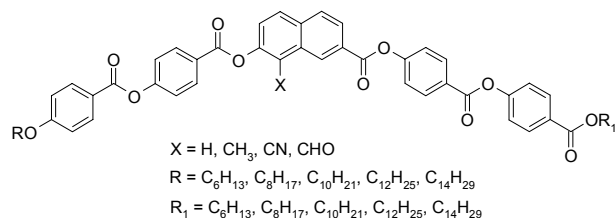
- Lapčík O., Klejduš B., Davidová M., Kokoška L., Kubáň V., Moravcová J.: *Phytochem Anal.* 15, 293 (2004).
- Klejduš B., Vitamvsová-Štěrbová D., Kubáň V.: *Anal. Chim Acta* 450, 81 (2001).

SYNTEZA 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

V naší laboratoři byly a jsou syntetizovány nové typy kapalných banánovitých krystalů, u nichž jsou využity deriváty naftalen-2,7-diolu jako centrální jádro. Z těchto derivátů připravené sloučeniny vykazují velmi zajímavé mesomorfní chování s výskytem různých typů tzv. B-fází¹. Cílem této práce bylo připravit odpovídající deriváty 7-hydroxynaftalen-2-karboxylové kyseliny a z těchto syntetizovat nové série kapalných krystalů (Obr. 1). U těchto nových sloučenin určit strukturu fází a jejich mesomorfní vlastnosti pomocí DSC, studií textur a rentgenostrukturní analýzou.



Obr. 1

V této práci bude diskutován vliv změny 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. 202/02/0840) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt COST OCD 14 a MSM 223100001).

LITERATURA

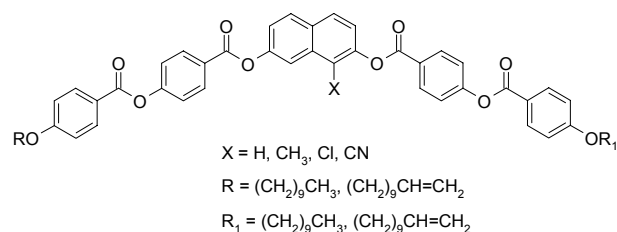
- Svoboda J., Novotná V., Kozmík V., Glogarová M., Weisslog W., Diele S., Pelzl G.: *J. Mater. Chem.* 13, 2104 (2003).

SYNTEZA A MESOMORFNÍ VLASTNOSTI NESYMETRICKÝCH LOMENÝCH KAPALNÝCH KRYSTALŮ NA BÁZI DERIVÁTŮ NAFTALEN-2,7-DIOLU

ANNA KOVÁŘOVÁ^a, MARTIN KUCHAR^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.
kovarova@vscht.cz

Různé aromatické a heteroaromatické systémy byly aplikovány jako centrální jádra lomených kapalných krystalů. Nedávno jsme zavedli nový typ jádra pro konstrukci banánovitých kapalných krystalů, které vykazovaly různé typy tzv. B-fází¹. Cílem této práce bylo navrhnout nové modifikované struktury na bázi naftalen-2,7-diolu a studovat vliv substituce jádra a zavedených nesymetrických bočních řetězců na mesomorfní chování získaných materiálů.



Struktura fází a jejich mesomorfní vlastnosti byly studovány pomocí DSC, studií textur a rentgenostrukturní analýzou.

Práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt č. 202/02/0840) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt COST OCD 14 a MSM 223100001).

LITERATURA

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

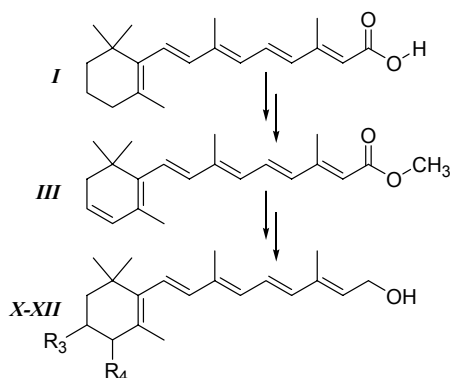
SYNTEZA ANALOG RETINOLU ZNAČENÉHO IZOTOPY JODU PRO IN VIVO SCINTIGRAFII HVĚZDICOVITÝCH BUNĚK JAKO ČASNÝ MARKER JATERNÍ FIBRÓZY

JÁN KOZEMPEL^a, LADISLAV LEŠETICKÝ^a, MILAN JIRSA^b, IVAN KOVÁČ^b a PAVEL TAIMR^b

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká Fakulta UK, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2; ^bInstitut klinické a experimentální medicíny, Vídeňská 9/1958, 140 21 Praha 4
kozempel@natur.cuni.cz pavel.taimr@medicon.cz

Hlavní fyziologickou funkcí hvězdicových buněk je akumulace vitamínu A v játrech ve formě esterů mastných kyselin a regulace jeho stálé hladiny v krvi¹. Tuto schopnost v důsledku poškození jater (infekce, alkohol, toxiny) ztrácejí, přičemž dochází ke spuštění fibrogenní kaskády, uvolnění zásob vitamínu A, snížení jeho obsahu v játrech a redistribuci v organismu.

Cílem projektu je syntetizovat vhodně značené analogy retinolu a vypracovat scintigrafickou metodu pro časnou neinvazivní diagnostiku jaterní fibrózy založenou na detekci snížení obsahu retinolu v játrech a jeho redistribuci v organismu. Postup syntéz je uveden ve schématu 1. Cílem bylo připravit z komerčně dostupné retinové kyseliny **I** deriváty modifikované v poloze 3 a 4 snadno značitelnými funkčními skupinami aplikací známých postupů²⁻⁴. Pro značení byl použit izotop jodu - 125.



Schema 1. $R_{3/4}$: H, 4- ^{125}I -BnOH, 4- CH_3O -3- ^{125}I -BnOH, 3- NH_2 -4- ^{125}I -BnOH.

Autoři děkují IGA Ministerstva zdravotnictví ČR za podporu tohoto projektu (grant č. NR7833-3/2004).

LITERATURA

1. Geerts A.: *Semin. Liver Dis.* 21 311 (2001).
2. Tosukhowong P., Supasiri T.: *J. Label. Compds. Radiopharm.* 32, 925 (1985).
3. Barua A.B., Das R.C., Verma K.: *Biochem. J.* 168, 557 (1977).
4. Seevers R. H., Counsell R.E.: *Chem. Rev.* 82, 575 (1982).

NOVEL BIOCOMPATIBLE NANOSIZE DRUG DELIVERY SYSTEM CARRYING ^{211}AT FOR CANCER RADIOTHERAPY

JAN KUČKA^a, MARTIN HRUBÝ^b, JÁN KOZEMPEL^a, ONDŘEJ LEBEDA^{c*} and KAREL ULBRICH^b

^aDepartment of Organic & Nuclear Chemistry, Faculty of Science of the Charles University, Hlavova 2030, 128 43 Prague, ^bInstitute of Macromolecular Chemistry of the Czech Academy of Sciences, Heyrovského náměstí 6, 162 06 Prague 6, ^cNuclear Physics Institute of the Czech Academy of Sciences, 250 68 Řež u Prahy

lebeda@ujf.cas.cz

Alpha emitter ^{211}At ($T_{1/2} = 7.214$ h) is considered to be a promising radionuclide for targeted cancer therapy due to its decay properties, for it may deliver large radiation doses into small volumes of cancer tissue, not affecting much the surrounding healthy tissue.

Macromolecules and colloids themselves concentrate in some solid tumour tissues via so-called "enhanced permeability and retention effect" (EPR effect), or they can be modified by attachment of any tumour recognizing molecule (e.g. MABs) in order to increase the specific uptake in the cancer tissue. In addition, a surface modification of nanoparticles by hydrophilic polymers, e.g. poly(ethylene glycol), PEG, which avoid their interaction with plasma proteins, together with the proper choice of their size may protect them from being quickly opsonized and then captured by macrophages and accumulated in liver.

We studied the possibility to label colloidal systems containing silver, which can be used as a good linker of astatine to nanoparticles, because remarkable affinity of astatine towards metallic silver is known for a long time.

In the beginning, commercially available colloidal silver (silver protein) was used to get preliminary data. It was found that it is labelled in high yields (> 94 %) within 10 min in the pH range 5–8. The label was found to be stable after separation on size exclusion chromatography after 5 h even in the presence of high surplus of chloride ions. Labelling take place spontaneously, and the presence of oxidizing (Chloramine-T) or reducing (ascorbic acid) agents does not practically change the yield.

Based on these results, a new nanoparticle system was developed, containing colloidal silver covered by non-immunoreactive PEG of defined size. Two groups of particles of ca 120 and 160 nm diameter using activated PEG of M_w 2000 respectively 5000 were prepared and labelled under the similar conditions like silver protein. The system was successfully astatinated with high yields (> 90 %) in very short time (10 min) in neutral pH and does show high stability even in the presence of competing chloride ions.

Authors gratefully thank the Grant Agency of the Czech Academy of Science for financial support (grants No. B4048302 and B4050408).

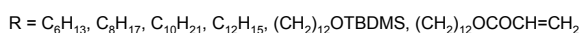
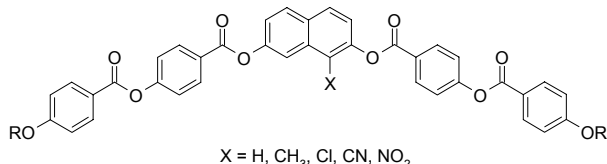
SYNTEZA A VLASTNOSTI KAPALNÝCH KRYSŤALŮ ODVOZENÝCH OD SUBSTITUOVANÝCH NAFTALEN-2,7-DIOLŮ

MARTIN KUČAŘ^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
Kuchar1@centrum.cz

V nedávné době jsme zavedli nový typ centrálního jádra pro konstrukci banánovitých kapalných krystalů, které vykazovaly různé typy tzv. B-fáze¹. V rámci systematického

studia mesomorfních vlastností těchto krystalů jsme rozšířili spektrum připravených derivátů, u kterých byly jako centrální jádro využity deriváty 1-substituovaných naftalen-2,7-diolů. Cílem této práce bylo navrhnout nové modifikované struktury na bázi naftalen-2,7-diolu a zavést do postranních řetězců skupiny umožňující polymeraci takto připravených derivátů. Konečným cílem je pak studium vlivu zavedených změn na mesomorfní chování nově připravených látek banánovitěho tvaru.



Struktura fázi a jejich mesomorfní vlastnosti byly studovány pomocí DSC, studiem textur a rentgenostrukturní analýzou.

Práce byla podporována Grantovou agenturou České republiky (projekt č. 202/02/0840) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt COST OCD 14 a MSM 223100001).

LITERATURA

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

SYNTEZA A MESOMORFNÍ CHOVÁNÍ 2,5- A 2,6-DISUBSTITUOVANÝCH BENZOTHIOPHENŮ

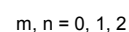
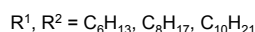
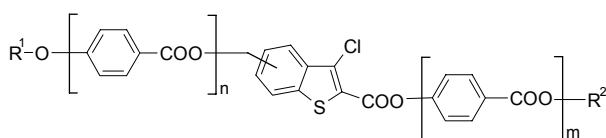
MILAN KURFÜRST^a, JIŘÍ SVOBODA^a, VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b a MILADA GLOGAROVÁ^b

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
Praha 6; ^bFyzikální ústav Akademie věd ČR, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8
milan.kurfurst@vscht.cz, jiri.svoboda@vscht.cz

Organické kapalně krystalové látky jsou známy již více než sto let, většího významu však dosáhly až v posledních třiceti letech. Jejich využití zahrnuje široké spektrum aplikací, především v zobrazovacích jednotkách a v elektronických prvcích.

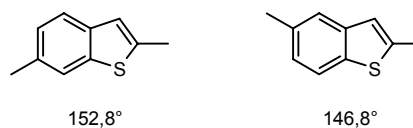
V rámci našeho systematického výzkumu v oblasti syntézy a materiálového využití benzokondenzovaných heterocyklů jsme se zaměřili na přípravu potenciálních kapalně krystalových obsahujících v molekule benzothiofenový systém a na studium jejich vlastností (Obr. I).

Studované látky vykazují nejen nematickou, ale i uspořádanější smektickou A a C fázi. Sloučeniny obsahující benzothiofenovou jednotku uprostřed molekuly se z hlediska své geometrie nacházejí na pomezí kalamitických molekul, pro něž je význačný naprosto lineární tvar a látek "banánovitěho" typu, jejichž zalomení se v ideálním případě blíží 120° (Obr. II).



Obr. I.

V tomto příspěvku budou diskutovány mesomorfní vlastnosti studovaných látek a jejich vztahy ke kalamitickým i banánovitým kapalně krystalům.



Obr. II.

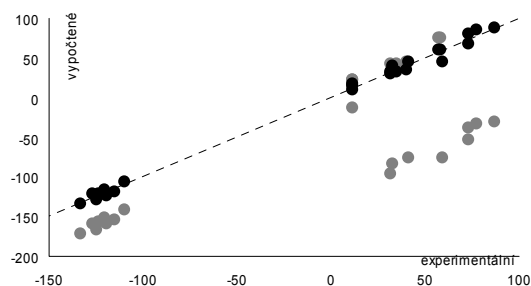
Projekt výzkumu byl podporován grantem GAČR č. 202/02/0840 a výzkumným záměrem MŠMT MSM 223100001.

VÝPOČTY F-F INTERAKČNÍCH KONSTANT VE FLUORALKENECH POMOCÍ DFT METOD

JAROSLAV KVÍČALA a MARTIN SKALICKÝ

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

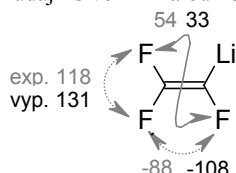
Ab initio výpočty F-F interakčních konstant v ¹⁹F NMR spektrech patří k nejnáročnějším úkolům teoretické chemie. Zatímco DFT metody poskytují dostatečně přesné hodnoty ¹⁹F NMR stínících konstant a chemických posunů, pro výpočty F-F interakčních konstant je nezbytné využít vysoce náročné multikonfigurační metody, které značně limitují velikost studovaných molekul¹.



Graf 1. Porovnání vypočtených korelovaných (●) a nekorelovaných (○) hodnot F-F interakčních konstant s experimentálními údaji.

Na výpočtech F-F interakčních konstant čtrnácti difluora-trifluoralkenů pomocí různých DFT metod a sad bázových funkcí jsme ukázali, že vypočtené absolutní hodnoty ${}^2J_{\text{FF}}$, ${}^{\text{cis-}}{}^3J_{\text{FF}}$ a ${}^{\text{trans-}}{}^3J_{\text{FF}}$ jsou zatíženy značnou chybou a prakticky nekorelují s experimentálními hodnotami. Oddělené lineární korelace pro každou z uvedených interakčních konstant však vedly k přijatelné shodě mezi experimentálními a vypočtenými hodnotami (Graf 1).

Vypočtené korelované hodnoty pro trifluorvinyllithium v simulovaném solvatovaném prostředí jsou v přijatelné shodě s experimentálními údaji² s velmi malou hodnotou ${}^{\text{trans-}}{}^3J_{\text{FF}}$.



Práce byla provedena za podpory GA ČR (grant č. 203/02/0716).

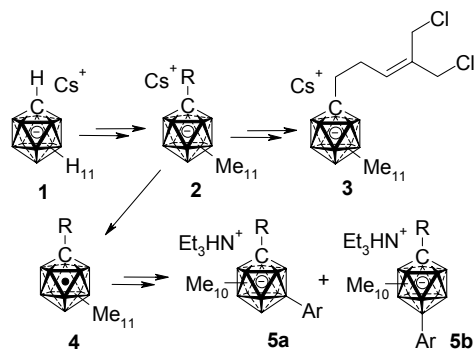
LITERATURA

1. Del Bene J. E., Akorta I., Elguero J.: *Z. Phys. Chem.* 217, 1565 (2003).
2. Kvičala J., Hrabal R., Bartošová I., Paleta O., Pelter A.: *J. Fluorine Chem.* 113, 211 (2002).

SUBSTITUOVANÉ DERIVÁTY 1-KARBA-DODEKABORÁTU: PŘÍPRAVA A KOMPLEXY

MAGDALENA KVÍČALOVÁ^a, JAROSLAV KVÍČALA^b a JOSEF MICHL^c

^aÚstav anorganické chemie AV ČR, 250 68 Řež; ^bÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^cUniversity of Colorado at Boulder, Department of Chemistry and Biochemistry, 80305 Boulder, USA magdaq@email.cz

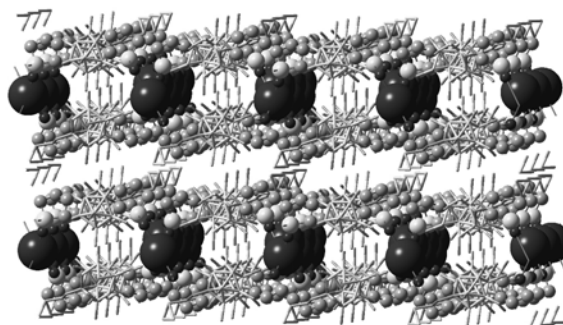


Schema 1. Transformace cesium-1-karbadodekaborátu.
R = H, Me, I, (CH₂)₃Cl; Ar = Ph, 4-BrC₆H₄.

Lithiací cesium-1-karbadodekaborátu (**1**), reakcí s elektrofilů a následnou polymethylací methyl-triflátem byly získány klíčové intermediáty **2**. Transformace substituentu v poloze 1 vedly k intermediátu **3** pro polymery propellanového typu, oxidace intermediátů **2** poskytly stabilní nepolární

radikály **4**. Jejich reakcí s disilany a areny vznikly karborany **5a**, **5b** substituované v poloze 7 nebo 12 arylem (Schema 1).

Smísením etherických roztoků polymethylovaných karboranů **2** se sulfolanem vznikly nerozpustné 1:4 komplexy karboran-sulfolan. Jejich rekrystalizací z vodného methanolu byly získány analogické 1:2 komplexy, jejichž struktury byly prokázány rentgenovou spektroskopií (Obr. 1).



Obr. 1. Komplex Cs⁺[1-(3-chloropropyl)CB₁₁Me₁₁]⁺ se sulfolanem (1:2)

Děkujeme OACD za finanční podporu tohoto projektu.

IDENTIFICATION OF ISOFLAVONOIDS IN *ARABIDOPSIS THALIANA*.

OLDŘICH LAPČÍK¹, DAVID HONYS², RADKA KOBLOVSKÁ¹, ZUZANA MACKOVÁ¹, MICHAELA VITKOVÁ¹ a BOŘIVOJ KLEJDUS³

¹Faculty of Food and Biochemical Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, ²Institute of Experimental Botany, Czech Academy of Sciences, Prague; ³Department of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Czech Republic

Extracts from leaves and inflorescence stalks of *Arabidopsis thaliana* and from seedlings of *Lepidium sativa* (*Brassicaceae*) were analyzed for the presence of isoflavonoids by HPLC-MS-SIM and by five isoflavonoid-specific ELISA methods after the HPLC fractionation of samples¹. Both analytical approaches revealed homologous spectra of isoflavonoids in both plant species. Formononetin and prunetin represented the main aglycones followed by biochanin A, daidzein and genistein; sissotrin was the most abundant isoflavonoid glycoside followed by ononin, daidzin and genistin. The content of individual compounds ranged from a few micrograms up to 2.2 milligrams per kilogram (dry weight). Genes homologous to enzymes involved in isoflavonoid synthesis and metabolism found in the *Arabidopsis thaliana* genome and their expression profiles were extracted from number of transcriptomic datasets. Genes likely to be involved in important steps of the isoflavonoid metabolism in *Arabidopsis thaliana* were identified. However, in accord with previously published data, no homologue was found to known isoflavone synthases from the *Fabaceae* plants. These aryl migrating enzymes belong to the CYP93C2 family that is absent in *Arabidopsis thaliana*². We conclude

that another gene must be responsible for biosynthesis of the isoflavone skeleton in the Brassicaceae.

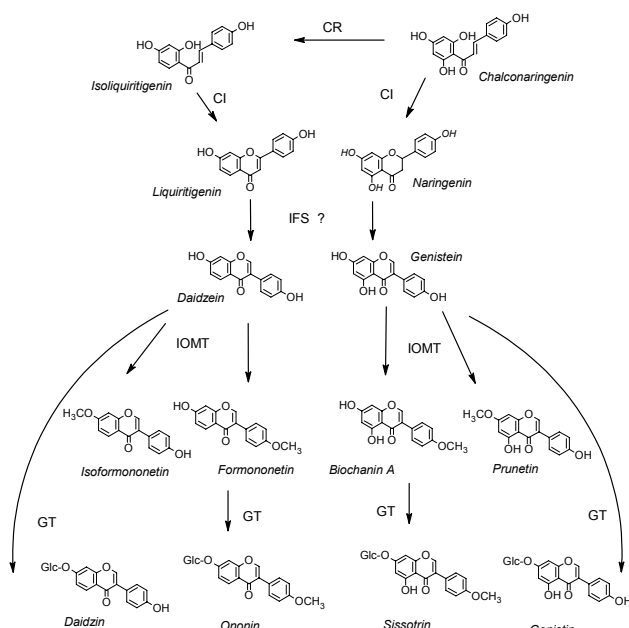


Fig. 1. Proposed scheme of isoflavonoid metabolism in *A. thaliana*

CR: chalcone reductase; CI: chalcone isomerase; IFS: isoflavone synthase; IOMT: isoflavone-*O*-methyl transferase; GT: glucosyl transferase

This study was supported by grants GACR 525/03/0352 and GAAVCR KJB6038409.

REFERENCES

- Lapcik O., Klejduš B., Davidová M., Kokoska L., Kuban V., Moravcová J.: *Phytochem. Anal.* 15, 293 (2004).
- Yu O., Jung W., Shi J., Croes R.A., Fader G.M., McGonigle B., Odell J. T.: *Plant Physiol.* 124, 781 (2000).

SYNTEZA A FOTOTOXIKOLOGICKÝ SCREENING SALICYLANILIDŮ

LENKA KUBICOVÁ^a, MARTIN PRAVDA^a, VLADIMÍR CHOBOT^b, JITKA VYTLAČILOVÁ^b a MILOŠ MACHÁČEK^a

^aKatedra anorganické a organické chemie a ^bkatedra farmaceutické botaniky a ekologie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
kubicova@faf.cuni.cz

Salicylanilidy byly v minulosti hojně používány pro své dezinfekční, antioxidační a další účinky jak v medicíně a kosmetice, tak i v technických oborech. Později jejich význam poklesl, zejména pro jejich fototoxický a fotoalergenní efekt¹. V souvislosti s nově objevenými

mechanismy jejich účinku v poslední době zájem o tyto látky znovu vzrůstá². Na našem pracovišti jsou salicylanilidy a jejich analogy studovány zvláště pro jejich antimykobakteriální aktivitu^{2,3}.

Cílem této práce byla syntéza série salicylanilidů a jejich fototoxikologický screening. Zatímco donedávna byly toxikologické studie běžně prováděny na obratlovcích, s rozvojem etických aspektů jsou preferovány jiné metody využívající např. bezobratlé živočichy nebo tkáňové kultury^{4,5}.

Substituované salicylanilidy byly syntetizovány reakcí substituované kyseliny salicylové s příslušným anilinem a chloridem fosforitým v chlorbenzenu³. Syntéza byla provedena v mikrovlnném reaktoru. Připravené sloučeniny byly překrystalizovány ze zředěného ethanolu a podrobeny fototoxikologickému screeningu na bezobratlých.

Práce vznikla za podpory výzkumných záměrů MŠMT ČR MSM 1160001 a 1160003 a Výzkumného centra LN00B125.

LITERATURA

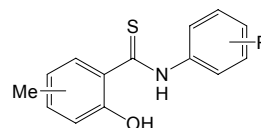
- Kubicová L., Waisser K.: *Cesk. Farm.* 41, 208 (1992).
- Šustr M., Hrnčiarová D., Látalová M., Pravda M., Kubicová L.: *Folia Pharm. Univ. Carol.* 29/30, 39 (2003).
- Waisser K., Bureš O., Holý P., Kuneš J., Oswald R., Jirásková L., Pour M., Klimešová V., Kubicová L., Kaustová J.: *Arch. Pharm.* 336, 53 (2003).
- Chobot V., Vytlačilová J., Jahodář L.: *Cent. Eur. J. Publ. Health* 12 Suppl., S31 (2004).
- Vytlačilová J., Chobot V., Jahodář L., Laakso I., Vuorela P.: *Cent. Eur. J. Publ. Health* 12 Suppl., S89 (2004).

ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA METHYLTHIOSALICYLANILIDŮ

LENKA KUBICOVÁ^a, MARTIN PRAVDA^a, MARTIN ŠUSTR^a, MILOŠ MACHÁČEK^a a JARMILA KAUSTOVÁ^b

^aKatedra anorganické a organické chemie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ^bNárodní referenční laboratoř pro *Mycobacterium kansasii*, Krajská hygienická stanice, Partyzánské nám. 7, 728 892 Ostrava
kubicova@faf.cuni.cz

Thiosalicylanilidy mohou mít v závislosti na substituci různé biologické účinky^{1,2}. Nedávno byly publikovány údaje o antimykobakteriální aktivitě thiosalicylanilidů a 5-bromthiosalicylanilidů³. Cílem této práce bylo připravit sérii thiosalicylanilidů substituovaných methylem v thioacylové části molekuly a studovat jejich antimykobakteriální aktivitu.



R = H; 3-Br; 3-Cl; 3-F; 3-CH₃; 4-Br; 4-Cl; 4-F; 4-CH₃; 4-C₂H₅; 4-iso-C₃H₇; 4-C₄H₉; 4-*sek*-C₄H₉; 4-OCH₃; 3,4-Cl₂; 3-Cl,4-F

Různě substituované thiosalicylanilidy byly připraveny z příslušných salicylanilidů reakcí se sulfidem fosforečným v pyridinu a hydrolýzou vzniklé pyridinové soli⁴. Výchozí salicylanilidy byly syntetizovány reakcí substituované kyseliny salicylové s příslušným anilinem a chloridem fosforitým v chlorbenzenu⁵.

Antimykobakteriální aktivita připravených thiosalicylanilidů byla hodnocena *in vitro* na Šulově půdě proti *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium* a *M. kansasii*. Vztahy mezi chemickou strukturou a antimykobakteriální aktivitou se diskutují.

Práce byla podporována výzkumným záměrem MŠMT ČR MSM 11600001.

LITERATURA

- Waisser K., Kubicová L.: *Cesk. Farm.* 42, 218 (1993).
- Kubicová L., Šustr M., Pravda M., Waisser K.: *Cent. Eur. J. Publ. Health* 12 Suppl., S56 (2004).
- Waisser K., Kubicová L., Gregor J., Bud'ová J., Andrl'ová A., Dršata J., Odlerová Ž.: *Cesk. Farm.* 47, 84 (1998).
- Kubicová L., Šustr M., Sedlák M.: *Chem. Listy* 96, 940 (2002).
- Waisser K., Bureš O., Holý P., Kuneš J., Oswald R., Jirásková L., Pour M., Klimešová V., Kubicová L., Kaustová J.: *Arch. Pharm.* 336, 53 (2003).

PŘÍPRAVA A TEORETICKÉ STUDIUM ORGANOZINEČNATÝCH SLOUČENIN NA BÁZI FLUOR(HALO)ETHENŮ

**PETR MACHÁČEK, MARTIN SKALICKÝ a
JAROSLAV KVÍČALA**

Ústav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28
Praha 6
machacep@centrum.cz

Organozinečnaté sloučeniny odvozené od fluor(halo)-ethenů jsou vhodné jako selektivní činidla pro zavedení trifluorethylové, (*Z*)- nebo (*E*)-1,2-difluorethylové skupiny do organických substrátů.

Analogicky publikovaným údajům¹ jsme připravili 3 výchozí fluorjodethany (Schéma 1) a podrobili je reakcím s aktivním zinkem za vzniku odpovídajících fluorovaných organozinečnatých sloučenin.

Zároveň jsme pro tyto tři organokovy vypočetli pomocí *ab initio* metod ¹⁹F NMR posuny izolovaných molekul i molekul s rozpouštědlem, které jsme porovnali s naměřenými experimentálními hodnotami.

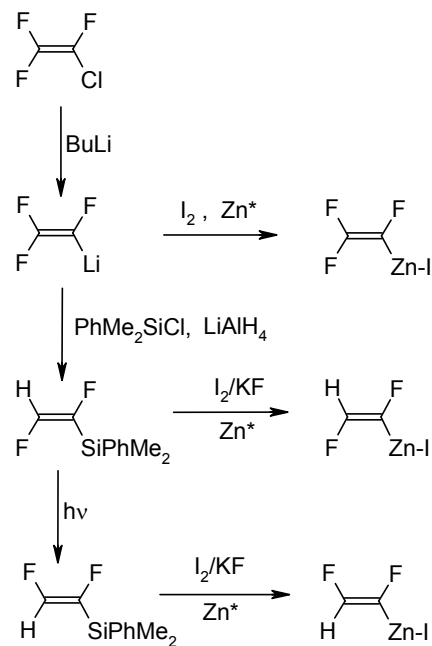


Schéma 1.

Projekt byl proveden za pomoci grantu GA ČR č. 203/02/0716.

LITERATURA

- Davis C.R., Burton D.J.: *Tetrahedron Lett.* 37, 7237 (1996).

NESOUČINNÝ PRŮBĚH CYKLOADIČNÍCH REAKCÍ KONDENZOVANÝCH 2-VINYLTIOFENŮ S DIMETHYL ACETYLENDIKARBOXYLÁTEM

**ALEŠ MACHARA^a, MILAN KURFÜRST^a, VÁCLAV
KOZMÍK^a a JIŘÍ SVOBODA^a**

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28
Praha 6
ales.machara@seznam.cz

Nedávno bylo zjištěno, že topologie uvedených heterocyklických systémů podstatně ovlivňuje jejich stabilitu a reaktivitu¹⁻³. Budou prezentovány výsledky studia cykloadičních reakcí různých 2-vinylthiofenových derivátů s dimethyl acetylendikarboxylátem⁴. Na základě struktur izolovaných látek (Schéma 1) a jejich distribuce byl navržen nesoučinný mechanismus reakce vedoucí k rozšíření thiofenového kruhu na thiopyranový. Dále bylo získáno široké spektrum minoritních produktů vzniklých následnými transformacemi primárních cykloaduktů. V příspěvku bude diskutován vznik všech izolovaných látek.

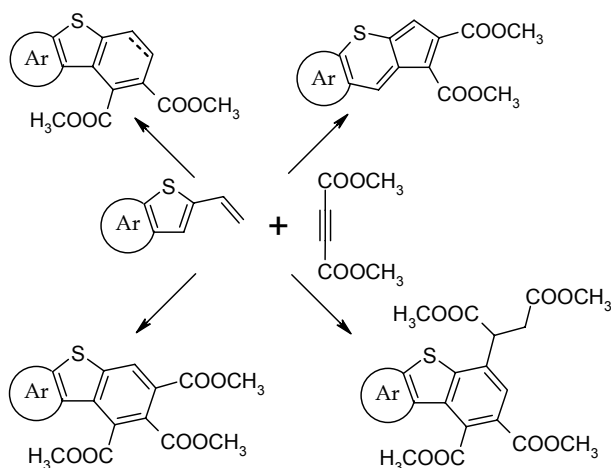


Schéma 1

Práce byly podporovány grantem MŠMT (projekt č. MSM 22310000) a GA ČR (projekt č. 202/02/0840).

LITERATURA

1. Svoboda J., Pihera P., Sedmera P., Paleček J.: Collect. Czech. Chem. Commun. *61*, 888 (1996).
2. Váchal P., Pihera P., Svoboda J.: Collect. Czech. Chem. Commun. *62*, 1468 (1997).
3. Pihera P., Dvořáková H., Svoboda J.: Collect. Czech. Chem. Commun. *64*, 389 (1999).
4. Machara A., Kurfürst M., Kozmík V., Petříčková H., Dvořáková H., Svoboda J.: Tetrahedron Lett. *45*, 2189 (2004).

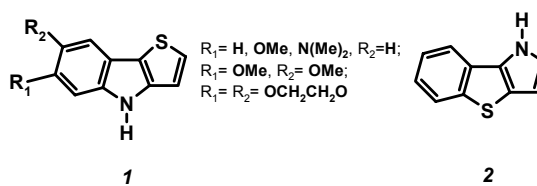
SYNTÉZA NOVÝCH DERIVÁTŮ THIENO[3,2-*b*]INDOLU A ELEKTROCHEMICKÉ VLASTNOSTI JEJICH VODIVÝCH POLYMERŮ

**MARIE MEZLOVA^{a,b}, JIRI SVOBODA^a,
JEAN-JACQUES AARON^b a
KATHLEEN CHANE-CHING^b**

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bITODYS, Univerzita Paříž 7 Denis Diderot, 1, rue Guy de la Brosse, 75005 Paris, Francie.
majova@centrum.cz

Heterocyklické sloučeniny pyrrol, thiofén a jejich funkční deriváty vedou ke skupině vodivých polymerů s důležitými elektrochemickými, optickými a antikorozivními vlastnostmi¹.

V návaznosti na studium chemie thieno[3,2-*b*][1]benzothiofenu a jeho derivátů, které poskytují polovodivé oligomery se zajímavými elektrochemickými vlastnostmi^{2,3}, byl syntetizován thieno[3,2-*b*]indol a jeho deriváty **1** a izomerní sloučenina benzothieno[3,2-*b*]pyrrol **2**.



Bude diskutována příprava všech monomerů **1**, založená na cyklizaci 2-(2-nitrofenyl)thiofenu triethyl fosfitem⁴, a vliv substituce molekuly na elektrochemické vlastnosti a strukturu vodivých polymerů.

Elektropolymerizace připravených látek a elektrochemické vlastnosti polymerů byly zkoumány v organických elektrolytech, jejich struktura byla určena pomocí IR, MALDI-TOF a skenovací elektronovou mikroskopií.

Práce byla podporována grantem FRVS G6 678 a stipendiem Francouzské vlády v rámci doktorátu pod dvojím vedením (2002-2005).

LITERATURA

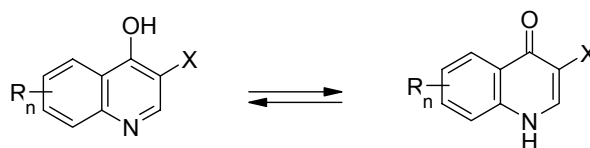
1. Wegner G., Mullen K. (Eds.): *Electronic Materials, The Oligomer Approach*, VCH Publishers, Weinheim 1997.
2. Aaron J. J., Mechbal Z., Adenier A., Parkanyi C., Kozmík V., Svoboda J.: J. Fluorescence *12*, 231 (2002).
3. Fouad I., Mechbal Z., Chane-Ching K., Adenier A., Maurel F., Aaron J. J., Vodička P., Černovská K., Kozmík V., Svoboda J.: J. Mater. Chem. *14*, 1711 (2004).
4. Abramovitch R. A., Chellathurai T., McMaster I. T., Takaya T., Azogu Ch. I., Vanderpool D. P.: J. Org. Chem. *42*, 2914 (1977).

4-QUINOLONES: HISTORY AND PERSPECTIVES

VIKTOR MILATA

Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology STU, Radlinského 9, SK-812 37 Bratislava, Slovak republic; e-mail: viktor.milata@stuba.sk.

4-Quinolones represent a large group of compounds with a long tradition of isolation and synthesis. Formally they are benzocondensed 4-pyridones with typical features belonging to tautomeric systems representing hydroxyquinoline – quinolone equilibria¹:



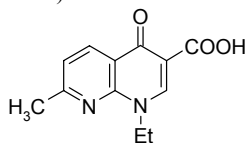
Many 4-quinolones are biologically active and therefore some of them were found in nature in some parts of plants or animals, such as zochromes (uranidine) or alkaloids (echinopsine; melicopine, -pidine, -picine; japonine; eduline, -eine; evocarpine; lunamarine, acridone, acrimarine family (A-H); acromycine, -nidine, -phylline, -phyllidine, (hydroxyl)lunine; lunacrine; balfouridine etc.)^{2,3}.

Because of wide biological and synthetic potential of natural and synthetic quinolones there were developed years

ago many synthetic method for their preparations³. Synthetic methods are divided to group according to many criteria, such as type and position of a substituent etc. We introduced some years ago a classification according to the last bond created during the quinolone ring formation³.

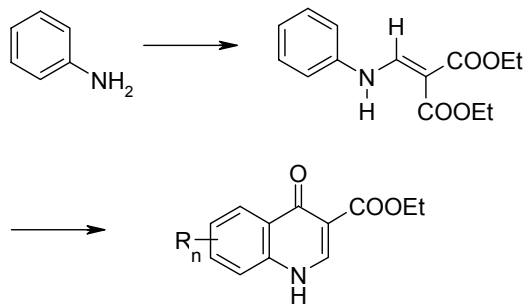
Few and far between are methods that in the last reaction step build a benzene ring (with concomitant aromatization), than formations of bonds between carbon atoms C2-C3 and C3-C4 and most frequently used N1-C2 and C4-C4a. The last case includes many historical methods of building a quinolone system, such as the Just, Conrad-Limpach or Gould-Jacobs reactions^{2,3}.

The main synthetic interest has been based on synthesis of quinolone antibacterials – analogues of nalidixic acid (naphthyridine derivative):

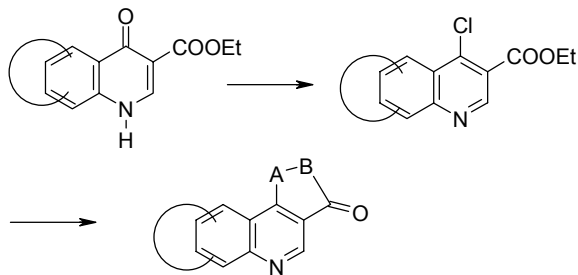


In the 70-ties three generations of bactericides were developed. There are now about 40 different 4-quinolones in human and veterinary undergoing clinical exploitations and tests (including Anthrax treatment). The mechanism of their activity is in inhibition of the bacterial prokaryotic enzyme DNA gyrase (topoisomerase II) with an absence of plasmid-bound resistance³.

The basic reaction for preparing 4-quinolones has been the Gould-Jacobs reaction, known from 1939, but this tandem of two reactions has been published more than a hundred years ago. Thus ethoxymethylenemalonate reacts with aniline to give anilinomethylenemalonate, which under catalytic or thermal cyclization produces 4-quinolone. Modifications are well-known, mostly based on different substituted anilines or tetrahydroquinolines and alkoxyethylene derivatives used in this reaction.



Primary quinolone could be derivatized by alkylation and saponification (or reversed) and following amination:



A-B: O-CH₂, S-CH₂, NH-CH₂, NH-NH, N=CH-N, etc.

Chlorination of primary quinolone gives rise to a very reactive α -chloroester system, which allowed us to prepare condensed tri- to pentacyclic systems with fused furo-, thieno-, pyrrolo-, pyrazolo-, pyrimidino-, pyridopyrimido-, benzimidazo- and triazoloquinolone tautomeric systems:⁴

Newer applications are in anticancer therapy exploiting their antitumor activity of cancer of lungs, large intestine, CNS, ovary, breasts, prostate glands etc; but also antihelminthics, antirheumatics, antiamebics, gastric and neurodegenerative diseases (epilepsy, stroke, heart attack, Alzheimer's disease), antiallergics, antiherpetics, SARS treatment, coccidiostatics³.

Author thanks the Slovak grant agency for financial supports (grants No. 1/9254/02 a 10058/03).

REFERENCES

1. Elguero J., Marzin C., Katritzky A.R., Linda P.: Adv. Heterocycl. Chem., Suppl. 1, Academic Press, New York 1976.
2. Milata V.: Čs. Slov. Farm. 49, 68 (2000).
3. Milata V., Claramunt R.M., Elguero J., P. Zálupský: Targets in Heterocyclic Systems, 4, 167 (2000) and citations therein.
4. Milata V., Saloň J., Černuchová P.: unpublished results.

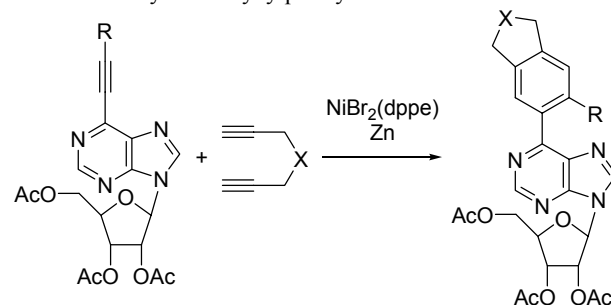
CYKLOTRIMERIZACE S 6-ALKYNYLPURYL-NUKLEOSIDY

PETR NOVÁK^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze, Albertov 2030, 128 43, Praha 2.

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

6-Arylpurinové báze a nukleosidy jsou známe svou biologickou aktivitou (cytostatická, antibakteriální, antimykobakteriální atd.). Na jejich přípravu se používají zejména cross-couplingové reakce. Další možností je využití [2+2+2]-cyklotrimerizace 6-alkynylpurinů s diyny katalyzované komplexy přechodných kovů (zejména Ni a Co). Za těchto podmínek byly zkoušeny pouze cyklotrimerizace s 9-allyl a 9-THP ochráněnými 6-alkynylpuriny¹.



Naším cílem bylo ověřit výše uvedenou metodu pro [2+2+2]-cyklotrimerizace 6-alkynylpurynukleosidů s diyny. Reakce byla prováděna v přítomnosti katalytického množství Ni(II) komplexu (NiBr₂(dppe)), který byl redukován in situ za

pomocí Zn. Reakce byly prováděny s celou řadou různě substituovaných substrátů (R = H, alkyl, fenyly; X = C(COOEt)₂, C(COMe)₂, C(COOEt)CN, C(COOEt)COMe, NTs, NPh), proběhly dle očekávání a poskytly odpovídající produkty v dobrých výtěžcích.

Práce byla podpořena grantem GAČR 203//03/0035.

LITERATURA

1. Turek P., Kotora M., Hocek M., Cisařová I.: *Tetrahedron Lett.* 44, 785 (2003).

BIOLOGICKY AKTIVNÍ FENYLGUANIDINY SUBSTITUOVANÉ V POLOZE 4 JÁDRA A ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA

**KAREL PALÁT^a, GABRIELA BRAUNEROVÁ^a a
JARMILA KAUSTOVÁ^b**

^aFarmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ^bZdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava, palat@faf.cuni.cz

Byla připravena série 4-substituovaných fenylyguanidinových solí (viz Schéma 1), které byly podrobeny testování na aktivitu proti následujícím kmenům mykobakteria: *M. tuberculosis* (My 331/88), *M. kansasii* (My 235/80 a My 6507/96) a *M. avium* (My 330/88).

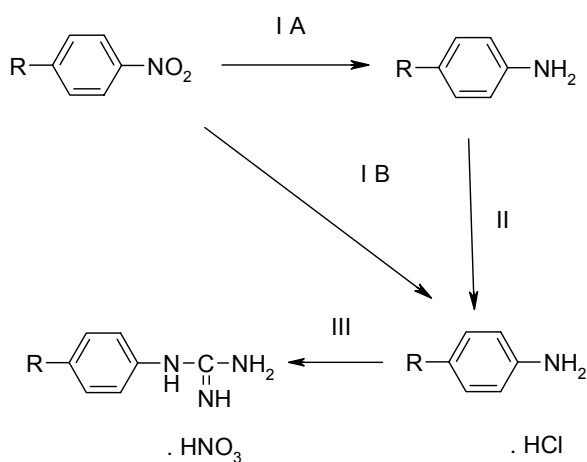


Schéma 1. (I) chlorid cínnatý IA¹, IB²; (II) chlorovodík (III) 1. kyanamid/2. kyselina dusičná³

Sloučeniny s alkylsulfanylsubstitucí s délkou řetězce C₆-C₁₄ vykazují vysokou antimykobakteriální aktivitu, která je proti některým kmenům výrazně vyšší než aktivita standardu, kterým byl isoniazid.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 111600001 a granty GAČR 203/04/0178 a 203/02/0082.

LITERATURA

1. Bellamy F.D., Ou K.: *Tetrahedron Lett.* 25, 839 (1984).

2. Ferry C.W., Buck J.S., Baltzly R.: *Org. Synth.* 22, 31 (1942).
3. McKee R.H.: *Am. Chem. J.* 26, 209 (1901).

SYNTHESIS AND ANTINFECTIVE EVALUATION OF PYRAZINAMIDE ANALOGUES

**LUKÁŠ PALEK, M. DOLEŽAL, V. BUCHTA and
X. ČERMÁK**

Dept. of Medicinal Chemistry and Drug Control, Faculty of Pharmacy, Charles University, Prague; Dept. of Medical Sciences, Faculty of Pharmacy, Charles University, Prague; Dept. of Microbiology, General Faculty Hospital, Hradec Králové

Tuberculosis becomes after a period of low incidence one of major health problems worldwide. There is - except of classical tuberculosis incidence gain caused by drug sensitive strains - very alarming growth of tuberculosis caused by multi-drug resistant mycobacterial strains. Because of globalisation and travelling possibilities for almost everyone there is high probability that the resistant strains will become overall major cause of tuberculosis infection. This yields into definite solution: new antitubercular drugs with new mode of action are urgently needed.

A short time ago, there have been reported that compounds derived from pyrazinamide may have different mode of action than pyrazinamide itself. Research on our dept. follows the pyrazinamide analogues synthesis pathway, in fact substituted 2,5-pyrazinedicarbonitrile moieties. The synthesis is then followed by activity assays that should screen the activity of each compound against various strains of Mycobacterium genus and against various fungi species as well. The antitubercular activity assays are projected to report the activity against both major strains and multi-drug resistant strains. Each compound is tested against major strains at Dept. of Microbiology, General Faculty Hospital in Hradec Králové, Czech Republic. Antifungal assays are undertaken at our Faculty by dept. of Medical Sciences.

We synthesized a series of compounds. After complete structure analysis the compounds have been given to undertake activity assays. Results of the assays promise new possibility of activity increase. Model compound (pyrazinamide, MIC = 16 μmol.l⁻¹) is less active than the new one we have synthesized (3-(3-chlorophenylamino)pyrazine-2,5-dicarbonitrile, MIC = 8 μmol.l⁻¹). There is plan to finish the series, to complete all assays and put everything together to get some structure-activity solution that should yield into preparation of even more active structures.

STUDIUM STAUDINGEROVY REAKCE 4-NITROFENYL-2-AZIDO-2-DEOXY- α -D- MANNOPYRANOSIDU

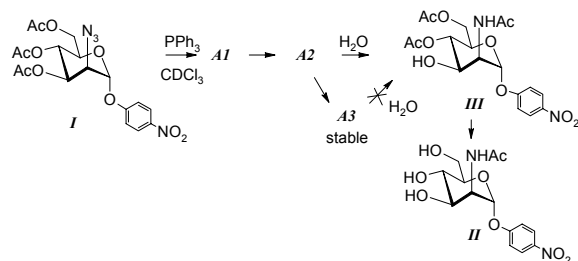
**ALENA POPELOVÁ^a, JARMILA JUKLOVÁ^a, HANA
DVORÁKOVÁ^b a JITKA MORAVCOVÁ^a**

^aÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6;

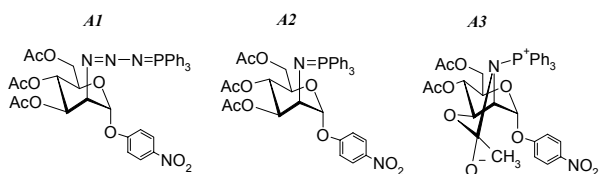
^bCentrální laboratoře, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6.
alena.popelova@vscht.cz

Chemoselektivní redukce azidoskupiny 4-nitrofenyl-2-azido-2-deoxy- α -D-mannopyranosidu (**I**) systémem triphenylfosfin-voda (Staudingerova reakce^{1,2}) je klíčovým krokem přípravy odpovídajícího 2-acetamidoglykosidu **II** vykazujícího silnou interakci³ s aktivačním proteinem NK-buněk u krys (NKR-P1). Tato redukce bez přísady acetylačního činidla poskytla *N*-acetylovaný produkt identifikovaný pomocí ¹³C a ¹H NMR jako 4-nitrofenyl-4,6-di-*O*-acetyl-2-acetamido-2-deoxy- α -D-mannopyranosid (**III**). Volná hydroxylová skupina v poloze 3 ukazuje na migraci acetylů z polohy 3 na atom dusíku v poloze 2. Intramolekulární přesun acetylů za podmínek Staudingerovy reakce dosud nebyl v literatuře popsán.

Proto byl průběh redukce glykosidu **I** v CH₂Cl₂ a v CDCl₃ sledován ¹H, ¹³C, ³⁵P NMR, MS a IR spektrometrickými metodami.



Byly jasně rozlišeny tři fáze reakce v CDCl₃. Struktura meziproduktů **A1**, **A2** a **A3** byla navržena na základě výsledků ¹⁵N NMR, NOE and MS.



Tato práce je součástí projektu FRVŠ č. 662 G4/2004.

LITERATURA

- Gololobov Y. G., Kasukhin L. F.: *Tetrahedron* 48, 1353 (1992).
- Scriven E. F. V., Turnbull K.: *Chem. Rev.* 88, 297 (1988).
- Krist P., Herkommerova-Rajnochová E., Rauvolfová J., Semeňuk T., Vavrušková P., Pavlíček J., Bezouška K., Petruš L., Křen V.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 287, 11 (2001).

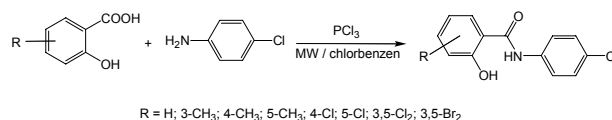
SYNTÉZA SALICYLANILIDŮ V MIKROVLNNÉM REAKTORU

MARTIN PRAVDA, **LENKA KUBICOVÁ** a **PAVEL SKÁLA**

Katedra anorganické a organické chemie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
pravda@faf.cuni.cz

Salicylanilidy patří k farmaceuticky zajímavým skupinám sloučenin¹. Metody jejich syntézy zahrnují např. Friedelovu-Craftsovu acylaci, aminolýzu esterů nebo reakci kyseliny salicylové s aniliny za různých podmínek. Některé z nich byly v poslední době modifikovány využitím mikrovlnného záření^{2,3}. V porovnání s klasickými postupy vedou obvykle mikrovlnné syntézy ke zkrácení reakční doby na několik minut a k získání čistšího produktu ve vysokém výtěžku^{4,5}. Cílem této studie bylo optimalizovat postup⁶ v podmínkách mikrovlnného reaktoru.

Metoda⁶ využívá reakci salicylové kyseliny s anilinem a PCl₃ v chlorbenzenu (Schema 1). V mikrovlnném reaktoru jsme optimalizovali reakční podmínky a připravili modelovou sérii 4'-chlorsalicylanilidů různě substituovaných v acylové části molekuly. Produkty jsme po izolaci z reakční směsi překrytalizovali ze zředěného ethanolu.



Schema 1.

Oproti klasickému postupu (zahřívání reakční směsi pod zpětným chladičem) se převedením syntézy do mikrovlnného reaktoru podařilo výrazně zkrátit reakční dobu (z 3,5 až 6 hodin na 10 až 15 minut) při výtěžku od 87 do 93 % a velice snadné izolaci produktu.

Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MŠMT ČR MSM 11600001.

LITERATURA

- Šustr M., Hrnčiarová D., Látalová M., Pravda M., Kubicová L.: *Folia Pharm. Univ. Carol.* 29/30, 39 (2003).
- Veverková E., Mečiarová M., Toma Š., Balko J.: *Monatsh. Chem.* 134, 1215 (2003).
- Paul S., Nanda P., Gupta R., Loupy A.: *Synthesis* 2003, 2877.
- Microwaves in Organic Synthesis*, Loupy A. (Ed.). John Wiley, NY, 2002.
- Perreux L., Loupy A.: *Tetrahedron* 57, 9199 (2001).
- Waisser K., Bureš O., Holý P., Kuneš J., Oswald R., Jirásková L., Pour M., Klimešová V., Kubicová L., Kaustová J.: *Arch. Pharm.* 336, 53 (2003).

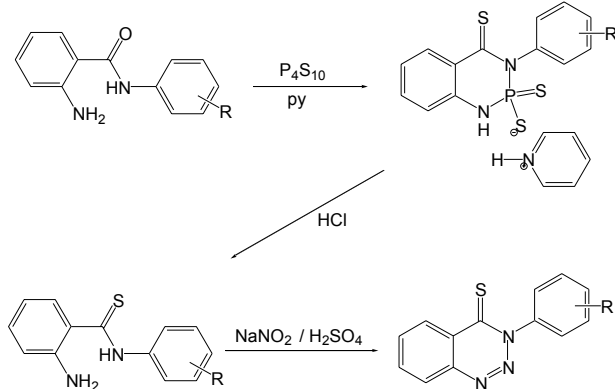
SYNTÉZA 3-ARYL-1,2,3-BEZOTRIAZIN-4(3H)-THIONŮ

LENKA KUBICOVÁ, **MARTIN PRAVDA** a **PAVEL SKÁLA**

Katedra anorganické a organické chemie, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
kubicova@faf.cuni.cz

V rámci výzkumu¹⁻³ antimykobakteriálních 3-aryl-2*H*-1,3-benzoxazin-2,4(3*H*)-dionů a jejich analog jsme dospěli ke struktuře 3-aryl-1,2,3-benzotriazin-4(3*H*)-thionů (**I**). Tyto látky nebyly dosud v literatuře popsány. Cílem příspěvku bylo najít vhodný postup pro jejich syntézu.

Látky **I** byly připraveny z thioanthranilanilidů diazotací spojenou se spontánní cyklizací (Schema 1). Výchozí thioanthranilanilidy byly syntetizovány thionací anthranilanilidů sulfidem fosforečným v pyridinu a následnou kyselou hydrolyzou vzniklých meziproductů ve směsi toluenu a vody⁴. Provedením v mikrovlnném reaktoru došlo k podstatnému urychlení obou kroků syntézy thioanthranilanilidů.



Schema 1.

Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MŠMT ČR MSM 11600001.

LITERATURA

1. Waisser K., Macháček M., Dostál H., Gregor J., Kubicová L., Klimešová V., Kuneš J., Palát K., Jr., Hladůvková J., Kaustová J., Möllmann U.: Collect. Czech. Chem. Commun. 64, 1902 (1999).
2. Waisser K., Gregor J., Dostál H., Kuneš J., Kubicová L., Klimešová V., Kaustová J.: Farmaco 56, 803 (2001).
3. Waisser K., Gregor J., Kubicová L., Klimešová V., Kuneš J., Macháček M., Kaustová J.: Eur. J. Med. Chem. 35, 733 (2000).
4. Hanusek J., Hejtmánková L., Kubicová L., Sedlák M.: Molecules 6, 323 (2001).

IZOMERIZÁCIA α -AMINOKYSELÍN PRI REAKCIÁCH S 2-HYDROXY-2-ALKYLTETRALÓNMI

BORIS GÁŠPÁR, MAREK PAŽICKÝ, MARTA SALIŠOVÁ a ANDREJ BOHÁČ

Katedra organickej chémie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina CH-2, 84215 Bratislava, Slovensko
salisova@fns.uniba.sk

Pri snahe o rezolúciu racemického 2-hydroxy-2-metyltetralónu **I** cez diastereoizoméry s L-alanínom sme zistili, že pri reakcii dochádza k racemizácii L-alanínu, (Schéma 1, Tabuľka 1)¹.

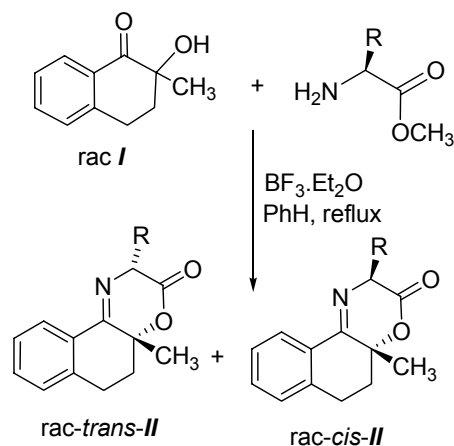


Schéma 1.

Tabuľka 1.: Podmienky a výsledky reakcie L-alanínátu s rac-2-hydroxy-2-metyltetralónom

Ekv. metylesteru L-alanínu	Čas (h)	Konverzia (%)	II <i>trans</i> / <i>cis</i>
0.5	13	< 10	66 : 34
5	18	> 95	97 : 3

Tieto výsledky nás privedli k preskúmaniu možnosti využitia uvedenej reakcie na deracemizáciu amino-kyselín (epimerizáciu na α uhlíku aminokyselín), resp. na prípravu neprirodných, D-aminokyselín pri reakcii s enantioméne čistým 2-hydroxy-2-metyl-tetralónom **I**. Zistili sme však, že pri delení diastereoizomérov **II** na silikagéli dochádza k čiastočnej izomerizácii. Pokúsili sme sa preto o optimalizáciu podmienok epimerizácie pri reakciách racemického 2-hydroxy-2-metyltetralónu resp. 2-hydroxy-2-etyltetralónu s L-alanínom resp. L-fenyl-alanínom.

Autori ďakujú Slovenskej grantovej agentúre za finančnú podporu grantu VEGA 1/0217/03.

LITERATÚRA

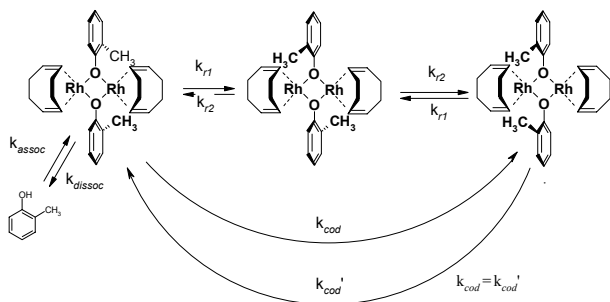
1. Solladie-Cavallo A., Šedý O., Sališová M., Schmitt M.: Europ. J. Org. Chem. 17, 3042 (2002).

NMR STUDIUM STRUKTURY A DYNAMICKÉHO CHOVÁNÍ CYKLOOKTADIENOVÝCH KOMPLEXŮ RHODIA

JAN SEJBAL^a, JIŘÍ ZEDNÍK^b a JIŘÍ VOHLÍDAL^b
Univerzita Karlova, PrF, ^aKatedra organickej chémie,
^bKatedra fyzikálnej chémie 128 40 Praha 2, Albertov 6
sejbal@natur.cuni.cz; zednik@natur.cuni.cz

Pro testování katalytické aktivity při hydroformylaci¹ byla připravena série komplexů $[\{Rh(\eta^2:\eta^2\text{-cyclookta-1,5-dien})\}_2(\mu\text{-feno})_2]$, kde fenoxy ligandy představoval fenol a všechny tři kresoly.

Na rozdíl od ostatních komplexů, komplex obsahující *o*-kresolový ligand vykazoval podle NMR spekter v roztoku dynamickou rovnováhu majoritní a minoritní komponenty spolu s disociovaným kresolem. Na základě COSY, NOESY, HSQC a HMBC spekter byla pro majoritní komponentu určena struktura s methylovými skupinami *o*-kresolů vedoucími na stejnou stranu roviny tvořené atomy kyslíku a rhodia, u minoritní struktury je konfigurace methylových skupin opačná.



Scheme 1. Dynamické rovnováhy u $[\{\text{Rh}(\eta^2:\eta^2\text{-cycloocta-1,5-dien})_2(\mu\text{-}(2\text{-Me-fenoxo}))_2\}]$ komplexu

Neekvivalence protonových signálů v cyklooktadienových ligandech jednotlivých komponent umožnila studovat probíhající procesy. Rozbor intenzit výměnných krospektrů v EXSY spektrech při teplotách -25°C až 50°C ukázal, že nejrychlejším procesem je rotace cyklooktadienového ligandu, zatímco kresolové ligandy rotují mnohem pomaleji. Za vyšších teplot se uplatňuje i disociace kresolového ligandu. Pro tyto tři procesy byly spočítány hodnoty aktivačních entalpií a entropií.

Tento projekt byl finančně podporován z prostředků grantových agentur GAČR a GAUK.

LITERATURA

1. Kostas I.D., Vallianatou K.A., Kyristis P., Zednik, J. Vohlidal J.: *Inorg. Chim. Acta* 357, 3084 (2004).

SYNÉZA CHIRÁLNÍCH IMIDAZOLŮ A TVORBA JEJICH KOMPLEXŮ

ROMAN SÍVEK a OLDŘICH PYTELA

*Katedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, nám. Čs. Legií 565, 532 10 Pardubice
roman.sivek@upce.cz*

Již dříve publikovaná^{1,2} úspěšná cesta k přípravě amidů 2-fenylimidazol-4,5-dikarboxylové kyseliny³ a 2-fenylimidazol-4-karboxylové kyseliny byla využita k přípravě relativně rozsáhlé série těchto typů látek. U obou uvedených kyselin byly použity jako aminové složky opticky čisté aminokyseliny (glycin, alanin, valin, fenylglycin, fenylalanin, leucin a isoleucin) a v několika případech i opticky čisté chirální aminy. Všechny připravené látky byly identifikovány

a charakterizovány pomocí ^1H NMR, ^{13}C NMR, elementární analýzou a byla změřena optická otáčivost.

Byla měřena kinetika rozkladu 4-nitrofenylacetátu za přítomnosti připravených amidů jako nukleofilních katalyzátorů. Nebyl však nalezen očekávaný katalytický efekt. Spektrálně byl sledován vznik komplexů amidů se solemi kovů (Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+}) v methanolu a tím byla potvrzena schopnost syntetizovaných látek komplexovat.

Tato práce byla finančně podpořena GA ČR, číslo grantu 203/02/0750.

LITERATURA

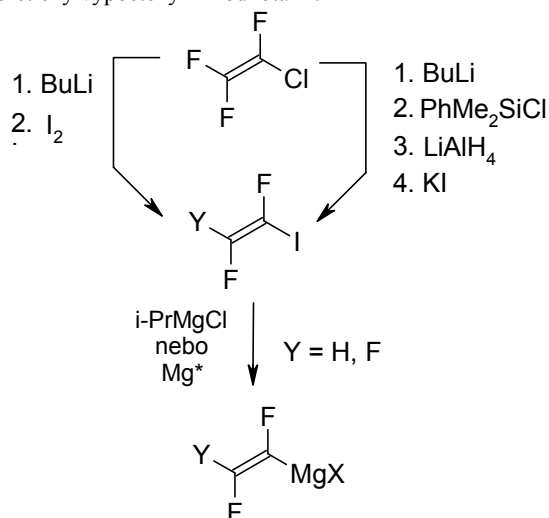
1. Sívek R., Pytela O.: *Syntéza chirálních 4,5-substituovaných 2-fenylimidazolů*; *Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemie*; Nymburk, Česká republika, Listopad 28-30 (2003); poster.
2. Sívek R., Pytela O.: *Syntéza chirálních derivátů 2-fenylimidazolů*; XXVII. *Konference organických chemiků*, Pardubice, Česká republika, Červen 14-17, 2004; přednáška.
3. Meth-Cohn O., Williams N.J.R.: *Tetrahedron* 54, 9837 (1998).

PŘÍPRAVA A TEORETICKÉ STUDIUM ORGANOHOŘEČNATÝCH SLOUČENIN NA BÁZI FLUOR(HALO)ETHENŮ A FLUOR(HALO)METHANŮ

MARTIN SKALICKÝ, PETR MACHÁČEK a JAROSLAV KVÍČALA

*Ústav organické chemie, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
martin.skalicky@vscht.cz*

Cílem této práce byla příprava organohorečnatých činidel na bázi fluor(halo)ethenů a fluor(halo)methanů a porovnání jejich naměřených NMR chemických posunů s teoreticky vypočtenými hodnotami.



Z výchozího chlortrifluorethenu bylo lithiací připraveno trifluorethenyllithium¹. Jeho silylace a následná redukce vedla po další transformaci k (*Z*)-1,2-difluor-2-jodethenu. Reakci

trifluorethenyllithia s jodem byl připraven trifluorjodethen. Oba tyto fluorvinyljodidy byly podrobeny metalacní reakci Riekeho hořčíkem² a transmetalaci isopropylmagnesiumchloridem za vzniku příslušných fluororganohořečnatých sloučenin. Analogicky byl reakcí tribromfluormethanu s Riekeho hořčíkem připraven (tribromfluormethyl)magnesiumbromid.

V teoretické části byly pomocí *ab initio* výpočtů studovány příslušné organohořečnaté sloučeniny – byla provedena geometrická optimalizace a vypočteny ¹⁹F NMR posuny molekul izolovaných nebo solvatovaných dvěma molekulami etherického rozpouštědla. Následně byly teoreticky získané hodnoty porovnány s experimentálními daty získanými nízkoteplotní ¹⁹F NMR spektroskopii.

Práce byla provedena za podpory GA ČR (grant č. 203/02/0716).

LITERATURA

- Burton D. J., Yang Z.-Y., Morken P. A.: *Tetrahedron Lett.* 50, 2993 (1994).
- Rieke R. D., Hudnall P. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 94, 7178 (1972).

ANALÝZA LIGNANŮ *IN VITRO* KULTURY *SCHISANDRA CHINENSIS*

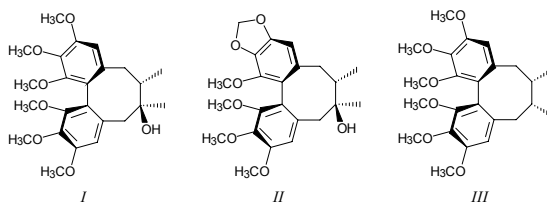
LENKA BŘEZINOVÁ^a, JIŘÍ SLANINA^a, ALEXANDRA SMÍŠKOVÁ^c, HELENA VLAŠINOVÁ^c, PAVEL MUSIL^b a EVA TÁBORSKÁ^a

^aBiochemický ústav a ^bCentrum léčivých rostlin, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Komenského nám. 2, 662 43 Brno, ^cÚstav botaniky a fyziologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno
jslanina@med.muni.cz

Lignany jsou skupinou sekundárních metabolitů cévnatých rostlin, které se skládají ze 2 fenylypropanových jednotek. Lignany vykazují antioxidační, antimikrobiální, cytotoxickou, insekticidní a antivirovou aktivitu¹. Některé lignany a jejich deriváty (podofylotoxin a etoposid) našly uplatnění jako léčiva².

V naší práci jsme se zaměřili na analýzu dibenzocyklo[a,c]oktadienových lignanů v *Schisandra chinensis*, která se používá po staletí v tradiční čínské medicíně především jako tonikum a antitusikum. V současnosti je věnována pozornost zejména antioxidační a hepatoprotektivní aktivitě jejich lignanů³.

Stanovili jsme obsah hlavních lignanů v různých částech rostliny a ve vzorcích *in vitro* kultury pomocí optimalizované HPLC metody. Nejvyšší obsah lignanů jsme našli v semenech, hlavním lignanem semen byl schizandrin (**I**) a gomisín A (**II**). Z embrya semen byla odvozena *in vitro* kultura a obsah lignanů byl hodnocen ve všech fázích vývoje embrya. Hlavním lignanem ve vzorcích *in vitro* kultury byl deoxyschizandrin (**III**). Produkce lignanů kulturou byla významně zvýšena světlem a přidávkem polyaminu putrescinu.



Tato práce byla provedena za finanční podpory GA ČR (grant č. 521/02/1129).

LITERATURA

- Charlton J. L.: *J. Nat. Prod.* 61, 1447 (1998).
- Canel C., Moraes R. M., Dayan F. E., Ferreira D.: *Phytochemistry* 54, 115 (2000).
- Hancke J.L., Burgos R.A., Ahumada F.: *Fitoterapia* 70, 451 (1999).

BIOLOGICKÁ AKTIVITA KVARTERNÍCH BENZO[c]PHENANTHRIDINOVÝCH ALKALOIDŮ

IVA SLANINOVÁ^a, JIŘÍ ŠINKORA^b a EVA TÁBORSKÁ^c

^aBiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Tomešova 12, 602 00 Brno; ^bDAKO Cytomation, ^cBiochemický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Komenského nám. 2, 66243 Brno
ipokorna@med.muni.cz

Kvarterní benzo[c]phenanthridinové alkaloidy (QBA), patřící do skupiny izochinolinových alkaloidů, se vyskytují v rostlinách čeledi *Papaveraceae*, *Fumaraceae* a *Rutaceae*. Nejznámějšími a nejvíce prostudovanými jsou alkaloidy sanguinarin a chelerythrin¹. Na našem pracovišti byly ve dvou etapách testovány tyto alkaloidy: sanguinarin (SA), chelerythrin (CHE), sangulutin (SL) chelilutin (CHL), sanguirubin (SR), chelirubin (CHR) a macarpin (MA)². Alkaloidy byly izolovány z *Macleaya microcarpa*³. Byly použity testy na *in vitro* cytotoxicitu (NR-release assay, MTT assay; stanovení IC₅₀) na buněčných liniích různého histogenetického původu HeLa, HL-60, A-431, KF-1. Byl studován mechanismus buněčné smrti testy na apoptózu (Anexin-V FITC, APOTESTTM-FITC, DAKO Cytomation) a ovlivnění cytoskeletu - mikrotubulů (nepřímá imunofluorescence) a aktinových mikrofilament (barvení Rh-phalloidinem).

Vlastnosti alkaloidů vykazovat primární fluorescenci bylo využito při studiu vstupu alkaloidu do buňky a jejich vnitrobuněčné lokalizace.

Cytotoxicita alkaloidů klesala v pořadí: MA>CHE>SA>SR>CHR>CHL, SL. SR, CHE, SA a MA vykazovaly schopnost indikovat programovanou buněčnou smrt (apoptózu).

Práce vznikla za podpory grantu GAČR č. 525/04/0017.

LITERATURA

- Walterová D., Ulrychová J., Válka I., et al., *Acta Univ. Palacki Olomouc Fac. Med.* 139, 7 (1995).

- Slaninová I., Táborská E., Bochořáková H., Slanina J.: *Cell Biol. Toxicol.* 17, 51 (2001).
- Dostál J., Táborská E., Slavík J., Potáček M., deHoffmann E.: *J. Nat. Prod.* 58, 723 (1995).

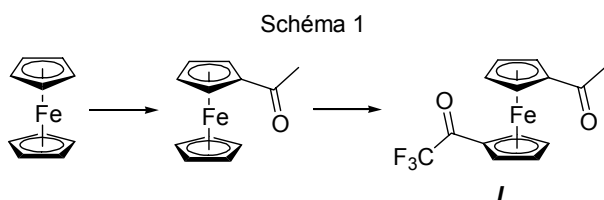
PERFLUORACYLACE FERROCENU

MARIE SOBOCIKOVÁ^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 2030, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6 kotora@natur.cuni.cz

Komplexy přechodných kovů s cyklopentadienylovými ligandy představují velkou skupinu sloučenin, které mají významné místo v katalýze organických reakcí. Vhodnou substitucí cyklopentadienylového kruhu je možné dosáhnout ladění katalytických vlastností komplexu změnou elektronové hustoty na centrálním atomu kovu a zvýšením sterického bránění v jeho okolí. Jednou z možností přímé funkcionalizace nesubstituovaných cyklopentadienylových komplexů je Friedel-Craftsova acylace¹, která umožňuje zavádění polárních substituentů. Ideální substrátem pro studium v této oblasti je ferrocen, který je přijatelný jak z hlediska finálního, tak z hlediska chemické stability.

Naše pozornost byla zaměřena na přípravu 1,1'-nesymetricky substituovaných acylferrocenů, založená na postupném zavádění dvou různých acylových skupin. Hlavní zájem byl o přípravu nesymetricky substituovaného 1-acetyl-1'-trifluoroacetylferrocenu **I**, jehož příprava nebyla zatím popsána. Přestože mono- a diacylace ferrocenu jsou poměrně dobře prozkoumány, ukázalo se, že se nejedná o zcela triviální záležitost. Nicméně naše snaha byla po mnohých peripetiích korunována úspěchem. V této souvislosti budou diskutovány jak úspěšné, tak neúspěšné syntetické postupy



Práce byla podpořena grantem GA AV IAA4072203.

LITERATURA

- Hazafy D., Sobociková M., Štěpnička P., Ludvík J., Kotora M.: *J. Fluorine Chem.* 124, 177 (2003).

³²P-POSTLABELING ASSAY - A SUITABLE TECHNIQUE FOR EVALUATION OF THE GENOTOXICITY OF CHEMICALS

MARIE STIBOROVÁ^a, MARTINA RUPERTOVÁ^a, EVA FREI^b and HEINZ H. SCHMEISER^b

^aDepartment of Biochemistry Faculty of Science, Charles University, Albertov 2030, 128 40 Prague; ^bDivision of Molecular Toxicology, German Cancer Research Center, Im Neuenheimer Feld 280, 69 120 Heidelberg e.frei@dkfz-heidelberg.de; h.schmeiser@dkfz-heidelberg.de stiborov@natur.cuni.cz; martina_rupertova@centrum.cz

The detection of DNA adducts in tissues of organisms (including humans) exposed to chemicals is important to assess the genotoxicity of potential carcinogens. To detect DNA adducts, the most widely used methods include mass spectroscopy, fluorescence spectroscopy, immunoassays and ³²P-postlabeling. Among them, the ³²P-postlabeling method appears to meet best the criteria of sensitivity in low amounts of DNA, and therefore, is most appropriate for biomonitoring human DNA samples. DNA adducts formed by most classes of carcinogens have been subjected to ³²P-postlabeling analysis, ranging from bulky and/or aromatic compounds to small and/or aliphatic compounds. It has also been used, with modifications, to detect apurinic sites in DNA, oxidative damage to DNA, UV-induced photodimers and, to a lesser extent, DNA damage caused by cytotoxic drugs.

The principle of the method is the enzymatic digestion of DNA to nucleotides, 5'-labelling of these nucleotides with radioactive phosphate group, and the resolution, detection and quantitation of the labelled products. Since the development of the original procedure, the method has been modified to increase the sensitivity by enrichment of adducted nucleotides prior to labelling. The increasing use of the ³²P-postlabelling assay for the detection (and/or identification) of DNA adducts in animals and humans exposed to chemicals is attributable to its extremely high sensitivity, without the need to administer radioactive xenobiotics to experimental animals. Here, we review the individual ³²P-postlabeling techniques (standard procedure, enrichment methods) and evaluate critically these assays. We also review the applications of the method to different DNA modifications, and its utilization in human biomonitoring studies. The ³²P-postlabeling method can be used in prospective studies to assess the risk for humans exposed to industrial pollutants, environmental contaminants, food contaminants and drugs. Finally, the method might help to achieve improvements in cancer epidemiology and in the prevention of cancer.

Supported by the Ministry of Industry and Trade of the Czech Republic (grant FD-K/096).

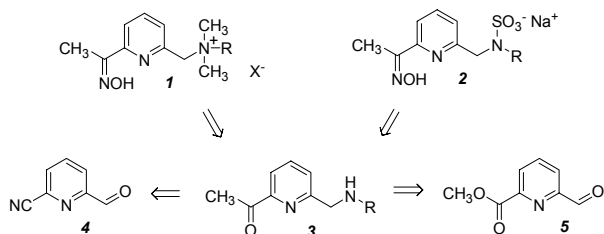
SYNTECKÉ STUDIE SMĚŘUJÍCÍ K AMFIFILNÍM LIGANDŮM NA BÁZI 2,6-DISUBSTITUOVANÝCH PYRIDINŮ

EVA SVOBODOVÁ^a, RADEK CIBULKA^a, FRANTIŠEK HAMPL a FRANTIŠEK LIŠKA^a

^aVysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav organické chemie, Technická 5, 166 28 Praha 6 svobodoe@vscht.cz

Z předchozích výsledků naší laboratoře je zřejmé, že sloučeniny obsahující 2-(hydroxyiminomethyl)pyridinové

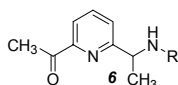
chelátotvorné seskupení jsou velmi dobrými ligandy pro transport iontů přechodných kovů přes kapalnou membránu¹. Je známo, že elektrostatická interakce mezi záporným nábojem povrchu anionické micely a iontem kovu usnadňuje koordinaci tohoto kovu k ligandu zabudovaného v micelě². Pro studium vlivu náboje polární skupiny na koordinaci a transport kovů přes membránu byly navrženy látky **1** a **2**.



Schema 1. Retrosyntetická analýza.

Retrosyntetickou analýzou cílových struktur lze dospět ke klíčovému meziprojektu, kterým je 2-acetyl-6-alkylaminomethylpyridin **3**. Ten lze připravit např. z 6-formyl-2-kyanopyridinu **4** (cit.³) kondenzací s příslušným alkylaminem a adicí methylmagnesium-jodidu nebo z methyl-6-formylpikolinátu **5**, připraveného parciální redukcí dimethylpyridin-2,6-dikarboxylátu⁴.

Přes obtíže vyskytující se při ověřování schůdnosti syntetického postupu jsme připravili 6-acetyl-2-(1-alkylamino)ethylpyridin **6**, modifikovaný klíčový meziprojekt.



Autoři děkují Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy za finanční podporu projektu číslo: MSM 223100001.

LITERATURA

1. Svobodová E., Cibulka R., Hampl F., Liška F.: Chem. Listy 95, 768 (2001).
2. Son S. - G., Hebrant M., Tecilla P., Scrimin P., Tondre Ch.: J. Phys. Chem. 96, 11072 (1992).
3. Eichinger K., Berbalk H., Kronberger H.: Synthesis 1982, 1094.
4. Masiero S., Fini F., Gottarelli G., Spada G. P.: J. Chem. Res. Miniprint 10, 2736 (1998).

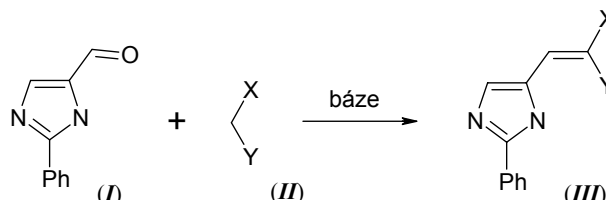
SYNTEZA DERIVÁTŮ 2-FENYLIMIDAZOLU S VYUŽITÍM ALDOLOVÉ KONDENZACE

TOMÁŠ SZOTKOWSKI a **OLDŘICH PYTELA**

Katedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, nám. Čs. Legií 565, 532 10 Pardubice
Tomas.Szotkowski@upce.cz

Práce se zabývá možností přípravy prekurzorů chirálních derivátů 2-fenylimidazolu. Z literatury je známo využití aldehydu odvozeného od imidazolu k syntéze derivátů imidazolu pomocí aldolové kondenzace¹. V této práci je

použito výchozí látkou pro syntézy 2-fenyl-4-formylimidazolu (**I**). Jeho kondenzací s vhodnými substráty s aktivní methylenovou skupinou (**II**) za bazické katalýzy vznikají nenasycené deriváty obecného vzorce (**III**). Alespoň jeden ze substituentů X, Y musí být silně elektronakceptorním substituentem typu CN, COOR, COOH, COR, apod. Struktura produktu obsahující dvojnou vazbu a dvě další funkční skupiny představuje vhodnou výchozí látku pro následné vybudování chirálního centra v molekule. Schema 1. Obecná rovnice aldolové kondenzace.



Bylo připraveno 10 dosud nepublikovaných látek – produktů aldolové kondenzace. Tři z nich se ukázaly jako vhodné substráty pro další přeměny na chirální látky. Celkem bylo připraveno 5 rovněž dosud nepublikovaných chirálních derivátů. Struktura všech produktů byla potvrzena pomocí ¹H a ¹³C NMR spektroskopie.

Práce vznikla za finanční podpory grantu č. 203/02/0750 GA ČR.

LITERATURA

1. McNab H., Thornley C.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1997, 2203.

PRÍPRAVA FEROCÉNOVÉHO ANALÓGU 2-HYDOXY-2-METYL-TETRALÓNU

ANDREA ŠKVORCOVÁ, **MARTA SALIŠOVÁ**
a **ANDREJ BOHÁČ**

Katedra organickej chémie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina CH-2, 84215 Bratislava, Slovensko
salisova@fns.uniba.sk

Prírodné, enantioméne čisté α -hydroxyketóny typu α -hydroxypinanónu sa využívajú ako pomocné chirálne zlúčeniny pri cieľenej syntéze prírodných aj neprírodných α -aminokyselín, modifikáciou glycinu^{1,2,3}. V posledných rokoch sa venuje pozornosť syntetickému analógu α -hydroxypinanónu - 2-hydroxy-2-metyltetralónu.

Zaujala nás možnosť prípravy prikondenzovaného ferocénového analógu cyklického α -hydroxyketónu a jeho reaktivita pri stereoselektívnej syntéze α -aminokyselín.

Východiskovú zlúčeninu - prikondenzovaný ferocénylén-cyklohexanón **I** sme pripravili známou štvorstupňovou syntézou z ferocénu⁴. Snaha o jednoduchovú prípravu tejto zlúčeniny reakciou ferocénu s butyrolaktónom nebola zatiaľ úspešná. Požadovaný hydroxyketón **IV** sme pripravili sledom reakcií uvedených na schéme 1. Zistili sme, že pri reakcii hydroxyketónu **IV** s metyl glycinátom nedochádza k tvorbe

odpovídajícího iminolaktónu, ale reakcia sa zastaví v štádiu iminoesteru, podobne ako pri reakcii s α -hydroxypinanónom.

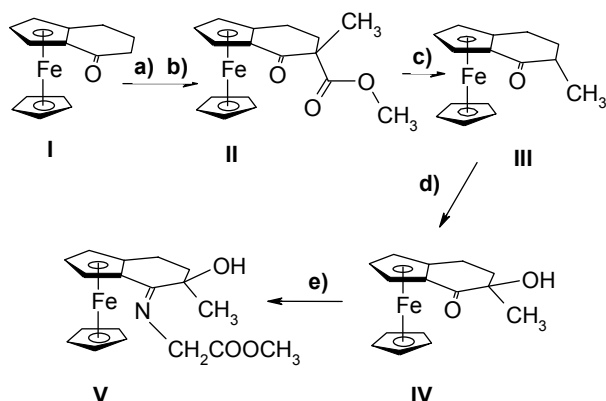


Schéma 1. a) 1/NaH, DMC, b) MeI, c) 8% aq. KOH, d) O₂, 50% NaOH, P(OMe)₃, TEBA, e) metyl glycinát, BF₃.Et₂O, benzén

Autori ďakujú Slovenskej grantovej agentúre za finančnú podporu grantu VEGA 1/0217/03.

LITERATURA

1. Yamada S., Oguri T., Shioiri T.: J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1976, 136.
2. Bajgrowicz J.A., Cossec B., Pigier Ch., Jacquier R., Viallefont P.: Tetrahedron Lett. 24, 3721 (1983).
3. Solladié – Cavallo A., Simon M. C., Schwarz J.: Organometallics 12, 3743 (1993).
4. Schlögl K., Fried M., Falk H.: Monatsh. Chem. 95, 558 (1964).

UPLATNĚNÍ 3,7-ANHYDRO-2-DEOXYOKTOS V SYNTÉZE OLIGOPYRROLOVÝCH MAKROCYKLŮ

PETR ŠTĚPÁNEK^a, LADISLAV KNIEŽO^b a PAVEL DRAŠAR^{a,b}

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10, ^bÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28, Praha 6 petr.stepanek@centrum.cz

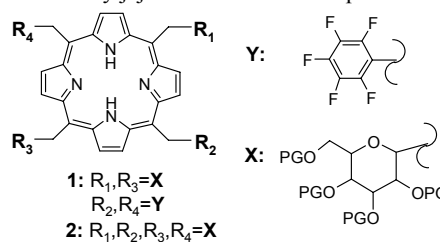
Sloučeniny, ve kterých je aktivní chromofor spojen s vektorem na bázi peptidu, oligonukleotidu nebo sacharidu¹, jsou předmětem intenzivního výzkumu. Použití chirálního polyhydroxylovaného vektoru, v tomto případě sacharidu, předurčuje tyto supramolekulární syntony jako prostředky pro molekulární rozpoznávání v polárním (vodném, biologickém, atd.) prostředí²⁻³. Podobné látky byly již testovány jako fotosenzibilizátory pro fotodynamickou terapii a byly potvrzeny jejich interakce s DNA a nukleotidy⁴.

Tématem prezentované práce je konstrukce konjugátů typu sacharid-oligopyrrol, kde je cukerná část připojena k makrocyklu pomocí robustní kovalentní vazby C-C. Na rozdíl od klasické O-glykosidické vazby jsou použité

„C-glykosidy“ odolné vůči hydrolytickému, potažmo enzymovému štěpení.

Syntetická část projektu je zaměřena především na syntézu meso-C-„glykosylovaných“ porfyrinů. Pro jejich syntézu byly použity dvě základní strategie. První, vedoucí k oligopyrrolu 1, je založena na postupné výstavbě z bipyrrolových prekurzorů, zatímco druhá, vedoucí k porfyrinovému typu 2, vycházela z přímé cyklizace 3,7-anhydro-2-deoxy-oktos s pyrrolem.

Byla připravena a charakterizována serie nových látek a dále bylo testováno jejich vlastnosti a další použití.



Tato práce byla podporována MŠMT projekt č. 223300006 (LK), COST D-31 IP04OCD31.001 (PD) a částečně projektem Z4 055 905 (PS).

LITERATURA

1. Mikata Y., Ouchi Y., Tabata K., Ogura S.-I., Okura I., Ono H., Yano S.: Tetrahedron Lett. 8, 3007 (1998).
2. Dukh M., Šaman D., Lang K., Pouzar V., Černý I., Drašar P., Král V.: Org. Biomol. Chem. 1, 3458 (2003).
3. Dukh M., Drašar P., Černý I., Pouzar V., Shriver J. A., Král V., Sessler J. L.: Supramolecular Chem. 14, 237 (2002).
4. Sirish M., Schneider H.-J.: Chem. Commun. 2000, 23.

ODHAD RIZIKA EXPOZICE SMĚSÍM CHEMIKÁLIÍ, IDENTIFIKACE NEBEZPEČNOSTI A ROZDĚLOVACÍ KOEFICIENTY

MILON TICHÝ^a, VIKTOR MEJSTRÍK^b, IVETA HANZLÍKOVÁ^a, MARIÁN RUCKI^a, ZDENĚK ROTH^a, LADISLAV FELTL^c

^aStátní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 10042 Praha 1; ^bCentrum ekologie, toxikologie a analytiky Výzkumného ústavu organických syntéz as., Rybitví 296, 53218 Pardubice 20; ^cKatedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta UK, Albertov 2030, Praha 2. viktor.mejstrik@vuos.cz; mtichy@szu.cz

První krok při odhadu rizik expozice chemikáliím je identifikace hazardu – odhad nebezpečnosti (toxicity). U směsi látek je to prováděno za předpokladu aditivity jejich účinností, tj. úměrně zastoupení chemikálie ve směsi jsou v celkové toxické účinnosti směsi sčítány odpovídající díly. Ve studiích s binárními směsmi jsme u indexu akutní toxicity (EC50 *Tubifex tubifex*) prokázali, že předpokladem aditivity může být odhad nebezpečnosti až o tři řády chybný¹. Tuto problematiku jsme studovali technikami analýzy QSAR² v rozsahu molárního zlomku 0 - 1. U směsi benzenu s ethanolom byla nalezena inhibice, benzenu s anilinem potenciace, jen u směsi

benzenu s nitrobenzenem aditivita. Další chyba může být způsobena tím, že vzájemné ovlivnění látek při účinku někdy závisí na poměru látek ve směsi (charakterizováno molárním zlomkem): podle toho může nastat inhibice i potenciace, nebo se v úzké části hodnot molárního zlomku může vedle aditivity objevit výrazná ne-aditivita. Nálezy budou presentovány. Tyto studie se mohly uskutečnit díky stanovení indexu akutní toxicity rychlým laboratorním testem na oligochaete *Tubifex tubifex* (nitěnky) testu, jehož validace probíhá³. Index měřený s nitěnkami těsně koreluje v sériích látek i s LD₅₀ stanovenou na potkanech nebo na dalších testovaných objektech⁴. Pokud se projeví interakce mezi účinky chemikálií na indexu měřeném na nitěnkách, projeví se i na LD₅₀ stanoveném na potkanech. Je hledána fyzikálně-chemická vlastnost, která by se chovala podobně. Vhodné se zdají opět rozdělovací koeficienty jako pro individuální chemické sloučeniny. Příklady budou ukázány na rozdělovacích koeficientech látek, jsou-li v binární směsi, mezi vodný roztok a vzduch⁵ a mezi oktanol a vodu.

Práce byly podpořeny granty GA ČR 305/03/1169, 203/00/1619, IGA MZ ČR NJ/7435-3 a MŽP ČR VaV/340/2/01.

LITERATURA

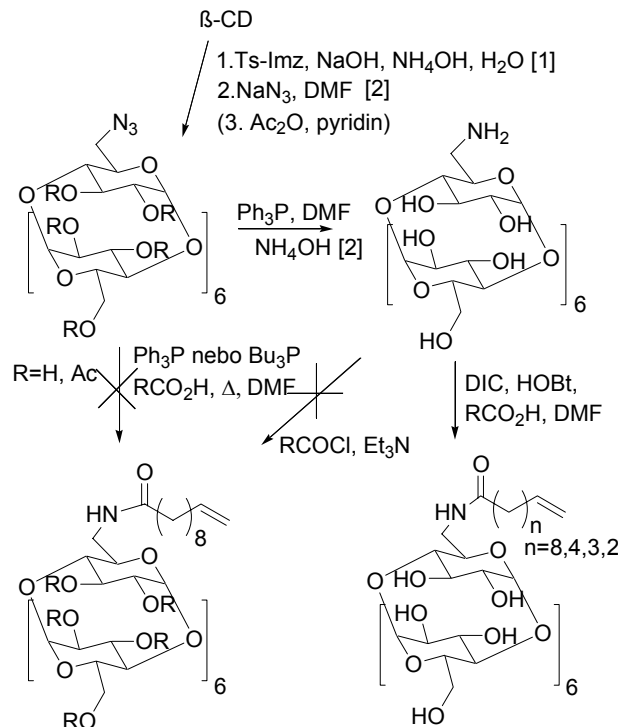
1. Tichý M., Bořek-Dohalský V., Rucki M., Reitmajer J., Feltl L.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 75 (Suppl.), S133 (2002).
2. Tichý M., Cířt M., Roth Z., Rucki M.: *SAR QSAR Environ. Res.* 9, 155 (1998).
3. Tichý M., Rucki M.: *Pracov. Léč.* 48, 225 (1996).
4. Tichý M., Bořek-Dohalský V., Rucki M.: v knize *Progress in reduction, refinement and replacement of animal experimentation* (Balls M., van Zeller A.-M., Halder M.E., red.), Elsevier BV 513 (2000).
4. Reitmajer J., Feltl L., Roth Z., Tichý M.: *Chem. Listy*, zasláno do tisku (2004).

SYNÉZA 6¹-ALKENOYLAMINO-6¹-DEOXY DERIVÁTŮ β -CYKLODEXTRINU JAKO MODIFIKÁTORŮ SENZORICKÉ ODEZVY PORÉZNÍHO KŘEMÍKU

TOMÁŠ TROJAN a **JINDŘICH JINDŘICH**

*Katedra organické a jaderné chemie, PrF UK Praha, Hlavova 8, 128 43, Praha 2
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 selektivnímu komplexačnímu 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 schema.



Projekt je podporován granty GAUK 424/2004/B-CH/PrF, MŠM 113100001.

LITERATURA

1. Brady B., Lynam N., O'Sullivan T., Ahern C., Darcy R.: *Org. Synth.* 77, 220 (2000).
2. Baugh S. D. P., Yang Z., Leung D. K., Wilson D. M., Breslow R.: *J. Am. Chem. Soc.* 123, 12488 (2001).
3. Lee W.-S., Ueno A.: *Macromol. Rapid Commun.* 22, 448 (2001).

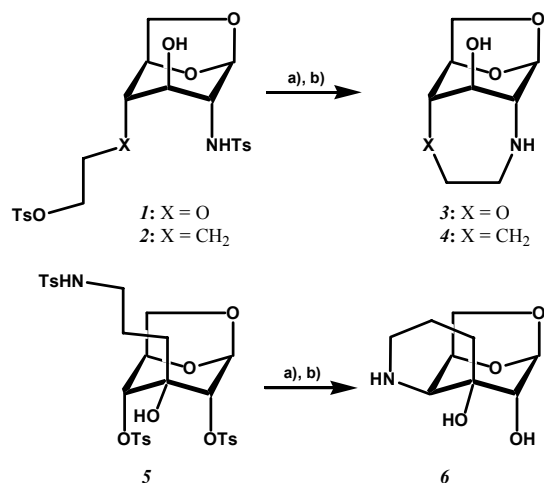
HETEROCYKICKÉ MODIFIKACE NĚKTERÝCH AMINO-1,6-ANHYDRO-DEOXY- β -D-HEXOPYRANOS

TOMÁŠ TRTEK^a, **MILOSLAV ČERNÝ^a**,
MILOŠ BUDĚŠÍNSKÝ^b, **TOMÁŠ TRNKA^a** a
IVANA CÍSAŘOVÁ^c

*^aKatedra organické chemie, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 120 00 Praha 2
^bÚstav organické chemie a biochemie, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6;
^cKatedra anorganické chemie, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 120 00 Praha 2
tomastrtek@email.cz; mila@natur.cuni.cz;
trnka@natur.cuni.cz; budesinsky@uochb.cas.cz;
cisarova@natur.cuni.cz*

Mnoho přírodních glykokonjugátů včetně aminoglykosidových antibiotik obsahuje vedle méně obvyklých aminosacharidů i 2-amino-2-deoxy-D-glukopyranosu. Její modifikace mohou interagovat s ribosomální RNA bakterií¹ nebo zasahovat do biosyntézy glykokonjugátů.

Připravili jsme nová analoga 2-amino-2-deoxy-D-glukopyranosy (**3**, **4**) obsahující oxazepanový a azepanový kruh. Prekursory **1**, **2** byly připraveny z 1,6-anhydro- β -D-glukopyranosy v osmi krocích. Jejich paralelní cyklizace následovaná *N*-detosylací poskytla látky **3** a **4**. Pokusy o kyselou hydrolýzu a acetolýzu 1,6-anhydro vazby byly neúspěšné a nebylo tak zatím dosaženo kompletního odchránění. Stejný sled reakcí byl použit při přípravě derivátu 4-amino-4-deoxy-D-gulopyranosy (**6**) ze sloučeniny **5**.



Schema 1: a) K₂CO₃, DMF; b) naftalenid sodný, DME.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného projektu MSM 1131 00001.

LITERATURA

- Rosenbohm C., Berghe D.V., Vlietinck A., Wengel J.: *Tetrahedron* 57, 6277 (2001).

KATALYTICKÁ DEALLYLACE ALLYLMALONÁTŮ

DAVID NEČAS^a, MATYÁŠ TURSKÝ^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

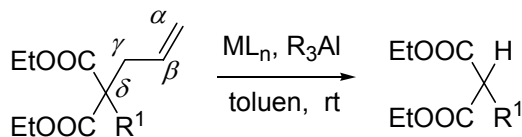
^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6
katora@natur.cuni.cz; tursky@natur.cuni.cz

Alkeny podléhají řadě reakcí vyvolaných komplexy přechodných kovů. Stechiometrickým či katalytickým množstvím komplexů je možné provést např. cykloisomerace¹, polymerace² nebo cykloadice³. V prvním kroku obvykle vzniká organokovová sloučenina s vazbou uhlík-kov, která se dále může účastnit tvorby jedné či více nových vazeb uhlík-uhlík. Alternativně může dojít i ke štěpení sousedních C-C vazeb. Tento jev byl však zatím znám převážně jen u prutých cyklických systémů⁴ a v alicyklické řadě se vyskytuje spíše výjimečně⁵.

Při studiu katalytických cyklizací některých 2-chlor- α,ω -dienů jsme zjistili, že za určitých podmínek nedochází k cyklizaci na deriváty cyklopentanu, nýbrž k přerušení C-C

vazby v poloze γ,δ a tím ztrátě allylového fragmentu⁶. Podrobným studiem bylo zjištěno, že ke ztrátě allylového fragmentu dochází u celé řady sloučenin, které na δ -uhlíku nesou elektronakceptorovou skupinu⁷.

Bude diskutován vliv substituce dienu a použitého komplexu přechodného kovu na průběh reakce, předpokládáný reakční mechanismus a její další syntetické využití.



Práce byla podpořena grantem FRVŠ č.2800.

LITERATURA

- Grigg R., Malone J.F., Mitchell T.R.B., Ramasubbu A., Scott R.M.: *J.Chem. Soc. Perkin Trans. I* 1980, 1745.
- Chen E.Y.X., Marks T.J.: *Chem. Rev.* 100, 1391 (2000).
- Ohara H.: *Chem. Lett.* 2001, 624.
- Bishop K.C. III.: *Chem. Rev.* 76, 461 (1976).
- Yamazaki T., Kasatkin A., Kawanaka Y., Sato F.: *J. Org. Chem.* 61, 2266 (1996).
- Nečas D., Kotora M., Císařová I.: *Eur. J. Org. Chem.* 126,1280 (2004).
- Nečas D., Turský M., Kotora M.: *J. Am. Chem. Soc.* 126, 10222 (2004).

KONFORMAČNÍ ANALÝZA KARBAANALOGŮ DISACHARIDŮ S VYUŽITÍM MM3 A PM3 METOD

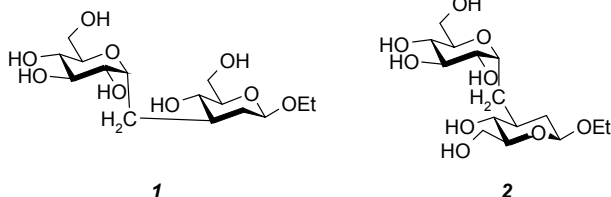
ŠTĚPÁN VALENTA, IVAN RAICH
a LADISLAV KNIEŽO

Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha, valentas@vscht.cz

Karbaanaloga disacharidů jsou významnou skupinou látek, odvozených od disacharidů nahrazením glykosidického kyslíku methylenovou skupinou. Tato záměna má za následek změnu reaktivity karbaanalogů při biologických dějích, kterých se za normálních podmínek účastní disacharidy, a využívá se jí například při terapii různých chorob nebo enzymových studiích.

Při studiu prostorového uspořádání karbaanalogů **1** a **2** a odpovídajících *O*-glykosidů bylo provedeno systematické mapování konformačního prostoru. S využitím silového pole MM3(96)¹ byly na úrovni molekulové mechaniky provedeny geometrické optimalizace serií více než 100 000 vstupních konformací pro všechny studované látky. Výpočty byly provedeny s konstantní a také „distance dependent“ dielektrickou konstantou. Alternativně bylo zjednodušené systematické mapování provedeno i na PM3 úrovni, při kterém byla využita částečná symetrie studovaných látek. Byl studován i vliv rozpouštědla na geometrii zkoumaných molekul. Rozpouštědlo bylo simulováno solvatačním modelem CPCM, opět na PM3 úrovni. Všechny semiempirické výpočty byly provedeny v programu Gaussian03W (cit. ²).

Výsledky byly zpracovány do podoby energetických konturových map v závislosti na glykosidických torzích Φ a Ψ a byly rovněž porovnány s experimentálními NMR daty.



Práce byla provedena v rámci řešení výzkumného záměru MŠMT č. 223300006.

LITERATURA

- Allinger N. L., Yuh Y. H., Lii J. H.: J. Am. Chem. Soc. 111, 8551 (1989).
- Frisch M. J. et al, Gaussian 03W, Rev. B03, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.

LIPIDICKÉ SLOŽKY FEROMONŮ ČMELÁKŮ A JEJICH BIOSYNTÉZA

IRENA VALTEROVÁ^a, ANNA LUXOVÁ^{a,b}, PAVEL JIROŠ^{a,b} a ALEŠ SVATOŠ^{a,c}

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha; ^bÚstav chemie přírodních látek, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha; ^cMax Planck Institute for Chemical Ecology, Winzlaer Str., Jena, Germany
irena@uochb.cas.cz; svatos@ice.mpg.de;
luxova@uochb.cas.cz

Samčí značkovací feromony jsou produkovány labiální žlázou a uplatňují se v předkopulační fázi vývoje kolonie čmeláků¹. Biosyntetické cesty vedoucí k jejich vzniku byly studovány pomocí série *in vitro* a *in vivo* experimentů. Preparované žlázy druhu *Bombus lucorum* byly inkubovány *in vitro* s deuteriem značenými mastnými kyselinami o délce řetězce 12–18 a dále s d₅-ethanolem a d₄-methanolem. Ve všech případech se tvořily estery. Ethylestery a v menší míře i methylestery vznikaly z deuteriem substituovaných mastných kyselin. Při inkubaci ekvimolární směsi kyselin C₁₂–C₁₈ byla pozorována preference pro tvorbu esterů s kratším kyselinovým řetězcem (12, 14). Při *in vitro* inkubacích jsme nenalezli žádné nenasycené metabolity, přestože hlavní složkou feromonu je ethyl-tetradec-9-enoát a desaturace by se dala očekávat. To byl hlavní rozdíl mezi experimenty *in vitro* a *in vivo*, při nichž nenasycené metabolity vznikaly ve velkém množství².

Inkubace žlázy z deuteriem substituovaným ethanolem a methanolem vedla ke vzniku směsi příslušných esterů mastných kyselin. Analýza homogenizované tkáně labiální žlázy prokázala obsah velkého množství volných mastných kyselin, které byly ve tkáni přítomny zhruba ve stejném poměru, v jakém jsou jejich ethylestery obsaženy ve feromonu. Předpokládáme, že kyseliny jsou uloženy v labiální žláze a v případě potřeby se z nich tvoří estery za katalýzy esterázou. Zdá se, že poměr esterů ve feromonu není dán

selektivitou této esterázy, ale dostupností prekurzorů, tj. mastných kyselin. Zda jsou tyto kyseliny transportovány do žlázy ze zásobních tuků či syntetizovány *de novo* nelze z dosavadních pokusů zatím rozhodnout.

Práce byla provedena za podpory Grantové agentury České republiky (grant č. 203/02/0158) a výzkumného záměru č. Z4 055 905.

LITERATURA

- Kullenberg B., Bergström G., Ställberg-Stenhagen S.: Acta Chem. Scand. 24, 1481 (1970).
- Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O., Svatoš A.: Chemoecology 13, 81 (2003).

PREPARATION OF STRUCTURAL ELEMENTS OF THE CAPSULAR POLYSACCHARIDES

JAN VESELY^a, STEFAN OSCARSON^b, MIA ALPE^b and TOMÁŠ TRNKA^a

^aDepartment of Organic Chemistry, Charles University, Albertov 2030, 128 40 Praha 2; ^bDepartment of Organic Chemistry, Arrhenius Laboratory, Stockholm University, S- 106 91 Stockholm, Sweden
s.oscarson@organ.su.se; jxvesely@prfdec.natur.cuni.cz

Cryptococcus neoformans, an opportunistic fungal pathogen, causes severe diseases, including meningitis, and death, especially in immunodeficient patients^{1,2}. *C. neoformans* is classified into the four different serogroups A, B, C and D on the basis of the structure of the capsular polysaccharide (CPS). Typically, these structures consist of a linear (1→3)-linked α -D-mannopyranosyl backbone substituted with β -D-xylopyranosyl, β -D-glucopyranosyluronic acid and 6-O-acetyl moieties.

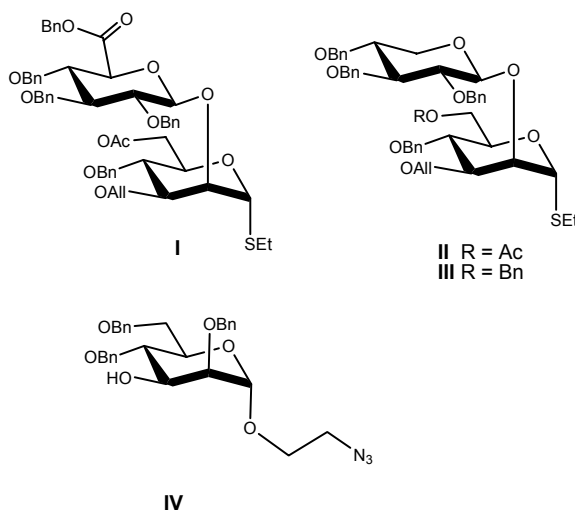


Fig 1.

The glucuronic acid residue is always attached *via* a β -(1→2) linkage to a mannosyl moiety in the backbone; whereas the xylose residues can be bound either through β -(1→2) or β -

(1→4) linkage. The 6-positions of mannosyl residues not carrying a glycosyl substituent at position 4 are acetylated in an uneven manner. Although little is known about this acetylation pattern, it is thought to be important to the biological activity of *C. neoformans*³.

An attractive synthetic pathway to various CPS structures would be to first build up mono- and disaccharide building blocks corresponding to the substituted mannose motives and then combine these through the formation of the internal α -(1→3) linkages of the mannan backbone. With four building blocks (Fig.1) all possible structures could then, at least theoretically, be constructed. The successful formation and subsequent assembly of some analogs of the basic core of CPS of *Cryptococcus neoformans* will be presented.

Supported by GAUK No. 244/2003, MSM No. 1131 0001.

REFERENCES

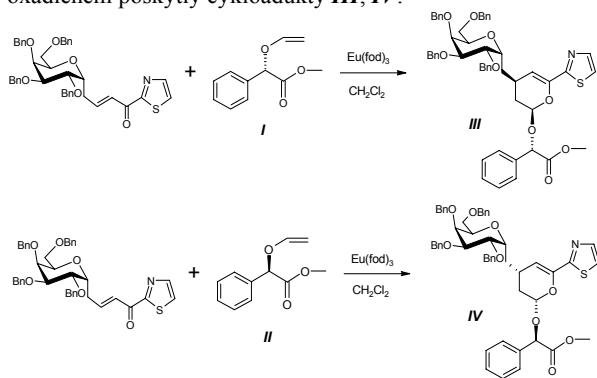
1. Varki A.: Glycobiology 3, 97 (1993).
2. Bhattacharjee A. K., Bennet J. E., Glaudemans C. P. J.: Rev. Infect. Dis. 6, 619 (1984).
3. Belay T., Cherniak R.: Infect. Immun. 63, 1810 (1995).

PŘÍPRAVA NOVÝCH TYPŮ ANALOG DISACHARIDŮ

ONDŘEJ VÍCH, PETR ŠTĚPÁNEK a LADISLAV KNIEŽO

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

Nedávno jsme publikovali přípravu (1→3)-C-disacharidů, kde v klíčovém kroku syntézy vznikaly dva diastereoizomerní cykloadukty¹. V tomto příspěvku uvádíme postup, pomocí kterého lze připravit stereoselektivně jednotlivé stereoizomery. Pro tento účel byly použity chirální vinyl étery **I** a **II**², které po cykloadici s výchozím chráněným oxadienem poskytly cykloadukty **III**, **IV**.



Za účelem stanovení absolutní konfigurace u získaných diastereoizomerů **III**, **IV** jsme v cykloaduktu **III** hydrogenaci na palladiu současně zredukovali dvojnou vazbu a odstranili benzylové chránící skupiny. X-ray analýza krystalického produktu umožnila přiřadit konfiguraci na nově vzniklých stereocentrech látky **III**. V dalších krocích jsme se

pokusili o transformaci získaných cykloaduktů na cílové C-disacharidy.

Tato metoda umožňuje stereoselektivní přípravu (1→3)-C-disacharidů, kde se jako výchozí látky dají použít různé vhodně chráněné monosacharidy.

Práce byla provedena v rámci řešení výzkumného záměru MŠMT č. 223300006.

LITERATURA

1. Štěpánek P., Vích O., Kniežo L., Dvořáková H., Vojtíšek P.: Tetrahedron: Asymmetry 15, 1033 (2004).
2. Dujardin G., Rossignol S., Brown E.: Synthesis 1998, 763.

ANTIMYKOBAKTERIÁLNĚ AKTIVNÍ 5,7-DI-*terc*-BUTYLBENZOXAZOLY

JARMLA VINŠOVÁ, K. ČERMÁKOVÁ

Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
vinsova@faf.cuni.cz

Benzoxazolové deriváty bývají v literatuře považovány za strukturální izostery přírodně se vyskytujících nukleových bází adeninu a guaninu, což jim dovoluje snadno interagovat s biopolymery živých systémů. Jsou studovány především pro své antimikrobiální, antifungální, antivirotické a protinádorové aktivity, též jako insekticidy, herbicidy, anthelmintika, dále jako antagonisté histaminových receptorů a fluorescenční barviva¹.

Při studiu reaktivity 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinonu s aminokyselinami byla připravena řada derivátů 5,7-di-*terc*-butylbenzoxazolů substituovaných v poloze 2 zbytkem aminokyseliny. Jejich zjištěná antimykobakteriální aktivita dala podnět pro přípravu série těchto derivátů substituovaných v poloze 2 aromátem, u něhož byly obměňovány substituenty na základě Toplissova schématu. Z dalších substituentů byly vybrány některé aromatické heterocykly. Výchozí 4,6-di-*terc*-butyl-2-aminofenol byl připraven několika postupy, z nichž optimální se zdá být reakce 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinonu s amoniakem s následnou redukcí chinoniminu hydridem sodnaboritým. Tato reakce nevede k tetra-*terc*-butyl-fenoxazinovým vedlejším produktům, které vznikají při redukcí 4,6-di-*terc*-butyl-2-nitrofenolu a zneprůjemňují izolace a čištění finálních látek. 5,7-Di-*terc*-butylbenzoxazolové deriváty byly připraveny reakcí 4,6-di-*terc*-butyl-2-aminofenolu s odpovídajícím aldehydem a následnou cyklizací příslušné Schiffovy báze.

Antibakteriální aktivita byla stanovena v National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), v rámci vyhledávacího programu TAACF (USA) vůči *Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv*. U několika derivátů byla nalezena 90 - 100% aktivita. Tyto benzoxazoly postoupily do dalšího stupně testování.

Práce vznikla za finanční podpory grantu IGA MZ 1A/8238-3.

LITERATURA

1. Vinšová J.: Ces. Slov. Farm. 52, 282 (2003).

A REGIOSPECIFIC ROUTE TO C-D-GALACTOFURANSYLIC ONE-CARBON SYNTHONS. SYNTHESIS OF 2-C-GLYCOSYLBENZIMIDAZOLS

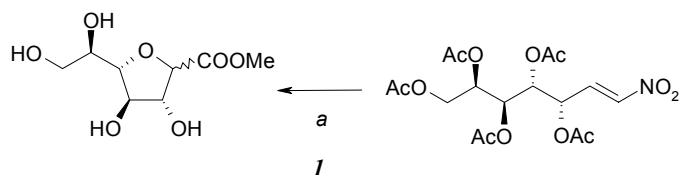
MICHAL VOJTECH, M. PETRUŠOVÁ, and L. PETRUŠ

*Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, SK-84538 Bratislava, Slovakia
chemmvot@savba.sk*

D-Galactofuranose is one of the sugar units that are essential for the production of the glycans found in the cell walls of many pathogenic microorganisms causing mycobacterial infections such as leprosy and tuberculosis^{1,2}. Thus, the compounds that mimic D-galactofuranose and interfere with the biosynthetic enzymes that produce and utilise this sugar in its furanoic form may represent a novel therapeutic strategy for the treatment of these mycobacterial infections.

An array of C-D-galactofuranosyl compounds that originate in 2,5-anhydro-3,4,6,7-tetra-O-benzoyl-D-glycero-L-manno-heptononitrile (β -D-galactofuranosylcyanide) and target at the aforementioned applications has been described recently³. This contribution suggests an alternative approach and is based on a recently described, regiospecific 2,5-anhydring-closure of the *in situ* generated 1,2-dideoxy-1-nitroald-1-enitols that are consecutively transformed by a Nef related reaction to stable C-furanosyl compounds⁴.

Thus, 1,2-dideoxy-1-nitro-D-galacto-hept-1-enitol peracetate (**I**), on treatment with methanolic hydrogen chloride and dependent on the acid concentration, gives either an "anomeric" mixture of methyl D-galactofuranosylmethanates (*a*) or that of D-galactofuranosylmethanal dimethyl acetals (*b*).



Starting from the corresponding glycosylmethanal dimethyl acetals, the contribution describes also a new method of the synthesis of 2-C-glycosylbenzimidazoles with α -D-galactofuranosyl, β -D-galactofuranosyl, β -D-glucopyranosyl, β -D-galactopyranosyl, β -D-mannopyranosyl, and α -D-arabino-pyranosyl configurations.

The work was supported by the APVT-51-039802 and VEGA-7144/00 grants.

REFERENCES

- Brennan P. J., Nikaido H.: *Ann. Rev. Biochem.* 64, 29 (1995).
- Brennen P. J., Besra G. S.: *Biochem. Soc. Trans.* 25, 188 (1997).
- Owen D. J., Thomson R. J., von Itzstein M.: *Carbohydr. Res.* 337, 2017 (2002).
- Petruš L., Petrušová M., Pham-Huu D.-P., Lattová E., Pribulová B., Turjan J.: *Monatsh. Chem.* 133, 383 (2002).

POLYPYRROLE-FUNCTIONALIZED POROUS SILICON – NOVEL MATERIAL FOR DETECTION OF ORGANIC ANALYTES IN GAS PHASE

VLADIMÍR VRKOSLAV^a, IVAN JELÍNEK^a,
GABRIELA BRONCOVÁ^b, HANA BŘEZNOVÁ^b,
VLADIMÍR KRÁL^b a JURAJ DIAN^c

^aCharles University Prague, Department of Analytical Chemistry, Hlavova 2030, CZ-128 40 Prague, ^bInstitute of Chemical Technology, Technická 5, CZ-166 28 Prague, ^cCharles University Prague, Department of Chemical Physics and Optics, Ke Karlovu 3, CZ-121 16 Prague

Electrodeposition of polymer film on porous silicon surface enabled to improve its photoluminescence properties for sensor applications¹. Polypyrrole has been electrodeposited on porous silicon from 0.1 M pyrrole solution in 0.05 M tetrabutylammonium perchlorate/acetonitrile supporting electrolyte. The growth of polypyrrole layer on porous silicon surface is evident from voltammograms in Fig. 1.

We observed change of photoluminescence quenching response and operational stability enhancement from polypyrrole impregnated porous silicon samples as compared to standard porous silicon. From concentration dependence of photoluminescence quenching response to various amounts of linear alcohols in gas phase we determined change of sensor response sensitivity due to polypyrrole functionalization; from long-term evolution of porous silicon photoluminescence intensity we evaluated operational stability of sensor elements.

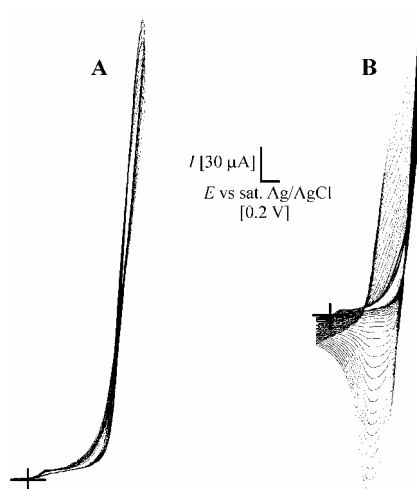


Figure 1. Voltammogram in supporting electrolyte (A) without pyrrole and (B) with added 0.05 M pyrrole; scan -0.2 – 1.2 V (100 mV/s), overall time of electrolysis $t=30$ min.

We thank the Grant Agency of Czech Republic (203/03/0900) and the Grant Agency of Charles University (424/2004/B-CH/PfF) for financial support.

REFERENCES

- Moreno J.D., Marcos M.L., Agulló-Rueda F., Guerrero-Lemus R., Martín-Palma R.J., Martínez-Duart J.M., González-Velasco J.: *Thin Solid Films* 348, 152 (1999).

SURFACE MODIFIED POROUS SILICON SENSOR – SELECTIVITY AND STABILITY ENHANCEMENT OF LUMINESCENCE QUENCHING RESPONSE

VLADIMÍR VRKOSLAV^a, IVAN JELÍNEK^a and JURAJ DIAN^b

^aCharles University Prague, Department of Analytical Chemistry, Hlavova 2030, CZ-128 40 Prague, ^bCharles University Prague, Department of Chemical Physics and Optics, Ke Karlovu 3, CZ-121 16 Prague
dian@karlov.mff.cuni.cz

Photoluminescence quenching of porous silicon in presence of chemical species was used for sensing of organic analytes¹. Sensor response of standard (as-prepared), oxidized and methyl 10-undecenoate derivatized porous silicon by hydrosilylation reaction² was studied in the presence of linear alcohols in gas phase.

We measured photoluminescence quenching responses for a homological set of linear alcohols from methanol to 1-hexanol as a function of analyte concentration in gas phase. We observed nearly monotonic increase of quenching sensitivity (slope of linear part of concentration dependence of relative photoluminescence quenching) with the length of alcohol chain for standard porous silicon³. For oxidized and methyl 10-undecenoate derivatized porous silicon photoluminescence quenching change was anomalously low for lower alcohols. The change of quenching response was found to scale with polarity strength of the detected analyte. Change of quenching response was expressed by a sensitivity of surface modified porous silicon related to sensitivity of standard porous silicon – discrimination ratio, polarity strength was quantified by means of empirical polarity parameters – Snyder polarity index⁴ and logarithm of partition coefficient in the system analyte/n-octanol⁵.

The dominant mechanism responsible for the modified sensor response of oxidized and methyl 10-undecenoate derivatized porous silicon is attributed to polar interaction between alcohol groups of detected analytes and Si=O groups of oxidized and C=O groups of methyl 10-undecenoate molecules at porous silicon surface. Oxidized and methyl 10-undecenoate derivatized porous silicon samples revealed enhanced operational stability as compared to standard porous silicon.

We thank the Grant Agency of Czech Republic (203/03/0900) and the Grant Agency of Charles University (424/2004/B-CH/PřF) for financial support.

REFERENCES

1. Lauerhaas J.M., Credo G.M., Heinrich J.L., Sailor M.J.: J. Am. Chem. Soc. 114, 1911 (1992).
2. Buriak J.M.: Chem. Commun. 1999, 1051.
3. Chvojka, T., Vrkoslav, V., Jelínek, I., Jindřich J., Lorenc M., Dian J.: Sens.&Actuators B 100, 246 (2004).
4. Snyder L.R., J. Chromatogr. A 92, 223 (1974).
5. Leo A., Hansch C., Elkins D.: Chem. Rev. 71, 525 (1971).

NOVÉ PŘÍSTUPY V SYNTÉZE IMINO-C-DISACHARIDŮ

LUKÁŠ WERNER a LADISLAV KNIEŽO

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 je při fyziologickém pH protonován. Vzniklý kation tak napodobuje tranzitní stav řady glykosylačních reakcí, jež se například podílejí na syntéze povrchových receptorů buněk. Polyhydroxylované piperidiny však *in vivo* ovlivňují širší spektrum enzymů, což je diskvalifikuje pro terapeutické využití. Modifikace těchto struktur vedoucí ke zvýšení selektivity inhibičních účinků by mohla vést k látkám využitelným v terapii řady chorob ovlivněným mechanismu komunikace buňka-buňka nebo buňka-patogen.

V příspěvku budou shrnuty výsledky získané při ověřování sekvence ze schematu I. Postup je založený na cross-aldolové reakci methylketonu **I** s azidotetrosoou **II**. Následnými transformacemi zahrnujícími redukci azidoskupiny a reduktivní aminaci cyklického iminu **III** se dostáváme k cílovým derivátům piperidinu **IV**.

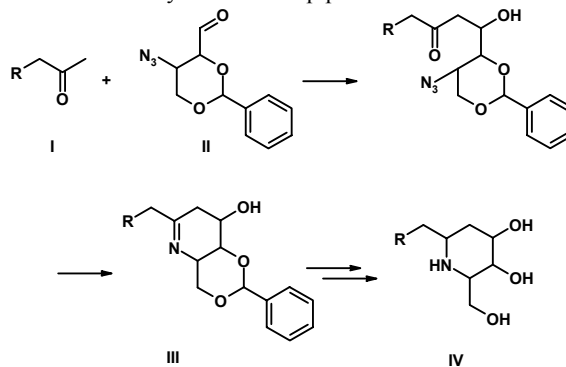


Schéma I

Tato práce byla podporována GAČR, v rámci grantu č.GA 203/03/0497.

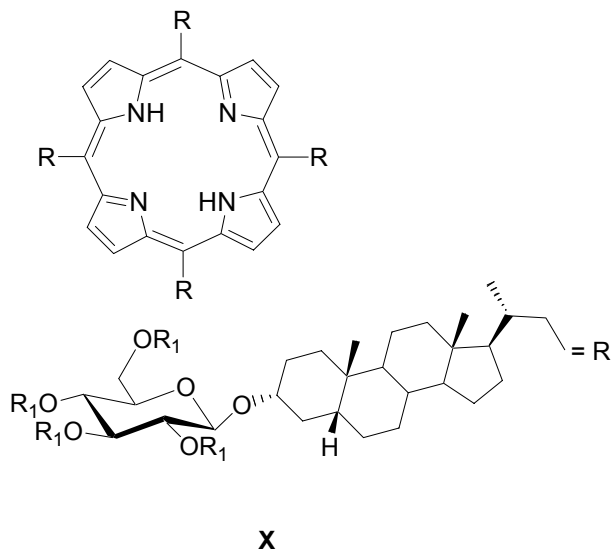
SYNTÉZA PORFYRINOVÝCH RECEPTORŮ SUBSTITUOVANÝCH GLYKOSYLOVANÝMI STEROIDY

KARL ZELENKA^a, TOMÁŠ TRNKA^a, PAVEL DRAŠAR^{b,c}

^aKatedra organické chemie, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2, ^bÚstav organické chemie a biochemie, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6, ^cVysoká škola chemicko-technologická, 166 28 Praha 6
zeli1@post.cz

Pro přípravu nového typu *meso*-substituovaných porfyrinů (**X**) byla vypracována¹ vhodná syntetická cesta. Tyto

supramolekuly a supramolekulární synthony jsou používány v elektrochemii², pro membránové, samoskladné a biologické studie. Autoři chtěli demonstrovat možnosti kombinace již známých receptorů se sacharidy, které mohou sloužit jako "polární kotvy", chirální selektory nebo modifikátory polarit (rozpuštěnosti), závisící na stupni jejich chránění/odchránění. V poslední době byly připraveny *meso*-substituované porfyriny¹ se zajímavými vlastnostmi^{3,4}.



Práce byla podporována projekty MSM 113100001 223300006 a COST D-31 č. 1P04OCD31.001.

LITERATURA

- Zelenka K., Trnka T., Tislerova I., Kral V., Dukh M., Drasar P.: Collect. Czech. Chem. Commun. 69, 1149 (2004).
- Dukh M., Černý I., Pouzar V., Král V., Barek J., Drašar P., in: *US-CZ Workshop on Electrochemical Sensors*, Abstract Book p. 5, Czech Chemical Society, Prague, 2001.
- Dukh M., Černý I., Urbanský M., Pouzar V., Král V., Drašar P.: Czech Pat. 290491, Czech Pat. Appl. 3098 (1999).
- Dukh M., Šaman D., Lang K., Pouzar V., Černý I., Drašar P., Král V.: Org. Biomol. Chem. 1, 3458 (2003).

VYSOCE ÚČINNÉ ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ SALICYLANILIDY

JOSEF MATYK, HANA DIVIŠOVÁ, PETRA HUSÁKOVÁ a KAREL WAISSER

Katedra anorganické a organické chemie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlové
matyk@faf.cuni.cz

V minulém roce jsme uveřejnili dvě studie o vztazích mezi strukturou a antimykobakteriální aktivitou salicylanilidů.¹ I když studované skupiny byly početné, z alkyků mezi

substitučními obměnami v poloze 4'-salicylanilidů obsahovaly pouze methyl. Předpokládali jsme, že vyšší alkyly budou zvyšovat antimykobakteriální aktivitu. Cílem práce byla příprava v acylové části halogenem substituovaných 4-alkylsalicylanilidů. Substituci halogenem v acylové části jsme zvolili proto, že nejvýrazněji zvyšovala aktivitu u dříve připravených látek. Výchozí látkou pro syntézu byly příslušné halogenované salicylové kyseliny, tj. 4-chlorsalicylová kyselina, 5-chlorsalicylová kyselina, 3,5-dibromsalicylová kyselina, a 5-bromsalicylová kyselina, a dále příslušné 4-alkylaniliny (4-pentylanilin, 4-hexylanilin, 4-heptylanilin, 4-oktylanilin a 4-*tert*-butylanilin). Syntézy nových salicylanilidů byly prováděny podobným způsobem jako v uvedeném citovaném sdělení. Připravené látky byly po ověření struktury odeslány na hodnocení antimykobakteriální aktivity. Ukázalo se, že náš předpoklad byl správný a jedná se o vysoce účinné antimykobakteriální látky.²

Práce je součástí výzkumného záměru MSM 111600001.

LITERATURA

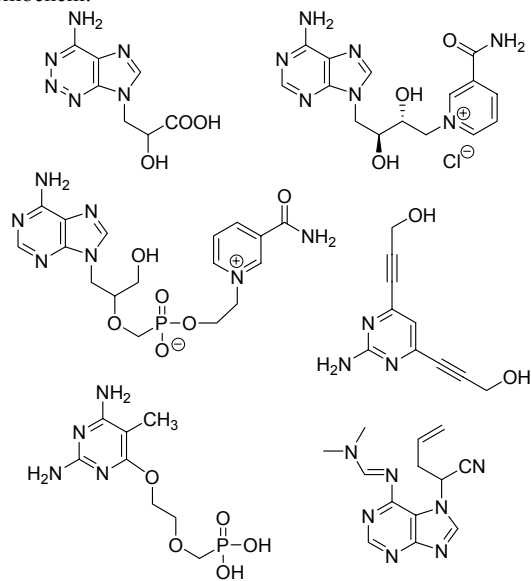
- Waisser K., Bureš O., Holý P., Kuneš J., Oswald R., Jirásková L., Pour M., Klimešová V., Kubicová L., Kaustová J.: Arch. Pharm. 336, 53 (2003).

ACYKICKÉ ANALOGY NUKLEOSIDŮ A NUKLEOTIDŮ – VZTAHY MEZI CHEMICKOU STRUKTUROU A BIOLOGICKOU AKTIVITOU

DANA HOCKOVÁ

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
lasice@uochb.cas.cz

Analogy nukleosidů a nukleotidů jsou stále intenzivně studovány v souvislosti s terapií virových a nádorových onemocnění.



Obr. 1. Příklady studovaných struktur

Syntetické antimetabolity musí být netoxické a splňovat také požadavky na stabilitu v cílovém systému. Tuto podmínku jsou schopny splnit acyklické analogy nukleosidů, neboť neobsahují labilní glykosidickou vazbu a jsou stále vůči chemické i enzymové degradaci. Jejich fosfonomethoxy deriváty (ANP) nemohou, na rozdíl od přirozených nukleosidů, podléhat defosforylaci. Další výhodou acyklických analogů je jejich flexibilita, která umožňuje těmto látkám zaujmout v přítomnosti enzymu nebo receptoru vhodný tvar.

Na příkladech některých našich projektů budou v přednášce ilustrovány možnosti strukturních obměn jak na heterocyklické bazi,¹⁻³ tak i na postranním řetězci⁴ a jejich vliv na biologickou aktivitu látek. Budou diskutovány také standardní metody přípravy purinových i pyrimidinových derivátů, "zkrácených" analogů NAD^{5,6} a acyklických analogů nukleosidů a nukleosidů^{7,8}.

LITERATURA

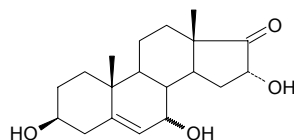
- Hocková D., Masojídková M., Buděšínský M., Holý A.: Collect. Czech. Chem. Commun. 60, 224 (1995).
- Hocek M., Hocková D., Dvořáková H.: Synthesis 2004, 889.
- Hocková D., Holý A., Masojídková M., Votruba I.: Tetrahedron 60, 4983 (2004).
- Hocková D., Buděšínský M., Marek R., Marek J., Holý A.: Eur. J. Org. Chem. 1999, 2675.
- Hocková D., Votavová H., Holý A.: Tetrahedron: Asymmetry 6, 2375 (1995).
- Hocková D., Masojídková M., Holý A.: Collect. Czech. Chem. Commun. 61, 1538 (1996).
- Hocková D., Holý A., Masojídková M., Andrei G., Snoeck R., De Clercq E., Balzarini J.: J. Med. Chem. 46, 5064 (2003).
- Hocková D., Holý A., Masojídková M., Andrei G., Snoeck R., De Clercq E., Balzarini J.: Bioorg. Med. Chem. 12, 3197 (2004).

STEREOSELEKTIVNÍ SYNTHESA OBOU ISOMERŮ 7-HYDROXYDERIVÁTU 16 α -HYDROXY-DHEA

VLADIMÍR POUZAR a IVAN ČERNÝ

UOCHB AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
pouzar@uochb.cas.cz.

Pro účely vyhledávání polyhydroxylovaných metabolitů DHEA (3 β -hydroxyandrost-5-en-17-onu) v biologickém materiálu bylo nutno připravit oba dosud nepopsané isomery 7-hydroxyderivátu 16 α -hydroxy-DHEA.



V, 7 α -OH
VI, 7 β -OH

Jako výchozí látka byl zvolen 17,17-dimethoxyandrost-5-en-3 β ,16 α -diol (I), snadno dostupný¹ ve dvou stupních z

16 α -brom-3 β -hydroxyandrost-5-en-17-onu. Hydroxylové skupiny byly chráněny acetylací a následnou allylovou oxidací² polohy 7 byl připraven 7-oxoderivát II. Jeho redukcí³ buď L-Selectridem^(R) nebo NaBH₄ za přítomnosti CeCl₃ byl získán odpovídající 7 α - nebo 7 β -hydroxyderivát III nebo IV.

Postupným odštěpením chránících skupin nejprve acetátů alkalickou hydrolyzou a následně acetalu v kyselém prostředí byly získány cílové 7 α - nebo 7 β -hydroxyderiváty V a VI (3 β ,7 α ,16 α - a 3 β ,7 β ,16 α -dihydroxyandrost-5-en-17-on). Jejich struktury ověřeny rozbořem ¹H a ¹³C NMR spekter.

Tato práce byla provedena v rámci výzkumného záměru Z4 055 905 a byla podpořena grantem GA ČR č. 203/03/0142.

LITERATURA

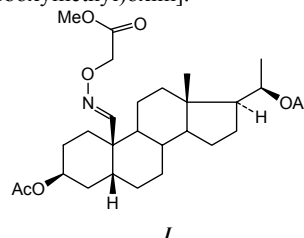
- Hassner A., Catsoulacos P.: J. Org. Chem. 31, 3149 (1966).
- Salmund W.G., Barta M.A., Havens J.L.: J. Org. Chem. 43, 2057 (1978).
- Marwah P., Thoden J.B., Powell D.R., Lardy H.A.: Steroids 61, 453 (1996).

NEOBVYKLÉ CHOVÁNÍ (O-KARBOXYMETHYL)OXIMOVÉ SKUPINY V POLOZE 19 U DERIVÁTŮ 5 β -PREGNANOVÉ ŘADY

IVAN ČERNÝ, KAREL UBIK, MILOŠ BUDĚŠÍNSKÝ a VLADIMÍR POUZAR

UOCHB AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
cerny@uochb.cas.cz.

Při přípravě haptenu odvozených od izomerů pregnanolonu bylo nutné najít způsob deacetylace mezi-produktu I, obsahujícího kromě (O-karboxymethyl)oximové skupiny (CMO) ještě další dvě acetátové chránící skupiny, lišící se reaktivitou [(19E)-19-oxo-5 β -pregnan-3 β ,20 β -diyl diacetát (O-karboxymethyl)oxim].

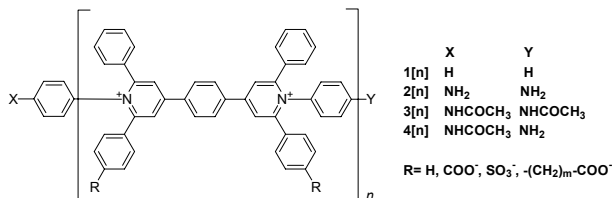


Byla zkoušena serie reakčních podmínek jak za použití basické, tak kyselé katalýzy. Působením methanolátu sodného v methanolu za chladu byl získán produkt, který neobsahoval CMO skupinu. Kombinací NMR, MS a IČ spektrálních metod bylo prokázáno, že jde o 19-nitril. Tato reakce nebyla dosud na steroidních derivátech, od kterých byly připravovány v naší laboratoři hapteny, pozorována. Zdá se, že nějakým způsobem souvisí s 5 β -anelací steroidního skeletu, neboť obdobné deriváty v 5 α -řadě či s dvojnou vazbou v poloze 5 reagují standardně a poskytují deacetylované produkty se zachovanou CMO skupinou.

Tato práce byla provedena v rámci výzkumného záměru Z4

Poslední desetiletí se zájem chemie ubírá k novým materiálům využitelným v molekulové elektronice. Námi připravené oligomery slouží jako konstrukční články v molekulárně elektronických obvodech, ve kterých dochází k přenosu negativního náboje (elektronů) pomocí oxidačně redukčních procesů.

Bude prezentována nová syntetická cesta k přípravě oligomerů pyridiniového typu ve kterých se pravidelně střídají 1,4-fenylenevé a 1,4-pyridiniové jednotky, která nevyžaduje separaci jednotlivých oligomerů. Tyto oligomery *p*-fenylen-bis-4,4'-(1-aryl-2,6-difenylypyridinia) mají struktury **1-4**. Monomery ($n=1$) byly připraveny z *p*-fenylen-bis-4,4'-(2,6-difenylypyrylia) **5**^{1,2} a *p*-fenylen-diaminu, *p*-aminoacetanilidu nebo anilinu. Vyšší oligomery ($n>1$, $R=H$) byly připraveny krokovým prodlužováním monomerů pomocí pyrylium-fenylen-pyridinia³. Dále bude představena metoda na přípravu různě substituovaných oligomerů v polohách 2,6 na pyridiniových jednotkách. Pro lepší rozpustnost byly též připraveny oligomery mající kovalentně vázané anionty v *para* polohách na fenylech ($R=SO_3^-$, COO^- , alkyl-A⁻). Bude také pojednáno o vlivu aniontů na rozpustnost oligomerů, spektroskopických studiích a DFT optimalizacích struktury³.



Tento projekt byl financován z grantů GAČR 203/01/0644 a 203/04/092.

LITERATURA

1. Dimroth K., Reichardt Ch.: Liebigs Ann. Chem. 93, 727 (1969).
2. Huang S.A.X., Chuang K. C.: Polymer 41, 5001, (2000).
3. Valášek M., Pecka J., Jindřich J., Michl J.: J. Org. Chem., přijato k tisku (2004).

IMOBILIZACE BETULININŮ NA MATRICE RŮZNÝCH TYPŮ

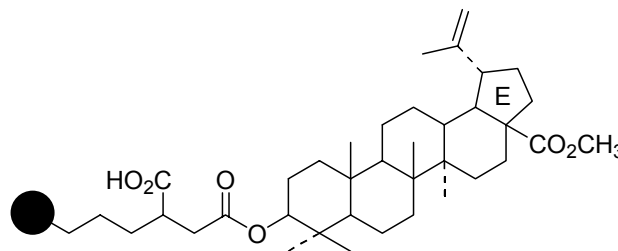
**L. MARKOVÁ^a, J. ŠÁREK^a, M. HAJDÚCH^b
a P. DŽUBÁK^b**

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

V nedávné době byly na našem pracovišti syntetizovány deriváty lupanu s významnými *in vitro* cytotoxickými účinky vůči široké škále nádorových linií¹, označované jako betulininy. Během dalšího výzkumu bylo zjištěno, že účinné sloučeniny způsobují vysoce selektivní a rychlou apoptózu nádorových buněk¹, avšak dosud zcela neznámým mechanismem. Pro jeho bližší studium na molekulární úrovni

bylo nezbytné imobilizovat betulininy na inertní matici². Připravené sorbenty jsou v současné době zkoumány afinitní chromatografií pro identifikaci cílových proteinů a následně mapování mechanismu účinku.

Pro syntézy byly použity jak silikagelové, tak polymerní matrice s různými reaktivními skupinami. Vzhledem k předpokladu, že aktivní centrum betulininů se pravděpodobně nachází v oblasti kruhu E, byla pro kapling účinných sloučenin na matrice využita volná 3β-OH skupina na kruhu A. Na obr. 1. je znázorněn příklad imobilizovaného lupanového derivátu na 3-(2-sukcinanhydrid)propyl modifikovaný silikagel. Stupeň pokrytí matrice triterpenem byl ve všech případech stanovován elementární analýzou.



Obr. 1.

Matrice, adsorbenty a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, kdežto veškeré zkoumání mechanismu účinku a afinitní chromatografie byly hrazeny z grantu GA ČR 301/03/1570.

LITERATURA

1. 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).
2. Srivastava G.K., Pathak A., Batra S., Raj K., Ksipra Singh, Puri S.K., Kundu B.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 12, 2803 (2002).

PŘÍPRAVA NETRADIČNÍCH ESTERŮ TRITERPENOIDNÍCH KYSELIN

**B. MARTINOVÁ^a, J. ŠÁREK^a, M. KVASNICA^a
a M. HAJDÚCH^b**

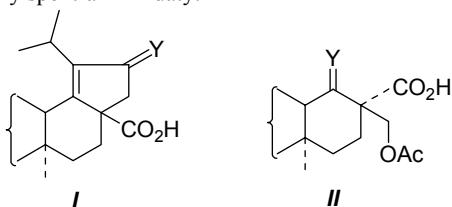
^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha 2; ^bLab. experimentální medicíny, Dětská a Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20, Olomouc jan.sarek@volny.cz

V nedávné době byly na našem pracovišti syntetizovány deriváty lupanu s významnými *in vitro* cytotoxickými účinky vůči široké škále nádorových linií, označované jako betulininy¹. Během dalšího výzkumu betulininů bylo zjištěno, že účinné sloučeniny nemají zcela výhodné farmakologické vlastnosti – zejména stabilitu a rozpustnost ve vodných médiích. Pro další *in vivo* testování bylo nezbytné vhodnou derivatizací² eliminovat tyto nežádoucí vlastnosti a

syntetizovat deriváty s optimálními vlastnostmi, které by navíc mohly sloužit i jako prodrug.

V rámci této práce byly připraveny estery několika cytotoxicky významných triterpenoidních kyselin (např. typ **I**, **II**)^{3, 4} s 4-(2-hydroxyethyl)-morfolinem, cholin hydrochloridem, methoxyethanolem, 2-(2-methoxyethoxy)ethan-1-olem nebo glukosou různými esterifikačními procedurami.

Připravené sloučeniny byly testovány na *in vitro* cytotoxickou aktivitu proti nádorové linii T-lymfoblastické leukémie CEM. Struktury všech připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.



Obr. 1. Y = kyslíkaté funkční skupiny

Chemikálie, adsorbenty a rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, laboratorní míchačky a HPLC kolony byly zakoupeny 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).
- Gewehr M., Kunz H.: *Synthesis* 1997, 1499.
- Urban M., Šarek J., Klinot J., Korinkova G., Hajdúch M.: *J. Nat. Prod.* 67, 1100 (2004).
- Fischer P. M., Sarek J., Blaney P. M., Collier P., Fergusson J. R.: *Medicament. PCT Int. Patent Appl. WO 03/045971*, 5 June 2003.

PŘÍPRAVA HETEROCYKlickÝCH DERIVÁTŮ BETULININŮ

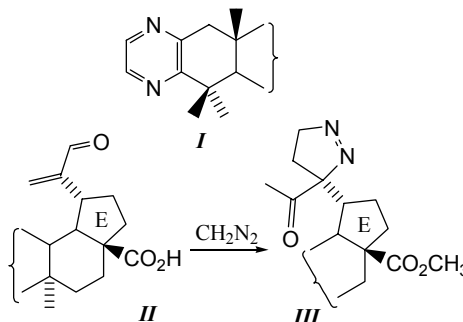
MILAN URBAN^a, JAN ŠAREK^a, JIŘÍ KLINOT^a, MARIÁN HAJDÚCH^b a PETR DŽUBÁK^b

^aKatedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; ^bLab. experimentální medicíny, Dětská a Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc. murban@natur.cuni.cz

V návaznosti na náš rozsáhlý výzkum cytotoxicity¹ derivátů lupanu a 18 α -oleananu bylo nalezeno několik dusíkatých terpenoidů (např. **I**), vykazujících vysokou cytotoxicitu na nádorové linii CEM (TCS₅₀ < 10 μ mol/l)², což podnítilo zájem o syntézu řady dusíkatých a heterocyklických terpenických analogů. Byly připraveny³ výchozí sloučeniny (např. **II**) a jejich reakcí s diazomethanem, thiomocovinou, močovinou, formamidem, acetamidem, guanidinem, hydrazinem, ethylendiaminem, *o*-fenyldiaminem a hydroxyl-

aminem vzniklo několik řad heterocyklických derivátů (např. **III**).

Připravené sloučeniny byly testovány na *in vitro* cytotoxickou aktivitu vůči nádorové linii T-lymfoblastické leukémie CEM. Nejaktivnější deriváty jsou v současnosti testovány na sérii dalších nádorových linií. Struktura všech nových sloučenin byla potvrzena spektrálními daty.



Obrázek 1. **I** derivát 18 α -oleananu; **II**–**III** deriváty lupanu.

HPLC kolony a adsorbenty byly financovány z grantu MPO FT-TA/027, chemikálie, rozpouštědla byly financovány z grantu GA ČR 203/03D/152, kdežto veškeré 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).
- Urban M., Šarek J., Klinot J., Tišlerová I.: *Chem. Listy* 95, 771 (2001).
- Urban M., Šarek J., Klinot J., Korinkova G., Hajdúch M.: *J. Nat. Prod.* 67, 1100 (2004).

PŘÍPRAVA FLUOROVANÝCH DERIVÁTŮ BIOLOGICKY VÝZNAMNÝCH IMIDAZOLŮ

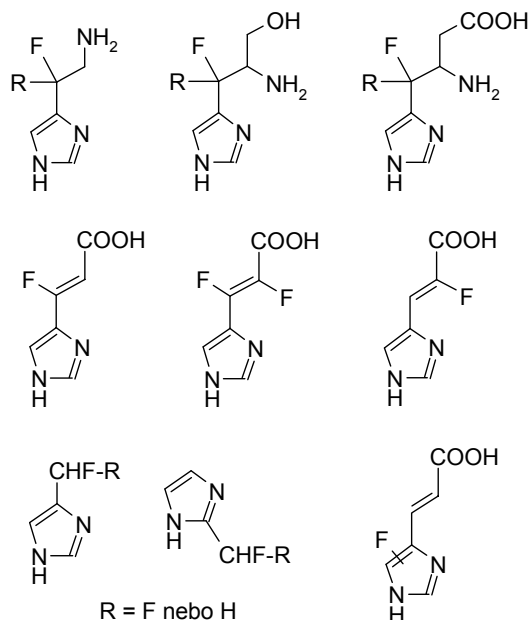
BOHUMIL DOLENSKÝ^a a KENNETH L. KIRK^b

^aÚstav analytické chemie, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bNational Institutes of Health, NIDDK, LBC, Bethesda, MD 20892, USA. dolenskb@vscht.cz

Přírodní látky, v jejichž struktuře je atom vodíku nahrazen atomem fluoru, nacházejí použití v nejedné oblasti výzkumu pochodů probíhajících v živých organismech. Využívá se především skutečností, že záměnou vodíku za fluor nedochází k velké změně velikosti molekuly a enzymy ji proto často nerozeznají a přirozeného substrátu či produktu. Záměnou však dochází k dramatickým změnám polarity, hydrofilnosti, stability či reaktivity molekuly a následně k jinému průběhu enzymatické reakce. Skutečnost, že fluorované organické látky téměř nejsou v živých organismech obsaženy, je rovněž využívána ke sledování různých dějů v organismu.

Problémem však zůstává příprava těchto fluorovaných látek. Téměř vždy jsou fluorované deriváty přírodních látek

připravovány vícestupňovou syntézou. Úspěšné i neúspěšné přístupy k přípravě fluorovaných derivátů histaminu, histidinolu, histidinu, methylimidazolů a urokanové kyseliny a jejich (ne)použitelnost v biologických studiích budou prezentovány.



LITERATURA

- Dolensky B., Takeuchi Y., Cohen L.A., Kirk K.L.: J. Fluorine Chem. 107, 147 (2001).
- Dolensky B., Kirk K.L.: J. Org. Chem. 66, 4687 (2001).
- Dolensky B., Kirk K.L.: J. Org. Chem. 67, 3468 (2002).
- Dolensky B., Kirk K.L.: Coll. Czech. Chem. Comm. 67, 1335 (2002).
- Fan J., Dolensky B., Kim I.H., Kirk K.L.: J. Fluorine Chem. 115, 137 (2002).
- Dolensky B., Narayanan J., Kirk K.L.: J. Fluorine Chem. 123, 95 (2003).
- Dolensky B., Kirk K.L.: J. Fluorine Chem. 124, 105 (2003).
- Dolensky B., Nam G., Deng W.-P., Narayanan J., Fan J., Kirk K.L.: J. Fluorine Chem. 125, 501 (2004).

SYNTÉZA A BIOLOGICKÁ AKTIVITA C⁶-SUBSTITUOVANÝCH DERIVÁTŮ 2-HYDROXY- A 2-AMINO-3-(PURIN-9-YL)PROPANOVÉ KYSELINY

**P. DOLÁKOVÁ^a, A. HOLÝ^a, M. MASOJÍDKOVÁ^a
a Z. ZÍDEK^b**

^aÚstav organické chemie a biochemie, Akademie věd ČR, Praha; ^bÚstav experimentální medicíny, Akademie věd ČR, Praha

dolakova@uochb.cas.cz

Alkylací 6-chlorpurinu **1a** a 2-amino-6-chlorpurinu **1b** diethylacetalem bromacetaldehydu byl připraven 9-(2,2-diethoxyethyl)-6-chlorpurin **2a** a příslušný derivát 2-amino-6-chlorpurinu **2b**. Reakcí těchto látek s primárními nebo

sekundárními aminy byly připraveny N⁶-substituované deriváty 9-(2,2-diethoxyethyl)adeninu **3a** – **3c** a -2,6-diaminopurinu **3f** – **3h**. Bazickou hydrolyzou 6-chlorderivátu **2a** a 2-amino-6-chlorderivátu **2b** byl získán derivát hypoxanthinu **3d** a guaninu **3i**, reakcí s thiomocovinou 6-sulfanyl analoga **3e** a **3j**. Takto připravené látky byly kyanhydrinovou resp. Streckerovou syntézou převedeny na příslušné C⁶-substituované 2-hydroxy- a 2-amino-3-(purin-9-yl)propanové kyseliny **4a** – **4j** a **6a** – **6j**. Vybrané kyseliny byly pro zvýšení průniku do buněk převedeny na 2-methylpropylestery¹ (Schéma 1). Některé z těchto látek mají imunostimulační a imunomodulační účinky. Efekt je závislý na aktivaci purinergního receptorového systému².

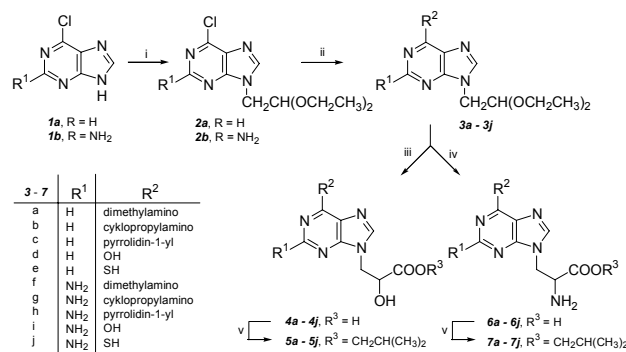


Schéma 1. i) BrCH₂CH(OCH₂CH₃)₂, Cs₂CO₃, DMF, 100 °C; ii) (CH₃)₂NH₂⁺(CH₃)₂NCOO⁻ nebo cyklopropylamin nebo pyrrolidin nebo DABCO, OH⁻ nebo NH₂CSNH₂; iii) 1. H⁺, 2. KCN, 3. H⁺; iv) 1. H⁺, 2. KCN, NH₄OH, NH₄Cl, 3. H⁺; v) H⁺, (CH₃)₂CHCH₂OH.

Práce je součástí výzkumného záměru č. 4055905 Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky a byla finančně podporována Cíleným projektem Grantové agentury Akademie věd České republiky S4055109, mezinárodním programem MŠMT COST D.13.20 a zčásti Descartovou cenou Evropské unie.

LITERATURA:

- Doláková P., Masojídková M., Holý A.: Nucleos. Nucleot. Nucl. Acids 22, 2145 (2003).
- Zídek Z.: nepublikovaná data.

PŘENÁŠEČE KYSLÍKU A PŘÍBUZNÉ MEDICINÁLNÍ APLIKACE

OLDŘICH PALETA^a, VLADIMÍR CÍRKVA^b, MILAN KODÍČEK^c a JIŘÍ MICHÁLEK^d

^aÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 16628 Praha 6; ^bÚstav chemických procesů AVČR, Rozvojová 135, 16502 Praha 6;

^cÚstav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 16628 Praha 6; ^dÚstav makromolekulární chemie AVČR, Heyrovského nám., 16206 Praha 6

Oldrich.Paleta@vscht.cz; cirkva@icpf.cas.cz;
Milan.Kodicek@vscht.cz; jiri@imc.cas.cz

Záměrem přednášky je podat přehledný obraz o stavu výzkumů v uvedené problematice. Nebude asi pochyb o tom, že jde významnou oblast medicínálních aplikací. Pojem "přenašeč kyslíku" je v medicínálním pohledu obvykle spojován s krevními náhradami na bázi syntetických sloučenin nebo na bázi chemicky upraveného hemoglobinu. Avšak zásobování živých tkání kyslíkem se týká také kožních náhrad, kontaktních preparátů (obvazový materiál, kontaktní čočky) a některých typů implantátů, tj. problematiky buněčných náhrad. V obecném pohledu nás v některých aplikacích zajímá hlavně rozpustnost kyslíku v dané substanci, která dodává kyslík tkáním, v jiných aplikacích je důležitou vlastností propustnost pro kyslík, kde řídicím dějem je difúze, resp. transport kyslíku ke tkáním (např. kontaktní čočky).

Nejatraktivnější aplikací v oblasti kapalných transportérů kyslíku jsou tzv. krevní náhrady. Pojem "krevní náhrada" není přesný, protože krev je orgánem, který má velký počet funkcí a umělé krevní náhrady zastupují jen přenos kyslíku. Svět již delší dobu zápasí s nedostatkem krve pro transfúze, darovaná krev může být infikovaná, do jisté míry pozměněná skladováním a konzervací; protože není nikdy dokonale stejná jako krev pacienta, může být zdrojem imunitních obtíží. V současné době postoupily do posledního stadia klinických zkoušek dva typy krevních náhrad, a to:

- náhrady na bázi hemoglobinu,
- náhrady na bázi perfluoruhlovodíku.

V případě hemoglobinu jde o tři druhy náhrady, dvě z lidského a jedna z hovězího hemoglobinu. Klíčové práce z klinických zkoušek lze zpravidla nalézt v časopisech *Surgery a Transfusion*, ale i zde se projevuje komercializace medicíny v tom smyslu, že klíčové informace nejsou zveřejňovány zejména u produktů, které jsou ještě ve výzkumu před uvedením na trh.

Tento souhrn uvádí literaturu, která se týká chemické a fyzikálně-chemické stránky problematiky¹⁻⁵.

Perfluorované uhlovodíky (perfluoruhlíky) a jejich emulze jsou zkoušeny v dalších medicínálních aplikacích (některé jsou módně zařazované mezi nano-aplikace)^{2,5}:

- respirační léčba (zlepšení funkce alveol, kesonová nemoc),
- přenos některých typů léčiv do plicní tkáně a krevního oběhu,
- perfúze ischemických tkání (srdečních, mozkových) a prevence infarktu,
- kontrastní látky pro ultrazvukové vyšetření,
- kultivace tkání a uchovávání orgánů pro transplantace,
- oční chirurgie a další.

Gelovité materiály se zvýšenou propustností (permeabilitou) kyslíku se zkoušejí v léčbě popálenin a pro náhrady tkání. Dobře známou oblastí aplikací materiálů s vysokou difuzivitou kyslíku jsou kontaktní čočky^{6,7}.

V přednášce budou rovněž uvedeny naše výsledky výzkumů v oblasti biokompatibilních emulgátorů a materiálů pro medicínální aplikace se zvýšeným transportem kyslíku⁸⁻¹¹.

Výzkum v oblasti transportérů kyslíku je podporován Vysokou školou chemicko-technologickou, dále byl podporován GAČR (projekty č. 203/01/1131 a 106/00/1206) a rovněž Ministerstvem školství mládeže a tělovýchovy ČR (projekt MSM 223100001). Některé fluorované sloučeniny byly laskavě poskytnuty firmou Atafina S.A. (dříve Atochem S.A., Francie.).

LITERATURA

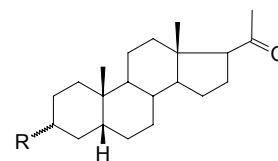
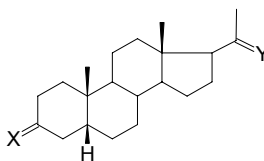
1. Greiner J., Riess J.G., Vierling P. in: *Organofluorine Compounds in Medicinal Chemistry and Biomedical Applications* (R. Filler et al., ed.), p. 339. Elsevier, Amsterdam, 1993.
2. Lowe K.C. in: *Conference Papers "Fluorine in Medicine in the 21st Century"*, Chap. 19. UMIST, Manchester, 1994.
3. Riess J. G., Greiner J.: *Carbohydr. Res.* 327, 147, 2000.
4. Riess J.G.: *Chem. Rev.* 101, 2797 (2001).
5. Riess, J.G.: *Tetrahedron* 58, 4113 (2002).
6. Tighe B.J. in: *Conference Papers. Optical Applications of Fluoropolymers: Contact Lenses*, Chap. 11 and references therein. UMIST, Manchester, 1992.
7. Tighe B.J. in: *Contact Lens Practise* (N. Efron (Ed.)), pp. 76-81. Butterworths-Heinemann, New York, 2002.
8. Církva V., Kaplánek R., Paleta O., Kodíček M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 67, 1436 (2002).
9. Paleta O., Dlouhá I., Kaplánek R., Kefurt K., Kodíček M.: *Carbohydr. Res.* 337, 2411 (2002).
10. Církva V., Polák R., Paleta O., Kefurt K., Moravcová J., Kodíček M., Forman S.: *Carbohydr. Res.* 339, 2177 (2004).
11. Kaplánek R., Paleta O., Michálek J., Přádny M.: *J. Fluorine Chem.*, submitted.

SYNTEZA 3-KARBOXY DERIVÁTŮ 5 β -PREGNAN-20-ONU

HANA CHODOUNSKÁ^a, JIŘÍ URBAN^b,
EVA ŠTASTNÁ^{a,c} a MILOŠ BUDĚŠINSKÝ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám.2, 166 10 Praha 6; e-mail, ^bFyzikální ústav AV ČR, Na Slovance 2, Praha 8, 182 21; ^cKatedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Universita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2;
stastna@uochb.cas.cz; hchod@uochb.cas.cz

V rámci projektu, který se zabývá přípravou steroidních sloučenin s předpokládanou aktivitou na NMDA receptorech^{1,2} byly připraveny 3 α a 3 β karboxy deriváty V a VI.



I, X = O, Y = O

V, R = α -COOMe

II, X = (OMe)₂, Y = H, OH

VI, R = β -COOMe

III, X = O, Y = H, OBz

IV, X = CN, OH, Y = H, OBz

Při syntéze jsme vycházeli z 5 β -pregnan-3,20-dionu I, který byl „one-pot“ reakcí ochráněn v poloze 3 a zredukován na 20-hydroxy derivát II. Ochráněním alkoholu a uvolněním 3-oxo skupiny jsme získali keton (III) pro transformaci na kyanhydrin IV. Dehydratací, hydrolyzou a převedením vzniklé karboxylové kyseliny na methyl ester a oxidací 20-hydroxy skupiny jsme získali dva epimery V a VI. V reakční směsi

převažoval 3 α -V epimer v poměru 3 : 1. Struktura a konfigurace získaných sloučenin byla potvrzena pomocí NMR spektroskopie.

Práce vznikla za podpory výzkumného úkolu Z4 005 905 a grantu AV ČR IAA 4055305. Účast na konferenci podporuje VTS ÚOCHB.

LITERATURA

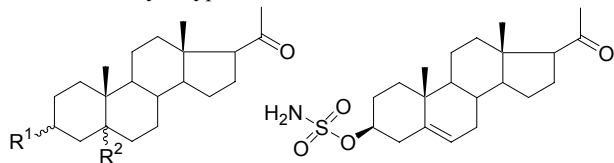
1. Irwin R.P., Lin S., Rogawski M.A., Purdy R.H., Paul S.M.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 271, 677 (1994).
2. Weaver C.E., Land M.B., Purdy R.H., Richards K.G., Gibbs T.T., Farb D.H.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 293, 747 (1998).

SYNTÉZA STEROIDNÍCH 3-SULFAMOYL DERIVÁTŮ

VOJTĚCH KAPRAS^{a,b} a HANA CHODOUNSKÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingova nám.2, 166 10 Praha 6; ^bPřírodovědecká fakulta, Universita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
hchod@uochb.cas.cz; vojtkapras@quick.cz

Práce je součástí širšího tématu, zabývajícího se přípravou pregnanových derivátů, které by mohly ovlivnit funkci synaptických membránových receptorů neuronu. V této souvislosti byly připraveny 3-sulfamoyl (*I-V*) deriváty 5 α - i 5 β -pregnan-20-onu a pregn-5-en-20-onu. Aktivita některých těchto látek byla elektrofyziologicky testována na NMDA receptorech. U připravených derivátů lze též předpokládat inhibici některých typů sulfatáz.



I R¹ = α -OSO₂NH₂, R² = α -H

II R¹ = β -OSO₂NH₂, R² = α -H

III R¹ = α -OSO₂NH₂, R² = β -H

IV R¹ = β -OSO₂NH₂, R² = β -H

Práce vznikla za podpory výzkumného úkolu Z4 005 905 a grantu AV ČR IAA 4055305. Účast na konferenci podporuje VTS ÚOCHB.

LITERATURA

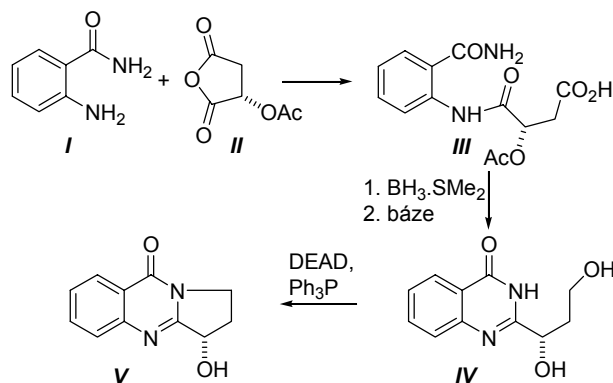
1. Dorda M., Vlček K., Chodounská H., Vyklický L. Jr.: Psychiatrie 5, suppl. 3, 5 (2001).
2. Pouzar V.: osobní sdělení

VASICINON: ZKRÁCENÁ TOTÁLNÍ SYNTÉZA A BRONCHOPROTEKTIVNÍ VLASTNOSTI**HELENA FÁKOVÁ^a, JANA SUCHÁNKOVÁ^b, MARIE VOPRŠALOVÁ^b, JITKA SEDLÁKOVÁ^a, MILAN POUR^a**

^aKatedra anorganické a organické chemie, UK-Farmaceutická fakulta, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bKatedra farmakologie a toxikologie, UK-Farmaceutická fakulta, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
fakova@faf.cuni.cz; pour@faf.cuni.cz; suchanko@faf.cuni.cz; voprshalo@faf.cuni.cz

Adhatoda vasica se využívá v indické domorodé medicíně Ayurvéda více než 2000 let. Nejvýznamnější indikací použití je tlumení projevů onemocnění respiračního traktu. Jednou z obsahových látek, jejíž bronchoprotektivní účinky byly zkoumány, je chinazolinový alkaloid vasicinon (*V*). Vzhledem k tomu, že výsledky těchto výzkumů jsou nejednoznačné, pokusili jsme se je ověřit na modelu alergického astmatu.

Ekonomický přísun látky pro farmakologické studie byl zajištěn modifikací syntézy¹, jež v původním provedení vyžadovala převedení kyseliny *III* na methyl ester, redukci esteru LiAlH₄ a cyklizaci vzniklého alkoholu působením báze na pegamin *IV*. Zatímco jak příprava esteru látky *III*, tak jeho redukce se ukázaly obtížnými, zjistili jsme, že karboxylovou funkci kyseliny *III* je možné selektivně (kvantitativní výtěžek) zredukovat působením BH₃.SMe₂ a vzniklý alkohol cyklizovat působením báze in situ (Schema 1).



Schema 1.

Účinky vasicinonu (*V*) (2 x 50 mg.kg⁻¹ per os) byly zkoumány na modelu alergického astmatu u potkana Wistar. V intervalu za 24 hodin po antigen challenge došlo ke snížení bronchiální reaktivity, k signifikantnímu poklesu infiltrace buněk do plic a k snížení podílu buněk zánětu (neutrofilů a signifikantně eozinofilů) v bronchoalveolární laváži.

Projekt byl podporován výzkumným záměrem MŠMT ČR (MSM 11600001 a 11600002).

LITERATURA

1. Mhaske S.B., Argade N.P.: J. Org. Chem. 66, 9038 (2001).

Rejstřík autorů

Aaron, Jean-Jacques	1025	Holý, Antonín	1014, 1046
Alpe, Mia	1037	Holý, Petr	1003
Bark, Thomas	1007	Honys, David	1022
Baszczyński, Ondřej	1003, 1012	Hořicová, Denisa	1003, 1012
Bělohradský, Martin	1003	Hrabálek, Alexandr	1011, 1013
Beran, Antonín	1003	Hrdina, Radim	1013
Betík, Robert	1043	Hrubý, Martin	1014, 1020
Boháč, Andrej	1009, 1029, 1033	Husáková, Petra	1041
Braunerová, Gabriela	1027	Chalupová, Šárka	1014
Broncová, Gabriela	1039	Chane-Ching, Kathleen	1025
Březinová, Lenka	1031	Chobot, Vladimír	1023
Březnová, Hana	1039	Chodounská, Hana	1047, 1048
Bříza, Tomáš	1004, 1010	Chvátalová, Kateřina	1015
Buděšínský, Miloš	1035, 1042, 1047	Jampílek, Josef	1015
Buchalová, Kateřina	1017	Janková, Štěpánka	1016
Buchta, V.	1027	Jelínek, Ivan	1039, 1040
Castaño, Obis D.	1006	Jindřich, Jindřich	1003, 1016, 1035
Cibulka, Radek	1004, 1005, 1009, 1032	Jiroš, Pavel	1017, 1037
Církva, Vladimír	1046	Jirsa, Milan	1019
Císařová, Ivana	1035	Juklová, Jarmila	1027
Cvačka, Josef	1017	Jun, Daniel	1015
Cvak, Ladislav	1007	Jurok, Radek	1009
Čapek, Petr	1011	Kadeřávek, Jan	1015
Čermák, X.	1027	Kaminský, Jakub	1017
Čermáková, K.	1038	Kapras Vojtěch	1048
Černý, Ivan	1008, 1042	Kaustová, Jarmila	1023, 1027
Černý, Miloslav	1035	Kirk, Kenneth, L.	1045
Dekoj, Václav	1003	Klejduš, Bořivoj	1018, 1022
Dian, Juraj	1039, 1040	Klimentová, Jana	1011
Divišová, Hana	1041	Klinot, Jiří	1045
Doláková, P.	1046	Kniežo, Ladislav	1018, 1034, 1036, 1038, 1040
Dolenský, Bohumil	1045	Koblovská, Radka	1018, 1022
Doležal, M.	1027	Kodiček, Milan	1046
Doležal, Martin	1006, 1015	Kohout, Michal	1019
Dračínský, Martin	1006	Kokoška, Ladislav	1018
Drahoňovský, Dušan	1007	Koldobskii, Grigorii	1013
Drašar, Lukáš	1008	König, Burkhard	1004, 1005
Drašar, Pavel	1008, 1034, 1040	Kotora, Martin	1010, 1011, 1013, 1016, 1026, 1032, 1036
Dufková, Lenka	1013, 1016	Kováč, Ivan	1019
Dukh, Mykhaylo	1008	Kovářová, Anna	1019
Dvořáková, Han	1018, 1027	Kozempel, Ján	1014, 1019, 1020
Džoganová, Martina	1008	Kozmík, Václav	1019, 1020, 1024
Džubák, Petr	1044, 1045	Král, Vladimír	1004, 1008, 1039
Fáková, Helena	1048	Králová, Jarmila	1004
Feltl, Ladislav	1034	Kubicová, Lenka	1023, 1028
Frei, Eva	1032	Kučka, Jan	1014, 1020
Fusek, Martin	1007	Kuchař, Martin	1019, 1020
Gášpár, Boris	1009, 1029	Kuneš, Jiří	1013, 1015
Glogarová, Milada	1019, 1020, 1021	Kurfürst, Milan	1021, 1024
Hajdúch, Marián	1044, 1045	Kvasnica, M.	1044
Haláček, Josef	1012	Kvičala, Jaroslav	1003, 1010, 1012, 1021, 1022
Hampl, František	1009, 1032		1024, 1030
Hanzlíková, Iveta	1034	Kvičalová, Magdalena	1022
Havlík, Martin	1010	Lapčík, Oldřich	1018, 1022
Hazafy, David	1010	Lebeda, Ondřej	1014, 1020
Herrmann, Pavel	1011	Ledvina, Miroslav	1008
Hocek, Michal	1011	Lenka, Dufková	1016
Hocková, Dana	1041	Lešetický, Ladislav	1015, 1019
Holas, Tomáš	1011	Liška, František	1032
Holík, Miroslav	1012	Luxová, Anna	1017, 1037

Macková, Zuzana	1018, 1022	Smíšková, Alexandra	1031
Macháček, Miloš	1023	Sobociková, Marie	1032
Macháček, Petr	1024, 1030	Staněk, Jan	1017
Machara, Aleš	1024	Stiborová, Marie	1032
Marková, L.	1044	Suchánková, Jana	1048
Marková, Lenka	1005	Svatoš, Aleš	1037
Martásek, Pavel	1004	Svoboda, Jiří	1019, 1020, 1021, 1024, 1025
Martinová, B.	1004	Svobodová, Eva	1032
Masojídková, M.	1046	Szotkowski, Tomáš	1033
Matyk, Josef	1041	Šarek, Jan	1044, 1045
Mejstřík, Viktor	1034	Šilhár, Peter	1011
Mézlová, Marie	1025	Šinkora, Jiří	1031
Michálek, Jiří	1046	Škvorcová, Andrea	1033
Michl, Josef	1022, 1043	Šťastná, Eva	1047
Milata, Viktor	1025	Štěpánek, Petr	1034, 1038
Mitchell, Scott	1013	Šustr, Martin	1023
Moravcová, Jitka	1027	Táborská, Eva	1031
Musil, Pavel	1031	Taimr, Pavel	1019
Myznikov, Leonid	1013	Tichý, Miloš	1034
Nečas, David	1036	Trnka, Tomáš	1008, 1035, 1037, 1040
Novák, Petr	1026	Trojan, Tomáš	1035
Novotná, Vladimíra	1019, 1020, 1021	Trtek, Tomáš	1035
Oscarson, Stefan	1037	Turský, Matyáš	1036
Palát, Karel	1027	Ubik, Karel	1042
Palek, Lukáš	1027	Ulbrich, Karel	1014, 1020
Paleta, Oldřich	1010, 1046	Urban, Jiří	1047
Pažický, Marek	1009, 1029	Urban, Milan	1045
Pecka, Jaroslav	1043	Valášek, Michal	1043
Petruš, L.	1039	Valenta, Štěpán	1036
Petrušová, M.	1039	Valterová, Irena	1017, 1037
Popelová, Alena	1027	Vašek, Petr	1004
Pour, Milan	1048	Vávrová, Kateřina	1011, 1013
Pouzar, Vladimír	1008, 1042	Veselý, Jan	1008, 1037
Pravda, Martin	1023, 1028	Vích, Ondřej	1018, 1038
Pudilová, Helena	1016	Vinšová, Jarmila	1038
Pytela, Oldřich	1030, 1033	Vítková, Michaela	1018, 1022
Raich, Ivan	1018, 1036	Vlašínová, Helena	1031
Roth, Zdeněk	1034	Vohlídal, Jiří	1029
Rucki, Marián	1034	Vojtech, M.	1039
Rupertová, Martina	1032	Von Zelewsky, Alex	1007
Rybáčková, Markéta	1003	Vopřsalová, Marie	1048
Sališová, Marta	1009, 1029, 1033	Vrkoslav, Vladimír	1039, 1040
Sedláková, Jitka	1048	Vytlačilová, Jitka	1023
Sejbal, Jan	1006, 1029	Waisser, Karel	1041
Semak, Vladislav	1009	Werner, Lukáš	1040
Schmeiser, Heinz, H.	1032	Závada, Jiří	1003
Schulz, Tilmann	1009	Zedník, Jiří	1029
Sívek, Roman	1030	Zelenka, Karel	1040
Skála, Pavel	1028	Zídek, Z.	1046
Skalický, Martin	1021, 1024, 1030		
Slanina, Jiří	1015, 1031		
Slaninová, Iva	1031		



INTERNATIONAL CONFERENCE ON SUPRAMOLECULAR SCIENCE & TECHNOLOGY

"Supramolecules: Design and Functionality on a Nanomolecular Scale"

ICSS&T 2004 CONGRESS

ABSTRACT BOOK

ADDENDA ET CORRIGENDA

Pavel Drašar, Vladimír Pouzar and Petr Holý, Editors

PRAGUE, September 5 - 9, 2004

Venue - ICT Prague

Organizers:

Czech Chemical Society
Global Supramolecular Chemistry Network (GSCN)
Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR, Prague
Institute of Chemical Technology, Prague

ANALYSIS OF INTERACTION BETWEEN PROTEINS AND SMALL MOLECULES**JOHN D. PHILLIPS*** FRANK G. WHITBY, CHRIS P. HILL and JAMES P. KUSHNER

*University of Utah School of Medicine, Department of Medicine, Division of Hematology and Biochemistry 4C416 SOM, 30 N. 1900 E. Salt Lake City, UT, 8413, USA
john.phillips@hsc.utah.edu*

The synthesis of heme requires 8 steps in mammals. Steps 5 and 6 catalyze the decarboxylation of acetate and propionate carboxyl groups on the tetrapyrrole macrocycle. Uroporphyrinogen decarboxylase (URO-D, step 5) removes a carboxyl group from each of the 4 acetate side chains of uroporphyrinogen (uro'gen) without the need for cofactors. Subnormal activity of URO-D is the cause of porphyria cutanea tarda (PCT), the most common of the human porphyrias. Coproporphyrinogen oxidase (CPO), catalyzes the oxidative decarboxylation of two propionate side chains of coproporphyrinogen III to form vinyl groups in the product protoporphyrinogen IX. CPO mutations are responsible for the disease hereditary coproporphyrin. We have now crystallized URO-D under anaerobic conditions in the presence of its fully reduced porphyrinogen substrate. Recombinant His-tagged human URO-D at 10 mg/ml was crystallized in the presence of enzymatically generated uro'gen I or III in an anaerobic chamber. The structure of the rhURO-D-porphyrinogen complex revealed coproporphyrinogen (copro'gen) in the active site, indicating that the uro'gen substrate had been decarboxylated. There was no change in the configuration of URO-D compared to the unliganded protein. Copro'gen in the active site was domed with the 4 pyrrole nitrogens pulled above the plane of the macrocycle by hydrogen bonding to the carboxyl group of Asp86. Only the reduced porphyrinogen has the flexibility to adopt the domed conformation to orient the macrocycle for catalysis. Collectively, these data indicate that catalysis requires stabilization of the porphyrinogen substrate in a domed configuration, protonation of the macrocycle and a critical interaction between the hydrophobic domain and an acetate carboxyl group. We are also the first group to report a structure of a eukaryotic CPO. A cDNA encoding CPO (Hem13p) was expressed in *E. coli* as a histidine tagged protein. Hem13p was purified and concentrated to 25 mg/ml, crystals were grown in the presence of 18% PEG 8000, 0.1 M HEPES, pH 7.5, 2% isopropanol, 0.2 M Na-acetate. The crystal structure was determined by optimized sulfur anomalous scattering and refined to a resolution of 2.0 Å. The protein folds into a novel structure featuring a central flat seven-stranded antiparallel β -sheet flanked on each side with helices. The homodimeric structure of CPO is formed by a short isolated strand that forms a β ladder between the two monomers. Each monomer contains an active site formed between the flat β -sheet and adjacent helices at the monomer interface. The deep active site cleft is lined by conserved residues and has been captured in an open and a closed conformation in two different crystal forms. The substrate cavity is completely buried in the closed conformation by an approximate 8 Å movement of a helix that forms a lid over the active site. The volume of the enclosed cavity precisely accommodates a modeled molecule of coproporphyrinogen III.

Acknowledgement, NIH; DK20503, GM56775, RR00064.

INTERACTION OF SMALL MOLECULES WITH EXTRAFRAMEWORK METAL CATIONS IN ZEOLITES**PETR NACHTIGALL**

*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic and Center for Complex Molecular Systems and Biomolecules, Flemingovo n. 2, 166 10, Prague 6, Czech Republic
petr.nachtigall@uochb.cas.cz*

The metal/zeolite systems show interesting catalytic properties for many chemical reactions. This catalytic activity is clearly related to the metal-to-framework coordination. Extra-framework metal cation coordination depends on the framework aluminum distribution, framework topology, and on the character of a metal cation. In order to understand the catalytic activity of metal/zeolite systems it is important to find a correlation between the metal-to-framework coordination and the ability of extra-framework metal to bind additional molecules.

Knowledge about the details of the structure and coordination of metal ions in zeolites is of particular interest. Small molecule (*e. g.*, CO, H₂, N₂, pyrrole) are often used as a probe in characterization of the M⁺ sites in zeolites. It appears that some spectroscopic techniques cannot distinguish individual metal site types while other spectroscopies show signals due to particular metal-to-framework coordination¹.

Structure and coordination of extra-framework metal cations in high-silica zeolite matrices was investigated by combined quantum mechanics/interatomic potential function method and by periodic DFT method. Two types of extra-framework cation sites were found^{2,3}: (i) Sites on the channel intersection, where the M⁺ cation is coordinated to just two framework oxygen atoms of single AlO₄ tetrahedron. This metal-to-framework coordination remains unchanged upon the interaction with additional ligand. (ii) Sites on top of the six-member ring on the wall of zeolite channel, where metal cation is coordinated to 3-4 framework oxygen atoms. This coordination is reduced upon the interaction with additional ligand. Metal cations on the channel intersection interacts with additional ligands more strongly than cations on the channel wall sites (difference about 6-9 kcal/mol). Upon the interaction with a probe molecule the M⁺ coordination appears to be very similar for both site types (M⁺ is coordinated to two framework oxygen atoms and to a probe molecule). Therefore the spectroscopic techniques probing the structure or dynamics of probe molecule cannot distinguish between two site types. On the contrary, techniques probing the changes in interaction energies can distinguish between different site types.

REFERENCES

1. Bulánek R., Čičmanec P., Knotek P., Nachtigallová D., Nachtigall P.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6, 2003 (2004).
2. Nachtigallová D., Nachtigall P., Sierka M., Sauer J.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1, 2019 (1999).
3. Kucera J., Nachtigall P.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5, 3311 (2003).

INTERACTION OF PHENYLPORPHYRIN AND CALIX[4]PHYRIN WITH AROMATIC ANALYTES: SPECTROSCOPIC, QUANTUM CHEMICAL AND CHROMATOGRAPHIC INVESTIGATION

**ZUZANA TOMÁNKOVÁ^a, MARKÉTA BERNÁTKOVÁ,
KAMIL ZÁRUBA, PAVEL MATĚJKA and VLADIMÍR
KRÁL**

*Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, CZ-166 28 Prague 6, Czech Republic
tomankoz@vscht.cz*

Oligopyrrole macrocyclic compounds represent interesting material for receptors for their binding abilities. They offers several interaction modes including π - π , Coulombic and hydrophobic interactions¹.

Interactions of porphyrin and calix[4]pyrin with aromatic acids, nucleobases and nucleosides were studied with spectroscopic techniques. The spectroscopic results were compared with quantum chemical calculations and with the data obtained by HPLC measurements.

Novel sorbents based on 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin and 5,15-bis(pentafluorophenyl)calix[4]pyrin were prepared started from 3-aminopropylsilica gel. Sorbents were characterized by Raman spectroscopy and elemental analysis.

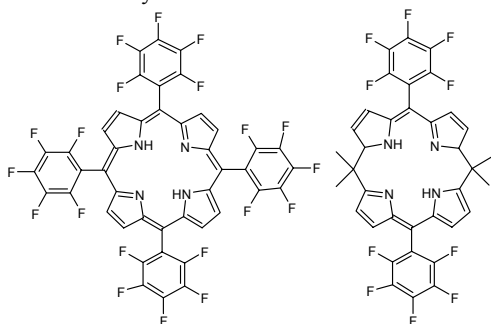


Fig. 1. 5,15-bis(pentafluorophenyl)calix[4]pyrin and 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin.

This work was support by Czech Grant Agency (grant No. 301/98/K042) and Ministry of Education, Youth and Sports (MSM 223400008).

REFERENCES

- Záruba K., Setnička V., Charvátová J., Rusín O., Tománková Z., Hrdlička J., Sýkora D., Král V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 66, 693 (2001).

METALLOBORONIC CLUSTERS: APPLICATION FOR ISE CONSTRUCTION: FROM SIMPLE LIPOPHILIC ADDITIVE TO RECEPTORS

JIRI TUTSCH^a, MARTIN KRONDAK^a, GABRIELA BRONCOVA^a, HANA BREZNOVA^a, BOHUMIR GRUNER^b, JAROMIR PLESEK^b, PETR CIGLER^a, VLADIMÍR KRÁL^a

^a *Institute of Chemical Technology Prague, Department of Analytical chemistry, Technická 5, Prague 6, 166 28;*

^b *Institute of Inorganic Chemistry, Academy of Sciences of The Czech Republic, Rez, 250 68, Czech Republic
Jiri.Tutsch@vscht.cz*

The selectivity and sensitivity of PVC membrane electrode are dramatically influenced by the specific receptor and by lipophilic additive, respectively. Herein, it is described application of carborane clusters and its derivatives as both ionophore and lipophilic additive for either cation or anion recognition.

In the first step, it was compared the potentiometric characteristics for dibenzo-18-crown-6-ether-based membrane with two anionic lipophilic additives: typical tetraphenylborate and novel carboranes. As it was expected, the introduction of carborane led to remarkable improvement of the sensitivity and expansion of linear range in the field of low concentrations. In the second step, it was studied a number of carborane derivatives as ionophore for PVC-membrane. Among the tested analytes, they were mono- and divalent charged both cations and anions. Experiments showed that carborane clusters mostly prefer Cs^+ cations. However, undecacarborane cluster with covalently linked benzene (Fig. 1) specially sense Cu^{2+} cations (25.41 mV/decade, 10^{-4} to 10^{-1} M).

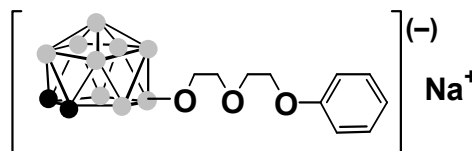


Figure 1 Carborane cluster selective towards Cuprum

Addition of the cationic lipophilic additive (tridodecylmethylammonium chloride) into PVC-membrane with carboranes reverses the potentiometric response from cationic to anionic. Interestingly, the presence of amido and thioamido groups contributes to an anionic selectivity. The potentiometric measurements indicated that carboranes itself and in combinations with both determined ionophore and cationic lipophilic additives present interest for the further development of the potentiometric sensors.

This work was supported by grant of Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (MSM 223400008) and internal grant of Institute of Chemical Technology (402050205).

NOVEL CLASS OF CHROMOPHORIC BINAPHTHOL DERIVATIVES: BINAPHTHOL-POLYMETHINE SYSTEMS

TOMÁŠ BŘÍZA^a, PETR VAŠEK^a, JARMILA KRÁLOVÁ^b, PAVEL MARTÁSEK^c AND VLADIMÍR KRÁL^{a*}

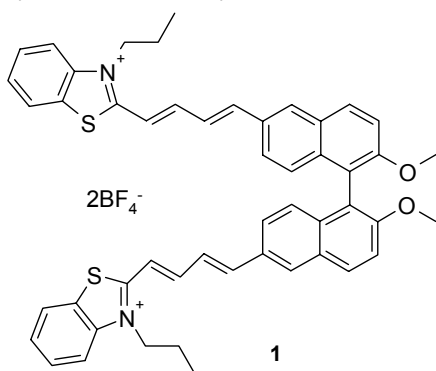
^a *Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, CZ-166 28 Prague 6,* ^b *Institute of*

Molecular Genetics, Academy of Sciences, Prague 6, ^cFirst Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic kralv@vscht.cz

Polymethinium salts represent very interesting stable conjugated system with wide utilization, including NLO and medicinal application¹. Thus, they can be used, for example, as an antitumor agents².

Binaphthol derivatives have been used for the construction of variety of receptors, including chiral sensing systems, but they are lacking easy chromophoric detection of binding event.

The goal of this work has been to prepare and use chromophoric binaphthol systems. Our strategy is based on substitution of dibromobinaphthyl derivatives by trimethinium chains in the first step. The second step includes modification of this polymethinium chains by a benzothiazolium salt.



Novel derivative **1** showed interesting ability to induce apoptosis in cancer cells. We observed also specific interaction with isoforms of nitric oxide synthase.

Authors gratefully acknowledge financial support from GACR grants Nr. 203/02/0420, 301/04/1315 and 309/02/1193

REFERENCES

- Mishra A., Behera K. R., Behera K. P., Mishra K. P., Behera B. G.: *Chem. Rev.* **100**, 1973 (2000).
- Kawakami M., Koya K., Ukai T., Tatsuta N., Ikegawa A., Ogawa K., Shishidi T., Chen L. B.: *J. Med. Chem.* **41**, 130 (1998).

ELECTROPOLYMERIZED FILM BASED ON PYRROLE-FUNCTIONALIZED BINAPHTHOLAMIDE: A SENSOR FOR ANION RECOGNITION

TOMÁŠ MAJDLOCH, TATIANA V. SHISHKANOVA*, MARTIN VALÍK, PAVEL MATĚJKA, RADKO VOLF, VLADIMÍR KRÁL

Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic tatiana.shishkanova@vscht.cz

The development of artificial receptors for selective recognition has attracted much attention because of their

possible application for potentiometric sensors, such as coated-wire electrodes¹. Owing to their architecture, 2,2'-disubstituted 1,1'-binaphthyls became a popular scaffold for the construction of a variety of supramolecular structures to be employed in molecular recognition studies²⁻⁵. Herein, we disclose results of the polymerization of pyrrole-functionalized binaphtholamide and show how this molecule can be used in coated-wire electrodes for anionic species.

Two kinds of electropolymerized films based on the pyrrole-functionalized binaphtholamide: polymeric and copolymeric forms, - are presented. Both polymeric and copolymeric films were obtained via anodic oxidation of pyrrole moiety. With respect to dimensions of binaphthyl skeleton that should complicate the polymerization process, it was prepared the co-polymeric film. We have supposed that copolymerization from pyrrole-binaphthol system should facilitate inclusion of binaphthyl units into polypyrrole backbone.

Potentiometric studies showed that both polymer and copolymers demonstrated near-Nernstian behaviour toward hydrophilic anionic species (SO_4^{2-} , $\text{HPO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$) in wide concentration range from 10^{-6} up to 10^{-2} M. It should be point out the important role ammonium cations in formation of the potentiometric signal. The possible mechanism of the potentiometric selectivity is discussed.

Financial support from the Ministry of Education of the Czech Republic Grant No. MSM 223400008, and Grant Agency of the Czech Republic Nos. 203/03/0716, 203/02/0420 and 309/02/1193 is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- Guisseppi-Elie A., Wallace G. G., Matsue T. in: *Hanbook of Conducting Polymers*, Chap. 34, p. 963. Marcel Dekker, NY-B-HK, 1998.
- Tsubaki K., Tanaka H., Kinoshita T., Fuji K.: *Tetrahedron* **58**, 1679 (2002).
- Waldemar I., Mattay J.: *J. Photochem. Photobiol. A* **67**, 209 (1992).
- Kronďák M., Shishkanova T. V., Holakovský R., Volf R., Stibor I., Král V.: *Anal. Chim. Acta* **448**, 19 (2001).
- Abbot P. A., Barker G. W., Davies D. L., Griffiths G. A., Walter A. J., Kočovský P.: *Anal. Chem.* **74**, 4002 (2002).

MOLECULAR RECOGNITION AT AN ORGANIC-AQUEOUS INTERFACE: CALIX[3]PYRIDINO[1]-PYRROLE AS Ca^{2+} AND Mg^{2+} BINDING AGENT

TATIANA V. SHISHKANOVA*, EVA ČURDOVÁ, RADKO VOLF, VLADIMÍR KRÁL

Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, ZP-166 28 Prague 6, Czech tatiana.shishkanova@vscht.cz

Carrier-based ion-selective electrodes (ISEs) constitute an established set of analytical tools that in optimal cases can provide a convenient means of detecting selectively one or more analytes within a complex mixture. In point of fact, it is primarily the stability constant of the ion-carrier complex that dictates the operational selectivity of a given sensor¹. The

potentiometric response of membrane-based ISEs containing a specific ligand can be used to provide information about the mode of analyte binding as well as, at least potentially, molecular insights into the details of substrate-ligand interaction. Therefore the construction of ISEs is particularly interesting from the perspective of the supramolecular chemists. Potentiometry with ISEs could provide a convenient method for characterizing the substrate binding characteristics of receptor under interfacial organic-aqueous conditions. ISEs are also of obvious interest because they can help translate the supramolecular chemistry of new substrate binding systems into potentiometric sensor.

In this report, we study calix[3]pyridino[1]pyrrole as active component of ISEs. The potentiometric characteristics of experimental membranes (selectivity coefficient K^{Pot}_{IJ} , where I and J represent the two competing analytes in question) indicate that calix[3]pyridino[1]pyrrole has an affinity toward Ca^{2+} and Mg^{2+} cations. In order to verify the potentiometric selectivity of calix[3]pyridino[1]pyrrole receptor toward discharged cationic species, it was additionally carried out extraction experiments. Both the potentiometric selectivity coefficients and association constants for calix[3]pyridino[1]pyrrole toward Ca^{2+} and Mg^{2+} are in direct correlation.

Financial support from the Ministry of Education of the Czech Republic Grant No. MSM 223400008, and Grant Agency of the Czech Republic Nos. 203/03/0716, 203/02/0420 and 309/02/1193 is gratefully acknowledged.

REFERENCES

1. Bakker E., Buhlmann P., Pretsch E.: Chem. Rev. 97, 3083 (1997).

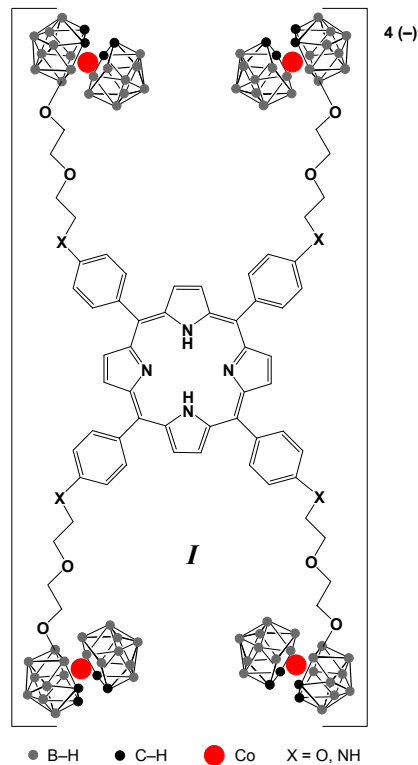
PORPHYRIN-METALLOBORON CLUSTER CONJUGATES: NOVEL CLASS OF OPTICAL AND ELECTROCHEMICAL SENSORS

PETR ČÍGLER, ZDENĚK KEJÍK, GABRIELA BRONCOVÁ and VLADIMÍR KRÁL*

*Institute of Chemical Technology, Technická 5, Prague 6, 166 28, Czech Republic
kralv@vscht.cz*

[Cobalt(III) bis(1,2-dicarbollide)]⁻ derivatives are at the present time used mostly for solvent extraction of radionuclides¹. However, introduction of these cluster anions into sensing molecules offers unique possibilities to tune their hydrophobicity/hydrophilicity and selectivity. Here we present novel optical and electrochemical sensors based on porphyrin—cobalt(III) bis(1,2-dicarbollide) conjugates. By simple synthetic protocol [ring opening of 8-dioxane-3-cobalt(III) bis(1,2-dicarbollide) with corresponding O- and N-nucleophiles]² we prepared porphyrins *meso*-substituted by flexible arms wearing metalloboron clusters.

Example of pH-dependent UV-Vis spectra applicable for sensing properties of conjugate **I** is demonstrated on Fig. 1. The changes in spectrum are untypical in comparison with other porphyrins.



Soret band at 460 nm decreases with increasing pH. Fluorescence emission spectra are strongly pH-dependent, too, but in reverse fashion (fluorescence increases from neutral to basic pH).

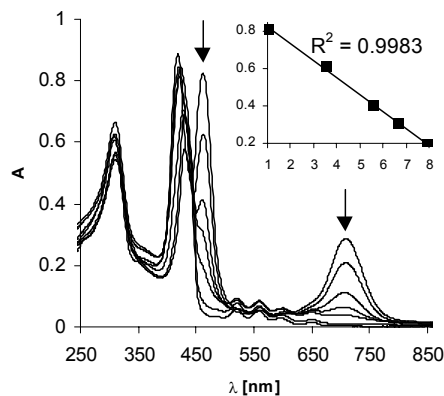


Figure 1. Absorption spectra of 8 μ M solution of anion **I** in Britton-Robinson buffer. Arrow-heads indicate changes of absorbance with increasing pH values. Inset shows linear dependence of absorbance for $\lambda = 460$ nm from acidic to weakly alkaline pH.

Partially converted derivatives corresponding to **I** containing reactive $-NH_2$ or $-OH$ groups could be incorporated into membranes for ion-selective electrodes using electropolymerization procedure.

Authors gratefully acknowledge financial support of the Ministry of Education of the Czech Republic (MSM 223400008) and Eur. Comm. grant project QLRT-2000-02360 and GACR grant project Nr. 203/02/0420, and also thank to

Dr. Jaromír Plešek for valuable discussions.

REFERENCES

1. Plešek J.: Chem. Rev. 92, 269 (1992).
2. Plešek J., Heřmánek S., Franken A., Císařová I., Nachtigal C.: Collect. Czech. Chem. Commun. 62, 47 (1997).

COMPLEXATION OF OXOANIONS WITH PORPHYRIN-ALKALOID CONJUGATES: ATP OPTICAL SENSING

JITKA KOUKOLOVÁ¹, KAMIL ZÁRUBA¹, DAVID MICHALÍK¹, MARTIN HUB¹, PAVEL DRAŠAR^{1,2}, VĚRA KRÍŽOVÁ¹ and VLADIMÍR KRÁL^{1,2*}

¹Institute of Chemical Technology Prague, Dept. of Analytical Chemistry, Technická 5, Prague 6, 166 28; ²Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of Czech Republic, Flemingovo sq. 2, 16610 Prague 6
kralv@vscht.cz

Selective complexation of oxoanions in aqueous media remains one of the most challenging themes in supramolecular chemistry. There are many elegant receptors for anion complexation in organic solvents designed to date, but ion pairing and lack of relevance for biologically important systems represent major drawback.

Porphyrins are tetrapyrrolic macrocycles with excellent photophysical properties. In our design, we connected porphyrin macrocycle with alkaloids, in order to achieve effective anion complexation in aqueous environment.

We prepared system, that contain porphyrin core as good chromophore unit and three quarterized alkaloid groups on porphyrin periphery, which in cooperative fashion function as chelation units for oxoanions (fig. 1).

Our goal is to develop receptors for biologically important compounds as phosphates, nucleotides, nucleic acids. Special focus was directed towards selective ATP sensing in aqueous environment.

The synthesis of receptors **1-2**, together with UV-Vis anion titration (fig. 2) will be presented and discussed.

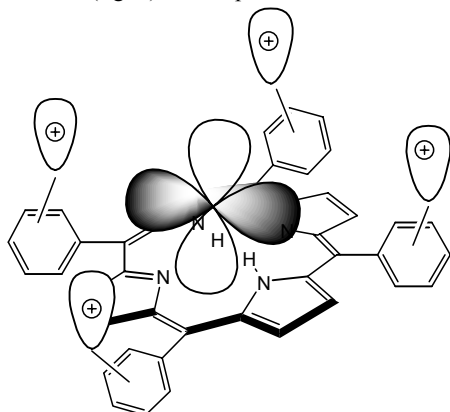


Figure 1. Model porphyrin-alkaloid receptor for oxoanions binding based on cooperative multiple binding mode.

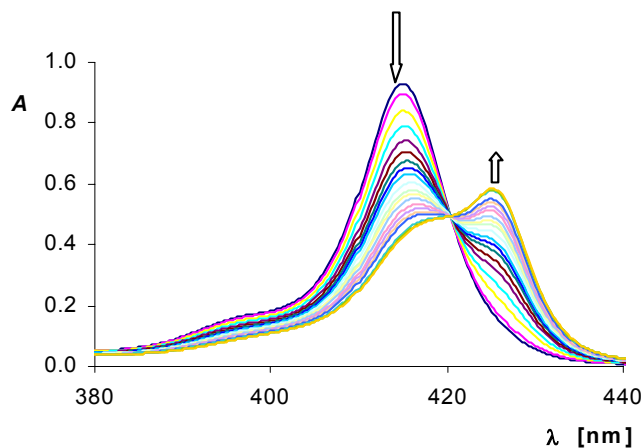
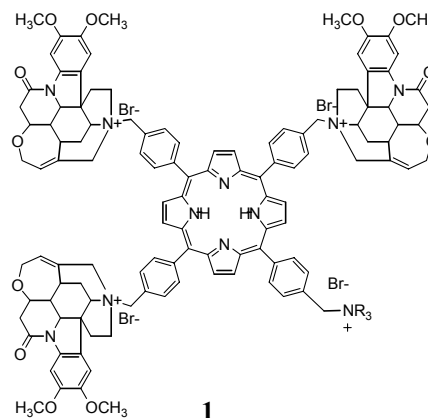


Figure 2. UV/Vis titration of receptor **1** with ATP in water/methanol 1:1.

Authors gratefully acknowledge financial support of the Ministry of Education of the Czech Republic (MSM 223400008 and COST D-31 1P04OCD31.001). This work was also supported by GACR No. 203/02/0933, 309/02/1193, 203/02/0420.

PHOTOLUMINESCENCE SENSOR RESPONSE FROM POROUS SILICON MODIFIED WITH COBALT PHTHALOCYANINE

**VLADIMÍR VRKOSLAV¹, IVAN JELÍNEK¹,
VLADIMÍR KRÁL², JURAJ DIAN^{3,*}**

¹Charles University Prague, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, Hlavova 2030, CZ-128 40 Prague 2; ²Institute of Chemical Technology, Technická 5, CZ-166 28 Prague 6; ³Charles University Prague, Faculty of Mathematics and Physics, Department of Chemical Physics and Optics, Ke Karlovu 3, CZ-121 16 Prague 2
dian@karlov.mff.cuni.cz

Photoluminescence quenching of porous silicon in presence of various analytes in gas phase is used for sensing purposes¹. Sensor elements based on as-prepared porous silicon exhibit high sensitivity of sensor response but relatively low operational stability². Stabilization of porous silicon surface with sorption of organic molecules enables to enhance operational stability and optimize sensor response toward specific analytes. We modified porous silicon surface with cobalt phthalocyanine by means of physical adsorption inside porous silicon matrix. We observed modified photoluminescence quenching response and operational stability enhancement from the impregnated porous silicon samples. From concentration dependence of photoluminescence quenching response to linear alcohols in gas phase we determined sensitivity of sensor response; from long-term evolution of porous silicon photoluminescence intensity we evaluated operational stability of sensor elements. Link between chemical properties of phthalocyanine molecules and variation of sensor response due to porous silicon modification is discussed.

We thank the Grant Agency of Czech Republic (203/03/0900) and the Grant Agency of Charles University (424/2004/B-CH/PřF) for financial support.

REFERENCES

- Lauerhaas J.M., Credo G.M., Heinrich J.L., Sailor M.J., J. Am. Chem. Soc., *114*, 1911 (1992).
- Holec T., Chvojka T., Jelínek I., Jindřich J., Němec I., Pelant I., Valenta J., Dian J., Mat. Sci. Eng. C *19* (2002) 251.

SENSING OF ORGANIC MOLECULES IN GAS AND LIQUID PHASES WITH POROUS SILICON

**VLADIMÍR VRKOSLAV¹, IVAN JELÍNEK¹,
VLADIMÍR KRÁL², JURAJ DIAN^{3,*}**

¹Charles University Prague, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, Hlavova 2030, CZ-128 40 Prague 2; ²Institute of Chemical Technology, Technická 5, CZ-166 28 Prague 6; ³Charles University Prague, Faculty of Mathematics and Physics, Department of Chemical Physics and Optics, Ke Karlovu 3, CZ-121 16 Prague 2
dian@karlov.mff.cuni.cz

Photoluminescence quenching of porous silicon in presence of analytes in gas and liquid phases is used for sensing purposes¹. We present a systematic study of changes in porous silicon photoluminescence intensity in the presence of precisely controlled amounts of linear aliphatic alcohols (from methanol to hexanol). From the concentration dependence of photoluminescence quenching response we determined sensitivity of porous silicon sensor for studied analytes. The sensor sensitivity revealed nearly monotonous change with the length of alcohol molecule within the homological set of alcohols in both gas and liquid phases. However, while in gas phase the sensor sensitivity rose with the length of alcohol chain, in liquid phase we observed the opposite behavior. Photoluminescence quenching behavior in liquid phase is very well explained by exciton dielectric quenching mechanism². In gas phase photoluminescence quenching depends both on analyte dielectric constant and analyte equilibrium concentration inside porous matrix controlled by capillary condensation effect. The effective concentration analyte in porous matrix was in the first approximation related with reciprocal value of saturated vapor pressure³.

We thank the Grant Agency of Czech Republic (203/03/0900) and the Grant Agency of Charles University (424/2004/B-CH/PřF) for financial support.

REFERENCES

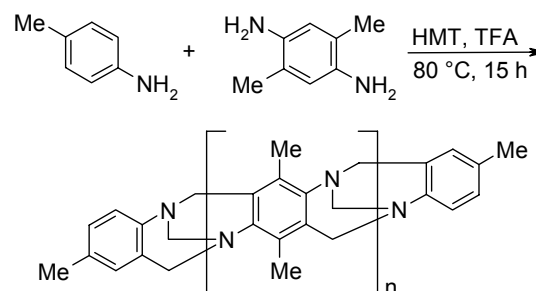
- Lauerhaas J.M., Credo G.M., Heinrich J.L., Sailor M.J., J. Am. Chem. Soc., *114*, 1911 (1992).
- Fellah S., Wehrspohn R.B., Gabouze N., Ozanam F., Chazalviel J.N., J. Luminesc., *80*, 109 (1999).
- Chvojka, T., Vrkoslav, V., Jelínek, I., Jindřich J., Lorenc M., Dian J., Sens.&Actuators B, *100*, 246 (2004).

ONE-STEP PREPARATION OF PH-SENSITIVE SCAFFOLD: LINEAR OLIGO-TRÖGER BASES

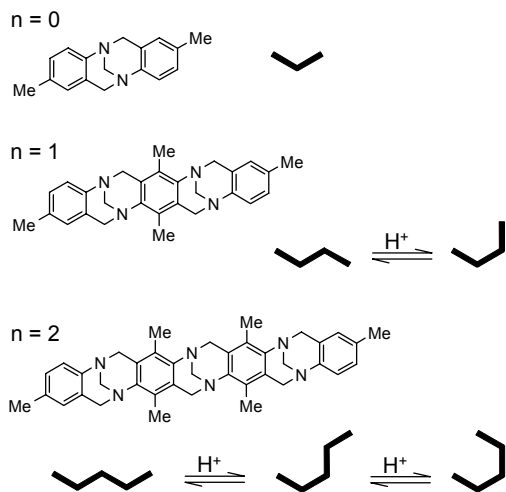
BOHUMIL DOLENSKÝ AND VLADIMÍR KRÁL*

^aDepartment of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Prague 6;
kralv@vscht.cz

The formation of novel scaffold for the construction of selective receptors has been leading theme in the supra-molecular chemistry. We present here the general approach to the formation of oligo-TB *via* one-pot mix reaction of amine and diamine under TB forming conditions (reaction with formaldehyde equivalent under acid catalysis).



We have already isolated and fully identified following oligo-TBs ($n = 0-2$), usually as mixture of racemic diastereoisomers, which can be converted one to another under acidic condition. The geometry of resulting TB systems is schematically summarized.



These compounds will be used as receptor scaffold, which can be changed under acidic pH.

Authors gratefully acknowledge financial support from Grant Agency of the Czech Republic (grant Nos. 203/03/D049, 203/02/0933).

REFERENCES

1. Padro C., Sesmilo E., Gutierrez-Puebla E., Monge A., Elguero J., Fruchier A.: *J. Org. Chem.* **66**, 1607 (2001).
2. Mas T., Padro C., Salort F., Elguero J., Torres M. R.: *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1097.
3. Valík M., Dolenský B., Petříčková H., Král V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **67**, 609 (2002).

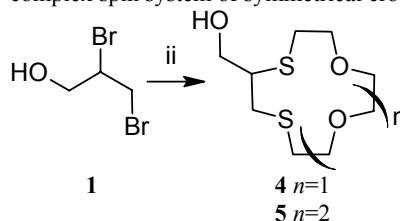
SYNTHESIS OF OXATHIACROWN ETHERS – NEW HOSTS FOR TRANSITION AND HEAVY METALS AND STUDY OF THEIR FLUORESCENT AND EXTRACTION PROPERTIES. *Corrigendum*

ELENA V. TULYAKOVA, EDWARD V. RAKHMANOV, ANDREY V. KHOROSHUTIN, ALLA A. BOBYLYOVA, ALEXANDER V. ANISIMOV, and ELENA V. LUKOVSKAYA

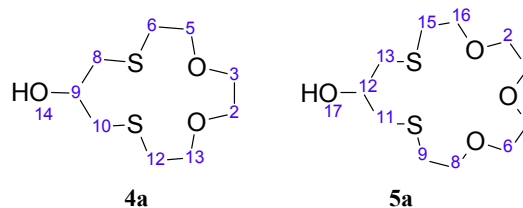
Department of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow 119992, Russia
anis@petrol.chem.msu.ru

In the previous report¹ we stated that on the reaction of 2,3-dibromopropanol with corresponding and α,ω -dimercaptanes **2** and **3**, derivatives of tri- and tetraethylene glycol crown ethers of the type **4** and **5** were formed. However, careful inspection of NMR spectra revealed that a thirteen- and sixteen-membered macrocycles have been formed at

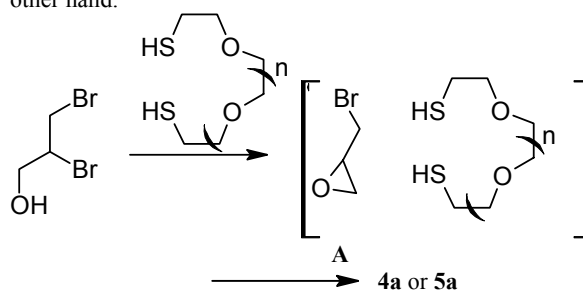
cyclization step already a symmetrical pattern of rather complex spin system of symmetrical crown ethers **4a** and **5a**.



Scheme 1 (i) HS-(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-O-CH₂-CH₂-SH **2** ($n=1$) or **3** ($n=2$), Li₂CO₃, EtOH/H₂O, 95°C

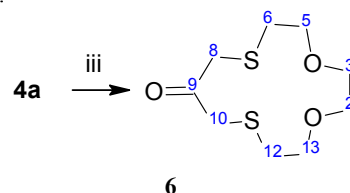


We suppose that an intermediate bromomethyl epoxide **A** has been formed in the basic conditions of the reaction, the sites of cyclization in the epoxide being the bromine atom on the one hand, and less hindered position of the epoxide, on the other hand.



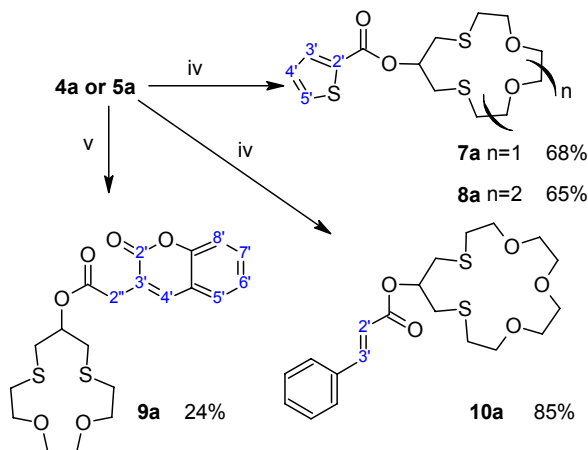
Scheme 2

4a has been obtained previously² but, to the best of our knowledge, its NMR spectra have not been reported. To the best of our knowledge, **5a** is unknown. Accordingly, the oxidation of **4a** in Swern conditions yielded the ketone **6**.³

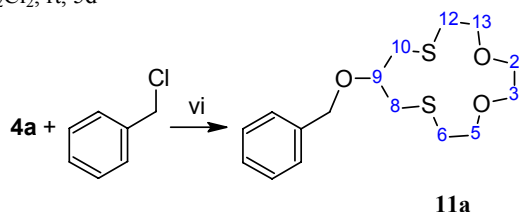


Scheme 2. (iii) 1. DMSO, (ClCO)₂, -78 – -20 °C, CH₂Cl₂ 2. **5**, 40%

Compounds **4a** and **5a** were derivatized by a series of acids possessing fluorescent properties by means of DCC – 4-dimethylaminopyridine protocol. The structures of corresponding esters mentioned in our previous communications should be also corrected.



Scheme 3. (iv) DCC, 4-DMAP, CH₂Cl₂, rt, 1h; (v) DCC, CH₂Cl₂, rt, 5d



Scheme 4. (vi) NaH, DMF, overnight, 37%

Compound **9a** has been tested for change of its fluorescence properties. Addition of Hg²⁺ ions to the solution of **9a** showed negligible influence on its fluorescence behaviour.

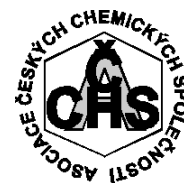
NMR titration data of compounds **7a-10a** by salts of Pb²⁺ and Ag⁺ are also presented. Depending on the ring size metal ions exert different influence on the chemical shifts of protons in 1,3-propanediyl fragment. Pb²⁺ salts shift H-8 proton of **7a** downfield and H-9 proton upfield, whereas H-13 proton of **8a** is shifted upfield and H-12 – downfield.

Distribution coefficients of Ag⁺ and Cd²⁺ ions between organic phase (containing either **5a** or **11a**) and water phase (containing either HNO₃ or lithium picrate) have been studied by radiometric method. The experiments showed that Cd²⁺ was not considerably extracted to organic phase by any of the systems. Ag⁺ ions are extracted by solutions of both **5a** in CH₂Cl₂ and **11a** in CHCl₃ mainly from picrate water solutions.

Support of INTAS (Grant No .03-51-4696), as well as support of the Department of Chemistry, Moscow State University, is gratefully acknowledged.

REFERENCES

1. Tulyakova E. V., Rakhmanov E. V., Khoroshutin A. V., Boblyyova A. A., Anisimov A. V., Fedorova O. A.: Chem. Listy 98, s51 (2004).
2. Nazarenko A. Y., Kalinin V. N., Mikhalyuk P. I., Sukhan V. V., Timoshenko V. M., Zh. Neorg. Khim. 38, 1580 (1993).
3. Buter J., Kellog R. van Bolhuis M., F., J. Chem. Soc., Chem. Commun, 1991, 910.



57. zjazd chemických spoločností

4. – 8. september 2005

Vysoké Tatry

Dovolujeme si Vás pozvať, jménom organizačného výboru, Asociácie českých chemických spoločností, Asociácie slovenských chemických a farmaceutických spoločností, garantů a sponzorů, na spoločný 57. sjezd chemiků. Sjezd se bude konat v hotelovém komplexu Hutník v Tatranských Matliaroch. V prípade veľkého zájmu je možné rozšíriť ubytovaciu kapacitu o susedné hotely. Tatranské Matliare majú výhodnú výchozí polohu pro výlety do všech hlavních tatranských lokalit. Předpokládané vložné na konferenci je

175 Euro,

zahrnuje konferenční poplatek, sborník, ubytování, plnou penzi, občerstvení během sekcí, společenské večery a možnost využití sportovního vybavení hotelu (plavecký bazén, bowling). Hotelový komplex s možností cen-trálného ubytování a stravování všech účastníků zajistí lepší podmínky pro odbornou i společenskou komunikaci účastníků sjezdu. Odborná úroveň bude podpořena přítomností řady pozvaných přednášejících, zahajovací přednášku přislíbil prof. Zewail (Kalifornský technologický institut, nositel Nobelovy ceny za chemii pro rok 1999).

Předběžné přihlášky zasílejte na adresu Slovenské chemické spoločnosti písomně nebo E-mailem co nejdříve, nejpozději do 6. ledna 2005. další informace budou zveřejňovány na webových stránkách sjezdu a obou národních chemických společností.



Kontaktní adresa

E-mail: upolzhl@savba.sk, schs@chtf.stuba.sk

Slovenská chemická spoločnosť

FCHPT STU

Radlinského 9/1111

812 37 Bratislava

Slovensko



56. SJEZD CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

„Chemie uhlí a uhlíkatých materiálů pro 21. století”

Ostrava

6. – 9. září 2004

POŘÁDAJÍCÍ ORGANIZACE

**Asociace českých chemických společností
Asociácia slovenských chemických a farmaceutických spoločností**

**ve spolupráci s
VŠB-Technickou univerzitou Ostrava a Ostravskou univerzitou v Ostravě**

ZÁŠTITU PŘEVZALI

**Ing. Evžen Tošenovský
hejtman Moravskoslezského kraje**

**Ing. Aleš Zedník
primátor Statutárního města Ostravy**

**Prof. Ing. Václav Roubíček, CSc.
senátor ČR a prorektor VŠB-TU Ostrava**

6P-26**HORMONÁLNE ZMENY V ZRNE JAČMEŇA JARNÉHO (*HORDEUM VULGARE* L.) PO APLIKÁCIÍ ORGANOMINERÁLNYCH KVAPALNÝCH PRÍPRAVKOV****JANETTE MUSILOVÁ, JUDITA BYSTRICKÁ a PAVOL TREBICHALSKÝ***Katedra chémie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU, tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, SR
musilova@afnet.uniag.sk*

V príspevku sme zamerali pozornosť na vzťahy medzi hladinami fytohormónov (IAA, ABA, ZEA) v generatívnych orgánoch jačmeňa jarného odrody Jubilant a druhom aplikovaného organominerálneho kvapalného prípravku: Avit 35, Biostimul a Humix Univerzál¹.

Aplikáciou Avitu 35 sa znížila hladina kyseliny β -indolyloctovej (IAA) v porovnaní s kontrolným variantom (1999: 118,75 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ sušiny; 2001:19,87 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) v rokoch 1999 (40,25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a 2001 (1,66 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Obdobná bola odzva jačmeňa jarného na aplikáciu Biostimulu, kde sme zvýšenie hladiny IAA zaznamenali iba v r. 1998 (7,29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Zvýšenie hladiny IAA potláča akumuláciu zeatínu (ZEA). Tento účinok auxínu na hladinu cytokinínov je vždy len dočasný a jeho trvanie zodpovedá dobe nutnej na iniciáciu vlastného morfogenetického procesu². Antagonistický účinok IAA a ZEA sa potvrdil v r. 1998 vo variante ošetrovanom Biostimulom, v r. 1999 vo variante s Avitom 35 a v r. 2001 vo všetkých troch variantoch. K zvýšeniu obsahu ZEA v porovnaní s kontrolným variantom viedla vo všetkých troch rokoch aplikácia Avitu 35. Po aplikácii Humixu Univerzál a Biostimulu sme v týchto variantoch zaznamenali zvýšenie ZEA iba v r. 2001 (kont.: 40,88 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; HU: 43,12 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; B: 46,04 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Taktiež antagonistický je obsah ZEA a ABA. Je známe, že cytokiníny a ABA pôsobia antagonisticky na mnohé procesy (otváranie prieduchov, starnutie pletív, rýchlosť vývinu mladých rastlín), čo koreluje s obsahom oboch fytohormónov v rastlinných pletivách³. Endogénna hladina ABA úzko súvisí s iniciáciou dozrievania zrna a jeho predčasným klíčením³. Po ošetrovaní jačmeňa jarného organominerálnymi kvapalnými prípravkami obsahovalo zrno všetkých variantov počas všetkých troch rokov (s výnimkou roku 1998 a var. Humix Univerzál: 1,73 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; kont.: 1,33 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nižší obsah ABA, než zrno kontrolného variantu, pričom uvedený vzájomný vzťah ABA a ZEA sa nepotvrdil v roku 1999 vo variantoch ošetrovaných Humixom Univerzál a Biostimulom.

Je nutné zdôrazniť, že z doposiaľ nadobudnutých výsledkov nie je možné jednoznačne charakterizovať vplyv vybraných organominerálnych kvapalných prípravkov na hormonálne zmeny v zrne jačmeňa jarného.

Stanovenie obsahu endogénnych hormónov sme uskutočnili podľa metodiky Hardin a Stutte a vyhodnotili metódou HPLC.

LITERATÚRA

1. Musilová J., Bystrická J., Vollmannová A.: Chem. Listy 97, 797 (2003).
2. Kamínek M., Mok D. W. S., Zažímalová E.: *Physiology and Biochemistry of Cytokinins in Plants*. str. 57. The Hague : SPB Acad. Publishing, 1992.
3. Davies P. J.: *Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development*. Str. 494. Martinus Nijhoff, Boston 1987.

6P-27**VPLYV FENOLICKÝCH ZLÚČENÍN NA ÚRODU A ZVÝŠENIE β -KAROTÉNU V KOREŇOCH MRKVY OBYČAJNEJ (*DAUCUS CAROTA* SUBSP. *SATIVUS*)****JUDITA BYSTRICKÁ, JANETTE MUSILOVÁ a RADOVAN STANOVIČ***Katedra chémie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU, tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, SR
Judita.Bystricka@uniag.sk*

V príspevku prezentujeme výsledky stanovenia β -karoténu v koreňoch mrkvy po aplikácii fenolických zlúčenín: *o*-pyrokatechol, *m*-rezorcinol, *p*-hydrochinón a do pokusu bola zaradená aj kyselina benzoová a kyselina salicylová.

Stanovenie β -karoténu sa usutočnilo metódou HPLC.

Formovanie a rast koreňov sú stimulované aj niektorými fenolickými zlúčeninami a terpénmi, ktoré pôsobia synergicky spolu s kyselinou indolyloctovou. Rozsah efektu fenolických zlúčenín je funkciou ich štruktúry, koncentrácie a ich pomeru k obsahu kyseliny indolyloctovej. Jednosýtna a dvojsýtna fenoly, napr. kyselina salicylová, stimulujú aktivitu IAA – oxidázy, ktorá pôsobí deštruktívne na kyselinu β -indolyloctovú. Polyfenoly a *o*- a *p*-fenoly a inhibujú aktivitu IAA oxidázy, takže chránia IAA pred oxidáciou a nazývajú sa koreňové kofaktory¹.

Kyselina benzoová v podstate neovplyvnila dosiahnutú úrodu. Zvýšenie v priemere rokov o 4,4 % je štatisticky nepreukazné. Kyselina salicylová v priemere rokov zvýšila úrodu koreňov o 24,3 % v porovnaní s kontrolnými rastlinami s výnimkou roku 2001 každoročne štatisticky preukazne. Z dvojsýtnych fenolov mal v priemere štyroch rokov najvyšší úrodotvorný efekt *m*-derivát rezorcinol. Úroda koreňa po jeho aplikácii sa zvýšila o 23,5 % oproti kontrole. *Orto* a *para* deriváty zvýšili úrodu len o málo menej výrazne, pyrokatechol o 19,1 % a hydrochinón o 18,4 % oproti vodou ošetrenej kontrole.

Fenolické zlúčeniny, ale aj ďalšia zlúčenina aromatického charakteru, kyselina benzoová, zvýšili obsah β -karoténu v koreňoch mrkvy obyčajnej. Druh fenolickej zlúčeniny výrazne ovplyvňuje jeho akumuláciu v koreňoch: na obsah β -karoténu mal najpriaznivejší vplyv z dvojsýtn-

nych fenolov *m*-derivát rezorcinol, ktorý v priemere rokov štatisticky preukazne zvýšil jeho obsah v porovnaní s kontrolou z hodnoty 154,3 mg.kg⁻¹ na hodnotu 233,1 mg.kg⁻¹. Najvýraznejšie zvýšenie β-karoténu sme dosiahli po aplikácii kyseliny salicylovej, ktorá v priemere štyroch rokov štatisticky preukazne zvýšila β-karotén v koreňoch mrkvy obvyčajnej v porovnaní s kontrolou z hodnoty 154,3 mg.kg⁻¹ na hodnotu 250,6 mg.kg⁻¹.

Je známe, že formovanie úrody ovplyvňuje množstvo faktorov prostredia i vnútorný potenciál rastliny. Preto získané výsledky, napriek tomu, že naznačujú určité vzťahy medzi štruktúrou a úrodou (kvalitou), nemôžu byť jednoznačne prisudzované štruktúre aplikovaných prípravkov. Pôsobením použitých hydroxykyselín sa predĺžovací rast zmenšoval a korene boli hrubšie. Vysvetlenie dávajú závery viacerých autorov².

LITERATÚRA

1. Kutina J.: *Regulátory rústu a jejich využití v zemědělství a záhradnictví*. 2. vyd., 416 str. SZN, Praha 1988.
2. Takahaschi N.: *Chemistry of Plant Hormones*. 264 str. CRC Press, Boca Raton 1986.

7P-39

KONTAMINÁCIA PÔD V OKOLÍ CHEMICKÉHO PODNIKU CHEMKO STRÁŽSKE

TOMÁŠ TÓTH^a, JÁN TOMÁŠ^a, ALENA VOLLMANNOVÁ^a, LADISLAV LAHUČKÝ^a, LADISLAV DUCSAY^b a LADISLAV VARGA^b

^aKatedra chémie, ^bKatedra agrochémie a výživy rastlín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra
tomas.toth@uniag.sk

Výsledky hodnotenia produkčného potenciálu pôd Slovenska ukazujú, že z celkovej výmery pôd Slovenska máme len 9,2 % vysokoprodukčných, 19,6 % veľmi produkčných a 20 % produkčných. Asi 7,9 % pôd je stredne produkčných, 26,5 % tvoria pôdy málo produkčné, 9,6 % veľmi málo produkčné, 5,2 % pôd je menej vhodných pre poľnohospodárstvo a asi 2,0 % sú pre poľnohospodársku výrobu nevhodné¹.

Kontaminácia pôd je integrálnou súčasťou životného prostredia, je súčasne aj zdrojom pre znečistenie ostatných zložiek životného prostredia a potravinového reťazca. Kontaminácia rastlín cudzorodými látkami je jedným z hlavných činiteľov, ktoré sa podieľajú na zdravotnom stave obyvateľstva. Z hľadiska záťaže patria k najproblematickejšiemu z anorganických kontaminantov dusičnany a ťažké kovy, z organických polychlórované bifenyly a reziduá chlórovaných pesticídov.

Na Slovensku evidujeme 10 oblastí so silne ohrozeným životným prostredím, medzi ktoré patrí aj Stredozemľská, nachádzajúca sa na Východoslovenskej nížine². Za hlavný emisný zdroj tuhých a plyných splodín v tomto regióne sú považované tepelná elektrárňa Vojany, Chemko Strážske, Chemlon a Chemes Humenné.

V príspevku hodnotíme kontamináciu pôd v okolí chemického podniku Chemko Strážske. Sledovali sme obsahy 7 významných ťažkých kovov na vybraných pestovateľských plochách ako aj v poľnohospodárskych plodinách.

Z hodnotenia obsahu sledovaných ťažkých kovov (Cd, Co, Pb, Ni, Cu, Zn a Cr) v pôdach vyplýva, že obsah kadmia, kobaltu, niklu, olova v tomto regióne je významným kontaminačným faktorom pôdy, ktorý je umocňovaný aj hodnotami pH, ktoré tieto pôdy zaraďujú medzi slabo kyslé pôdy. Zvýšené obsahy ťažkých kovov v pôde tvoria výrazné riziko pre ich input do rastlinných produktov, čo indikuje aj zvýšené obsahy ťažkých kovov v rastlinných komoditách. V dopestovaných obilninách bol zvýšený obsah kadmia, chrómu a olova; v olejninách bol zvýšený obsah olova, niklu a chrómu; v strukovinách sme zaznamenali nadlimitné hodnoty kadmia, olova, niklu, medi, zinku a chrómu.

LITERATÚRA

1. Linkeš V.: *Monitoring pôd Slovenskej republiky. Súčasný stav monitorovaných vlastností pôd 1992–1996*, 128 str. VÚPÚ, Bratislava 1997.
2. *Správa o stave životného prostredia v Slovenskej republike v roku 2002*. 248 str. MŽP SR, Bratislava 2002.

7P-40

DISTRIBÚCIA MEDI, ZINKU A CHRÓMU STANOVENÁ SELEKTÍVNOU SEKVENČNOU EXTRAKCIU (SSE)

JÁN TOMÁŠ^a, ALENA VOLLMANNOVÁ^a, TOMÁŠ TÓTH, JANETTE MISILOVÁ, JUDITA BYSTRICKÁ a DANIEL BAJČAN

Katedra chémie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia
Jan.Tomas@uniag.sk

SSE vychádza z teoretických výskumov ťažkých kovov v pôde a umožňuje hodnotenie ich väzieb na rôzne pôdne zložky. Ťažké kovy sa v pôde vyskytujú v rôznych väzbách v závislosti od ich vlastností, ale i od pôdnych vlastností, či už v minerálnej alebo aj organickej pôdnej zložke. SSE sa realizuje podľa Ziehena a Brümmera (1989)¹.

Stanovene distribúcie ťažkých kovov sme uskutočnili

v pôdnych typoch černoze – ČM, čiernica – ČA a hnedozem – HM, kde sme stanovili sedem frakcií u týchto prvkov Cu, Zn a Cr.

Z dosiahnutých výsledkov môžeme uviesť, že meď má vysokú afinitu k organickej hmote a najvyšší podiel je viazaný u frakcii IV, ďalej vo frakcii s amorfnými oxidmi Fe – frakcia V., ako i meď viazaná s dobre kryštalizovanými Fe. Cu sa v pôde pevne viaže vo forme organických chelátov, ktoré patria medzi najstabilnejšie vôbec, ako i vo forme ťažko rozpustných meďnatých solí s organickými kyselinami, ktoré vznikajú v pôde v dôsledku mikrobiálnych pochodov a prestavuje meď reziduálnu². Relatívne vysoký obsah mobilnej Cu v HM zrejme súvisí s vyšším obsahom karbonátov.

Z analýz vyplýva, že Zn je prevažne viazaný v silikátoch v reziduálnej VII. frakcii s podstatným zastúpením viazanej dobre kryštalizovanými oxidmi Fe a organickou hmotou. Aj napriek nestanoviteľným hodnotám mobilnej a ľahko mobilizovateľnej frakcii Zn považujeme za potrebné brať do úvahy a že zinok sa uvoľňuje pri zvetrávaní horniny, nakoľko je rozptýlený v horninotvorných mineráloch, pričom môže byť viazaný na oxidy Mn (v tretej frakcii), ako to vyplýva z výsledkov frakcionácie HM.

Výsledky frakcionácie chrómu preukazujú u troch sledovaných pôd dominantné zastúpenie Cr v VII. reziduálnej frakcii viazanej na kryštalizujúce oxidy Fe od 18 % po 29 %. Z toho vyplýva, že 7,7 až 9,1 % chrómu je vo formách, ktoré sú relatívne stabilné aj keď, za určitých pôdnych podmienok sa chróm v trojmočnej forme, v ktorej je imobilný môže oxidovať na Cr^{VI}, mobilný a pre rastliny prístupný³.

LITERATÚRA

1. Ziehen H., Brummer G. W.: *Chemische Extraktionen zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Boden. Mitteil.* s. 505. DBG, 59, 1989.
2. Hegedúsova A.: *Doktorandská dizertačná práca.* KCH SPU v Nitre, Nitra 1998.
3. Ducsay L.: *Ťažké kovy v pôdach a rastlinách. In: Rizikové faktory potravinového reťazca človeka*, str. 7. SPU, Nitra 2000.

7P-41

VHODNOSŤ EXTRAČNÝCH ČINIDIEL PRE STANOVENIE MOBILIZOVATEĽNÝCH A MOBILNÝCH FORIEM ŤAŽKÝCH KOVŮ

JÁN TOMÁŠ,^a ALENA VOLLMANNOVÁ,^a TOMÁŠ TÓTH,^a PETER LAZOR,^a LADISLAV LAHUČKÝ,^a KLAUDIA PARILÁKOVÁ^b a JURAJ CHLPÍK^c

^aKatedra chémie, FBP, ^bKatedra krajinného plánovania a pozemkových úprav, FZaKI, SPU, Tr. A. Hlinku 2, 949

76 2, Nitra, ^cKatedra pedológie a geológie, FAZP, SPU, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra
Jan.Tomas@uniag.sk

Hodnotenie pôdnej hygieny podľa celkových obsahov ťažkých kovov a podľa obsahu stanovených v 2 M-HNO₃ vychádza z platnej legislatívy SR. Pre posudzovanie pôdnej hygieny sú vhodnejšie mobilné (0,01 M-CaCl₂) a mobilizovateľné formy (0,05 M-EDTA) ťažkých kovov, ktoré môžu byť potenciálne toxické a sú rozdielnou mierou biopristupné¹.

Z dosiahnutých výsledkov v 2 M-HNO₃ sa extrahovali veľmi rozdielne množstvá stanovovaných prvkov. Interval rozpustnosti Cu kolíše v intervale 24,6 % v kambizemi pseudoglejovej po 70,6 % v regozemi. Rozdiely sa zistili i v extraktoch 2 M-HNO₃ v rámci rovnakého pôdneho typu, ale rôznych subtypov. Napr. interval rozpustnosti u černoze (ČMm, ČMč, ČM^c, ČMg, ČMh) varioval od 26,82 % po 54,34 % z celkového obsahu Cu. Najnižší obsah Cu vo výluhu 2 M-HNO₃ sa stanovil v ČM^c, (významný subtyp ČM, ktorého tmavý A – horizont spĺňa všetky kritéria s výnimkou hrúbky).

Vo výluhu 0,05 M EDTA sa z celkového Cu stanovilo od minima 14,1 % v KMg po 62,2 % v RMa. V rámci rovnakého typu ČM a rôznych subtypov (ČMm, ČMč, ČM^c, ČMg, ČMh) rovnako vo výluhu EDTA (cit.²), ako i vo výluhu 2 M-HNO₃ bol najnižší obsah 16,48 % z celkového obsahu Cu v ČMg a najvyšší v ČM^c 32,36 %.

V extrakčnom činidle s najnižšou agresivitou 0,01 M-CaCl₂ sa stanovili s výnimkou KMm, ktorá bola ovplyvnená výraznou antropickou imisnou záťažou (Stredný Spiš v okolí KO Krompachy), relatívne významné množstvá od 0,9 % v LMg po 4,99 v HMč Cu. Podľa rovnakých pôdnych typov a ich subtypov, napr. ČM sa zistilo od 1,53 v ČMg po 4,65 z celkového obsahu mobilnej formy Cu.

Z hľadiska biopristupnosti sú rozhodujúce mobilizovateľné a mobilné formy ťažkých kovov. Prevládajúce poradie v hodnotených pôdnych typoch a subtypoch mobilizujúcich foriem ťažkých kovov je Cu > Cd > Pb > Zn > Cr. Na niektorých pôdach je vymenené poradie na prvých dvoch miestach (Cd > Cu), resp. Pb > Cd pri najnižšej percentuálnej vyluhovateľnosti Cr, ktorá je bez výnimky najnižšia vo všetkých pôdach.

Význam stanovovania mobilných foriem ťažkých kovov (vo výluhu 0,01 M-CaCl₂) považujeme za problematické predovšetkým pre veľmi nízke obsahy, čiastočne aj stopové, a pod hranicou stanoviteľnosti dostupnými technikami.

LITERATÚRA

1. Bajčan D.: *Influence of the Application of Calcium and Magnesium Fertilizers and Zeolite on Resorption of Heavy Metals.* In: MendelNet '03. str. 1. AF MZLU, Brno 2003.
2. Zima M.: *Concentration and Accumulation of Cadmium and Lead in Organs of Helianthus Tuberosus L. Affected by EDTA.* In: *Foreign Substances in the Environment.* str. 232. Nitra 2002.

8L-16 STATICKÁ A ČASOVO ROZLIŠENÁ FEMTO- SEKUNDOVÁ OPTICKÁ SPEKTROSKOPIA POLYTIOFÉNOV

IGNÁC BUGÁR^a, DUŠAN VELIČ^{a,b}, MICHAL ŽITŇAN^b, PETER CHANDOGA^b, MONIKA ARANYOSIOVÁ^b a GABRIEL ČÍK^c

^aMedzinárodné laserové centrum, Ilkovičova 3, 812 19 Bratislava, ^bKatedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Prírodovedecká fakulta UK, Mlynská dolina CH1, 842 15 Bratislava, ^cKatedra environmentálneho inžinierstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
bugar@ilc.sk, velic@prifuk.uniba.sk, gabriel.cik@stuba.sk

Práca je zameraná na vyšetovanie štrukturálnych vlastností polytiofénových vzoriek na základe metód optickej spektroskopie. V posledných desaťročiach vznikol rad teoretických a experimentálnych prác, ktoré poukázali na úzke spojenie medzi štruktúrou polymérov a ich elektro-magneto-optickými vlastnosťami^{1,2}. Ukázalo sa, že odlišné optické diagnostické metódy sú vhodné na vyšetovanie štruktúry na rôznych úrovniach. Študovali sa optické vlastnosti dvoch typov poly(3-dodecytiofenu) (P1, P2), ktoré sa líšili v percentuálnom zastúpení regioregulárnych oblastí (61 %, 74 %) na polymérnom reťazci. Materiály P1 a P2 boli vyšetované v roztoku aj vo forme tenkého filmu nanosenom na kremenej podložke. Všetky vzorky boli premerané pomocou statickej absorpčnej a fluorescenčnej spektroskopie, pomocou statickej infračervenej spektroskopie a pomocou časovo rozlíšenej fluorescenčnej spektroskopie. Všetky použité metódy sa ukázali byť citlivé na regioregularitu skúmaných polymérov. Najvýznamnejšie výsledky dávali merania časovo rozlíšenej fluorescenčnej spektroskopie, ktorá umožňuje merať veľmi rýchle deje až na úrovni femtosekúnd³. Časovo a frekvenčne rozlíšená fluorescenčná spektroskopía využívajúca femtosekundové laserové impulzy (fluorescence up conversion) dáva detailnejší obraz o excitovanom stave ako metódy statickej spektroskopie. Na základe analýzy závislosti relaxačného času od vlnovej dĺžky fluorescencie bola navrhnutá predstava, ktorá je založená na putovaní excitácie medzi totálne regioregulárnymi segmentami polymérneho reťazca⁴. Tuholátkové vzorky vykazovali 3 až 5 násobne rýchlejšie relaxačné časy v pikosekundovej oblasti ako polymérne roztoky. Na základe získaných výsledkov sa dá predpokladať, že v prípade tuholátkových vzoriek treba rátať s putovaním excitácie aj medzi susednými reťazcami, spôsobujúcimi rýchlejšiu relaxáciu excitovaného stavu. Časovo rozlíšená fluorescenčná spektroskopía umožnila poukázat' na odlišnosti štruktúry „svietiacich“ polymérov aj v tých prípadoch, kde výsledky v statických podmienkach boli skoro rovnaké.

Táto práca vznikla s podporou grantu agentúry VE-

GA číslo 1/0216/03.

LITERATÚRA

1. Heeger A. J.: Sol. St. Com. 107, 673 (1998).
2. Chan H. S. O., Ng S. C.: Prog. Polym. Sci. 23, 1167 (1998).
3. Bugár I., Kováč J., Matuszka K., Lukeš V., Čík G.: Las. Phys. 14, 527 (2004).
4. Brunner K., Tortschanoff A., Warmuth Ch., Bassler H., Kauffmann H. F.: J. Phys. Chem. B 104, 3781 (2000).

8P-29 EXPERIMENTÁLNE A TEORETICKÉ ŠTÚDIUM Co^{III} KOMPLEXOV

MONIKA ARANYOSIOVÁ, OEGA VOLLÁROVÁ, JÁN BENKO a IVAN ČERNUŠÁK

Katedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, SK-84215 Bratislava, Slovenská republika
aranyosiova@fns.uniba.sk

Pri kinetickom štúdiu oxidácie tiolátových komplexov $[\text{Co}(\text{en})_2\text{XCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2]^{2+}$, $[\text{Co}(\text{en})_2\text{XCH}_2\text{CH}(\text{COO})\text{NH}_2]^+$ a $[\text{Co}(\text{en})_2\text{XCH}_2\text{COO}]^+$ (en = -NH₂CH₂CH₂NH₂-, X = S, SO, SO₂) v zmesnom prostredí voda-acetonitril sa zistil špecifický vplyv rozpúšťadla¹. Reakcie prebiehali S_N2 mechanizmom spojeným s prenosom kyslíka oxidačného činidla na síru tiolátového ligandu za vzniku sulfenáto a sulfínáto produktov². Termodynamické prenosové funkcie $\Delta_r G^\circ$, $\Delta_r H^\circ$ a $T\Delta_r S^\circ$ ako aj kinetické výsledky ukázali zmenu reaktivity tiolátových komplexov v oxidovaných formách v porovnaní s neoxidovanými. Pri oxidácii nedochádza k zmene celkového náboja komplexného iónu, ale len k zmene nábojovej hustoty na lokálnych častiach koordinačnej sféry komplexného iónu, ktoré boli v niektorých prípadoch rozhodujúce. Teoretické DFT-B3LYP/LANL2DZ výpočty geometrie a rozloženia náboja na atómoch komplexného iónu ukázali možnosť tvorby vnútramolekulovej vodíkovej väzby medzi NH₂ skupinou etyléndiamínového (prípadne tiolátového) ligandu a kyslíkom z karboxylovej skupiny ako aj s kyslíkom viazaným na síru oxidovaných foriem tiolátových komplexov. Porovnaním vypočítaných harmonických IČ spektier s experimentálnymi výsledkami sa zistila vo väčšine prípadov dobrá zhoda a potvrdila sa prítomnosť vnútramolekulovej vodíkovej väzby. Informácie o solvatacii získané pomocou termodynamických prenosových funkcií ukázali, že v zmesnom prostredí voda – acetonitril sú protným rozpúšťadlom vodou preferenčne solvatované skupiny COO a SO, ktorých kyslík podľa výpočtov v plynnej fáze tvorí vnútramolekulovú vodíkovú väzbu pričom interakcia s voľnou karboxylovou skupinou je dominantná. Výsledky

z UV-VIS spektier korešpondujú so získanými výsledkami prenosových funkcií. Absorpčný pás komplexu bez COO skupiny LMCT2 (Co-S-O) sa posunul o 28 nm k nižším vlnovým dĺžkam so zmenou prostredia od acetonitrilu (rozpušťaadlo bez vodíkových väzieb) po čistú vodu. Pre komplex s COO skupinou bol pozorovaný hypsochrómny posun LCTM2 pásu o 16 nm, čo zodpovedá menšej energii. Pravdepodobne je to dané prítomnosťou COO skupiny v koordinačnej sfére komplexného iónu, ktorá je na základe hodnôt $\Delta\epsilon$, G^0 dominantná pri solvácii vodou.

LITERATÚRA

1. Aranyosiová M., Benko J., Vollárová O.: Int. J. Chem. Kin. 36, 34 (2004).
2. Aranyosiová M., Vollárová O., Benko J.: Chem. Listy 96, 533 (2002).
3. Vollárová O., Benko J., Aranyosiová M., Gritzner G.: Trans. Metal. Chem. 28, 722 (2003).

8P-30

ŠTÚDIUM CHEMICKEJ MODIFIKÁCIE ZEOLITOV METÓDOU HMOTNOSTNEJ SPEKTROMETRIE SEKUNDÁRNYCH IÓNOV

JANA OSLANSKÁ^a, MONIKA ARANYOSIOVÁ^a, EVA CHMIELEWSKA^a, DUŠAN CHORVÁT^b a DUŠAN VELIČ^{a,b}

^aKatedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Prírodovedecká fakulta UK, Mlynská dolina CH-1, 842 15 Bratislava,

^bMedzinárodné laserové centrum, Ilkovičova 3,

812 19 Bratislava

velic@fns.uniba.sk, velic@ilc.sk

Zeolity tvoria najväčšiu skupinu hydratovaných hliníto-kremičitanov s vymeniteľnými kationmi alkalických kovov a alkalických zemín^{1,2}. Základnou štruktúrnou jednotkou sú tetraédre SiO_4^{4-} a AlO_4^{5-} pospájané do priestorových útvarov. Dutiny kryštálovej štruktúry obsahujú jedno až dvojmocné kationy obklopené molekulami vody. Selektívne a špecifické sorpčné vlastnosti zeolitov tvoria základ pre ich využitie najmä ako katalyzátory, adsorbenty a iónomeniče. Termická a chemická modifikácia vedie k zlepšeniu sorpčných a katalytických vlastností zeolitov. Chemicky je možné povrch zeolitov modifikovať naviazaním rôznych funkčných skupín. Skúmali sa dva typy modifikovaných zeolitov – hydrofobizovaný, s naviazanou skupinou $\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{N}^+$ a karbonizovaný, ktorý vznikol termickou úpravou hydrofobizovaného zeolitu pri 600 °C. Cieľom experimentu bolo zistiť mieru zachovania funkčnej skupiny $\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{N}^+$ a teda aj špecifických sorpčných vlastností hydrofobizovaného zeolitu po termickej úprave metódou hmotnostnej spektrometrie sekundárnych iónov³. Touto technikou sa namerali hmotnostné spektrá s vysokým rozlíšením a dvojrozmerné zobrazenia distribúcie

vybraných prvkov, molekúl a fragmentov⁴ na povrchu hydrofobizovaného a karbonizovaného zeolitu. Prítomnosť hydrofóbnej funkčnej skupiny $\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{N}^+$ ($m/z = 270,3$) sa u hydrofobizovaného zeolitu potvrdila analýzou hmotnostného spektra, ktoré obsahuje píky tejto skupiny a jej fragmentov, fragmentov rôznych naadsorbovaných látok a základných prvkov štruktúry zeolitu Al, Si, Na a K. Hydrofóbna funkčná skupina $\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{N}^+$ sa po termickej úprave nezachovala. Hmotnostné spektrum karbonizovaného zeolitu obsahuje okrem píkov základných prvkov aj fragmenty naadsorbovaných látok, pík pri $m/z = 270,3$ chýba. Touto modifikáciou sa pravdepodobne zmenili aj selektívne sorpčné vlastnosti zeolitu.

Táto práca vznikla s podporou grantu agentúry VEGA číslo 1/0216/03.

LITERATÚRA

1. Bowman R. S., Hunter D. B., Sullivan E. J.: Clays and Clay Min. 45, 42 (1997).
2. Voltolini M., Artioli G., Morget M.: Microp. Mesop. Mat. 61, 79 (2003).
3. Walker A. V., Winograd N.: Appl. Surf. Sci. 9233, 1 (2003).
4. Van Ham R., Van Vaeck L., Adriaens A., Adams F.: Anal. Chim. Acta 500, 259 (2003).

9L-20

PROFILOVANÉ A DUTÉ POLYESTEROVÉ VLÁKNA V KOMPOZITOCH

ANNA MURÁROVÁ^a, MARTIN JAMBRICH^b a ANDREJ RUSÁK^a

^aFakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^bFakulta priemyselných technológií TnU A. D. v Trenčíne, T. Vansovej 1054/45, 02132 Púchov
anna.murarova@stuba.sk

Profilované a duté vlákna majú makromorfologickú štruktúru, ktorá ich predurčuje na aplikácie do rôznych kompozitných materiálov, v ktorých sa využijú špeciálne vlastnosti týchto vlákien. V príspevku sa hodnotia najmä tepelné charakteristiky kompozitnej textilnej vrstvy zloženej z profilovaných a dutých vlákien s vysokou retenciou vzduchu. Vysoká retencia vzduchu vo vláknovom skelete zabezpečuje vysoký odpor prestupu tepla vedením a žiarením. Ukázalo sa, že vlákna profilované a duté so svojimi povrchovými, retenčnými, transportnými a mechanicko-relaxačnými vlastnosťami zabezpečujú vynikajúci teplotný a armovaní manažment v kompozite.

Príspevok vznikol v rámci riešenia projektu APVT 20-010102 a VEGA 1/9147/02.

LITERATÚRA

1. Murárová A., Jambrich M., Zamboj I., Reviřáková J.: Influence of the Fibre Macromorphology on the Adhesive Strength 47(6) 356 (1993).
2. Hes L.: 5th International Conference TEXSCI 2003, Liberec 2003.
3. Murárová A., Jambrich M., Křiřtovič M.: Selected Properties of Jersey Knitted Fabrics Made of Cotton/PP Blend 49 (7) 377 (2000).

9P-24

K PROBLÉMU SPONTÁNNÍ PŘEMĚNY KONFORMACE GLOBULÁRNÍ BÍLKOVINY PRION

ANTONÍN GALATÍK

*HYPPO, výzkum a výroba biopolymerů, Olbrachtova 1193, 765 02 Otrokovice
galatik@centrum.cz*

V teorii Prusinera a Gajduska^{1,2} o přenosných spongioformních encefalopatiích (TSE) je navržen nový mechanismus patogenese, katalyticky podporovaná spontánní transformace prostorové struktury polypeptidických řetězců určité globulární bílkoviny neuronů, nazvané prion. Předpokládá se, že molekula bílkoviny prionu s nesprávnou konformací (Pr^{Sc}) v neuronové buňce může autokatalyticky vyvolat spontánní přeměnu konformace (Pr^C) ostatních prionových molekul na změněnou formu Pr^{Sc}. Obtíže s vysvětlením přenosu intaktní polymerní bílkoviny molekuly Pr^{Sc} z potravy do mozkové tkáně se obchází experimentem používajícím tzv. bioassay, originální techniku „přenosu infekce“ – implantací vzorku z nemocné tkáně do mozku pokusného zvířete. Procesy strukturní transformace u makromolekul mohou nastávat spontánně, jsou-li vytvořeny vhodné podmínky a změna konformace je doprovázena určitým zvýšením stabilizační energie a růstem konformační entropie v souladu se zákony termodynamiky.

Jak je obecně známo, konformační entropie je přímo úměrná počtu možných konfigurací (W) u všech elementárních úseků polymerní molekuly⁵. Protážením struktury prionů Pr^C na konformaci β -sheet, nastane zvýšení rigidity polymerního řetězce a omezí se počet možných molekulárních konfigurací mnoha jeho elementárních úseků. Dále nastane částečná dehydratace molekul, (zvýšení koncentrace bílkoviny) protože více uspořádaná β -konformace má omezenější možnost vazby vody. Nově vytvořená konformace musí zaujmout velmi přesné torsní úhly amidických skupin na alfa uhlících. V původní neuspořádané struktuře byla značná volnost rotace na amidické i karbonylové skupině. V α -helixu jsou torsní úhly peptidických skupin více omezeny do oblasti negativních úhlů. A v protažené β -konformaci musí torsní úhly zaujmout téměř přesnou hodnotu -140° (na dusíku) a $+130^\circ$ (na karbonylu). Konforma-

ce β nacházející se v Pr^{Sc} jsou antiparalelního typu, což navíc vyžaduje aby se vždy dva a dva protažené úseky polymerního řetězce přesně otočily opačným směrem. Stabilizující vodíkové vazby se zde musí vytvářet mezi odlišnými segmenty polypeptidu, zatímco v neprotazených α -konformacích jsou vytvářeny v jednom elementárním segmentu polypeptidického řetězce.

V důsledku takové transformace se 41 % elementárních úseků prionových molekul má nově uspořádat do konformace β -sheet kde je téměř nulová volnost rotačního pohybu na torsních úhlech alfa uhlíků a zcela se zabrzdí translační pohyb, jež v původním α -helixu, ale zejména v neuspořádané konformaci byl relativně volný. Transformace tak nepochybně musí vyvolat významné zmenšení počtu molekulárních konfigurací v konečné konformaci (W_F), ve srovnání s původním stavem W_I . Vyjádřeno matematicky, $W_F \ll W_I$. Výsledná hodnota výrazu získá nutně záporné znaménko, neboť $W_F/W_I < 1$ a proto $\ln W_F/W_I < 0$. Po dosazení do Boltzmanova vztahu vychází pro hypotetickou transformaci podle teorie^{1,2} nepochybně záporná změna entropie, $DS = k_B \ln(W_F/W_I) < 0$. V transformačním procesu předpokládaném teorií TSE se celková entropie prionových molekul jednoznačně zmenší. To je ale matematický důkaz nemožnosti^{3-6,9} spontánních strukturních přeměn.

Spontánní změna konformace prionů ve směru navrženém teorií TSE zřejmě odporuje termodynamickým zákonům, nelze ji experimentálně realizovat a proto ani změřit její kinetiku nebo termodynamické parametry. Naopak procesy které spontánně probíhají opačně než předpokládá teorie TSE, tedy změny polymerní molekuly z protažené struktury na „smrštěnou“, jsou u bílkovin časté a dobře známé. Obvykle byly studovány pod názvem „denaturace bílkovin“, na příklad transformace kolagen-želatina¹¹ nebo proces smrštění keratinu vlny při zahřívání v prostředí činidel štěpících disulfidické vazby¹². Výrobci hedvábí i vlny odedávna znají nežádoucí smrštění vláken bílkoviny v horkém roztoku alkalického mýdla. Takové transformace může vyvolat i horká voda, nebo roztoky hydrotrpního činidla (přerušujícího vodíkové stabilizující vazby), např. močoviny, kyselin nebo alkalií. U enzymů to někdy vede k nevratné deaktivaci, změní-li se konformace v blízkosti aktivního centra¹³.

Polypeptidické řetězce některých proteinů mohou být jednosměrně orientovány tahovou deformací a pak studovány vzniklé prodloužené molekulární konformace. Proces prodloužení je tedy modelem transformace předpokládané prionovou infekční teorií, uspořádání polymeru se zde také mění směrem k prodlouženým konformacím. Jak ukázal Flory¹⁴, pro hydratovanou bílkovinu elastin platí dobře teorie kaučukové elasticity. Elastin je tvořen tropoelastinovými jednotkami, podobnými globulárním prionovým proteinům s převládající neuspořádanou konformací tzv. statistického klubka (random coil). Naproti tomu v bílkovině keratinu se vydloužené konformace stabilizují na formu β -sheet, neboť to umožňuje polární charakter aminokyselin a obsah rekuperujících se disulfidických

vazeb. V menším intervalu deformací je proces vratný podle Floryho rovnice i u tepelně denaturovaného kolagenu, nebo u keratinu v roztocích hydroxidů. Toho bylo v minulosti využito pro měření kinetiky síťování kolagenu kůže při činění¹⁵ nebo rychlosti štěpení disulfidických vazeb keratinu¹⁶. Tyto experimenty ukázaly, že vznik protažené konformace je náročný na spotřebu energie a že v celkové změně konformační energie u protažených bílkovin převládá entropická složka.

U procesů inverzních k teorii TSE, tj. spontánních transformací makromolekul vedoucích ke zrušení β -konformace, byla termodynamika mnohokrát spolehlivě změněna. Popsané údaje, např. přehled¹⁷, ukazují, že u typické β -bílkoviny je změna konformace na neprotažené statistické klubko doprovázena zvětšením stabilizující energie o 40 až 90 kJ.mol⁻¹ a velkou kladnou změnou entalpie (*TDS*) o více než 500 kJ.mol⁻¹. Tyto údaje, vzaty s opačným znaménkem, proto mohou sloužit jako téměř přesný odhad změn termodynamických parametrů, při transformaci prionů podle teorie TSE.

Energeticky náročná transformace, doprovázená významným poklesem entropie, jakou navrhuje teorie TSE, nemůže probíhat spontánně ani být katalyzována, odporovalo by to platným a prokázaným zákonům termodynamiky. Jinými slovy, teorie TSE obsahuje stejnou chybu, jako „termodynamické“ perpetuum mobile. Ve fyzice se někdy nazývá Maxwellův šotek, podle pověsné chybné úvahy jinak velkého fyzika Maxwella, který se pokusil vysvětlit tehdy neobjasněný jev radioaktivity hypotetickou schopností některých nerostů měnit teplo okolí na elektromagnetické záření.

Vědecká teorie je přijatelná jen pokud neprotiřečí platnému přírodnímu zákonu. Samovolná transformace neuspořádané, anebo i α -helikální struktury na β -sheet je podobná videoklipu pádu a rozbití sklenice promítanému pozpátku. V buněčné syntéze globulárních bílkovin s protaženou konformací je využíván sofistikovaný mechanismus chaperoninů, označovaných jako „folding machine“, který potřebuje genetickou informaci a spotřebuje energii.

Jediná změna konformace, která by mohla v prionech probíhat spontánně v souladu se zákony termodynamiky, je opačná než předpokládá teorie TSE, (tedy transformace Pr^{Sc} na Pr^C), tu by doprovázelo uvolnění energie a vzrůst entropie. Takový proces však v mechanismu patogenese nemá smysl, „infekční“ priony by se jím spontánně měnily na fyziologicky normální, jaké jsou běžně přítomné ve zdravých neuronových buňkách.

LITERATURA

- Gajdusek D. M., Gibbs C. J. Jr., Asher M. P., Alpers E., Beck P. M., Matthews W. B.: *Science* 161, 388 (1968).
- Prusiner S. B.: *Science* 278, 245 (1997).
- Clausius R.: (Poggendorff) *Ann. Der Phys. und Chem.* 125, 353 (1865).
- Styr D. F.: *Am. J. Phys.* 68, 1090 (2000).

- McGlashan M. L. (ed.): *Chemical Thermodynamics*, Str. 111. Academic Press, New York (1979).
- Huang Z., Gabriel J.-M., Baldwin M. A., Fletterick R. J., Prusiner S. B. a Cohen F. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91, 7139 (1994).
- Brown P., Liberski P. P., Wolff A., Gajdusek D. C.: *J. Infectious Diseases* 161, 467 (1990).
- Greenberg A., Brenman C. M., Liebman J. F. (eds.): *Biochemistry and Material Science*. Wiley, New York (2000).
- Galatík A., Blažej A.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 45, 628 (1980).
- Ranson N. A., White H. E., Saibil H. R.: *Biochem. J.* 333, 233 (1988).
- Tanzer M. L., in: *Collagen*, (Ramachandran G. N., ed.), str. 137. Plenum Press, New York (1976)
- Weigman H. D., Rosenfeld L.: *The Chemistry of Sulfides*, (Tobolsky A. V., ed.). Interscience, New York (1968).
- Itzhaki L. S., Otzen D. E., Fersht, A. R.: *J. Mol. Biol.* 254, 260 (1995).
- Flory P. J.: *J. Am. Chem. Soc.* 78, 5222 (1956).
- Wiederhorn N. M., Reardon G. V.: *J. Polymer. Sci.* 9, 315 (1952).
- Galatík A., Blažej A.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 41, 2289 (1975).
- Tanford C.: *Adv. Protein Chem.* 24, 1 (1970).
- Galatík A., 2002, Transmissible Spongiform Encephalopathy, Theory with Maxwell Demon, <http://bse.airtime.co.uk/intermediate.html>.
- Dvornic P. R., Tomalia D. A.: *Poly(amidoamine) Dendrimers*. Oxford University Press, Oxford (1999).

15L-13

FLUORESCENČNÁ DYNAMIKA MOLEKULY KUMARÍNU C-522 V ŠTRUKTÚRACH VRSTEVNATÝCH HLINITOKREMIČITANOV

JURAJ BDŽOCH^a, IGNÁC BUGÁR^b, DUŠAN CHORVÁT^b a DUŠAN VELIČ^{a,b}

^aKatedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Prírodovedecká fakulta UK, Mlynská dolina CH-1, 842 15 Bratislava ^bMedzinárodné laserové centrum, Ilkovičova 3, 812 19 Bratislava
velic@ilc.sk, bugar@ilc.sk

V súčasnosti sú rôzne typy hlinitokremičitanov veľmi intenzívne študovanou oblasťou chémie, najmä kvôli ich vysokej katalytickej aktivite a tiež pre schopnosť tvorby molekulových sít¹. Tieto vlastnosti sú podmienené štruktúrou dutín vyskytujúcich sa v ich štruktúre². Vplyv štruktúry konkrétneho hlinitokremičitanu, smektitu, bol študovaný statickou a časovo rozlíšenou fluorescenčnou spektroskopiou. Študovaným hlinitokremičitanom bola frakcia bentonitu s rozmermi častíc < 2 μ m vo forme dioktahed-

rálneho smektitu. Na meranie časovo rozlíšenej fluorescence bol použitý femtosekundový titán-zařirový laser (TiF50) v spojení s upkonverzným fluorescenčným spektrometrom CDP FOG 100 s rozlišovacou schopnosťou 150 fs. Prvotná charakterizácia látok bola uskutočnená statickými meraniami. Smektity tvoria fluorescenciu vzorky žiarivé pozadie, čo je pravdepodobne spôsobené rozptylom svetla na ich pomerne veľkých časticách. Ukázalo sa však, že v oblasti maxima emisie kumarínu, medzi 500–540 nm, sa nachádza minimum rušivých interferencií pochádzajúcich od smektitu. V prítomnosti nadbytku smektitov sa rozptyľuje dopadajúce žiarenie a tak pozorujeme akoby úbytok intenzity excitujúceho aj emitovaného žiarenia, čo sa prejaví znížením intenzity fluorescence. Pokles intenzity má lineárny priebeh. Zároveň bol pozorovaný malý posun fluorescenčného píku, naznačujúci interakciu smektitu s kumaríni. Definitívna odpoveď na otázku, či a ako smektity s kumarínmi navzájom interagujú sa očakáva od časovo rozlíšeného experimentu. V časovo rozlíšených experimentoch sa sledovala dynamika poklesu fluorescenčnej intenzity nasýteného vodného roztoku kumarínu a systému voda-smektit-kumarín. Daný časovo rozlíšený priebeh v rozsahu 50 ps bol fitovaný monoexponenciálnou funkciou. Relaxačný čas τ_1 kumarínu v čistej vode je $0,62 \pm 0,16$ ps, v prítomnosti smektitu však dosahuje hodnotu $3,53 \pm 0,6$ ps, čo jednoznačne poukazuje na interakciu molekuly s prostredím.

Táto práca vznikla s podporou grantu agentúry VEGA číslo 1/0216/03.

LITERATÚRA

1. Lakowicz J. R.: *Principles of Fluorescence Spectroscopy SE*. Kluwer Academic/Plenum publishers, New York 1999.
2. Corma A.: Chem. Rev. 97, 2373 (1997).

15L-14

DIAGNOSTIKA FÁZY LASEROVÝCH IMPULZOV V MOLEKULOVEJ SPEKTROSKOPII

ATTILA GAÁL^a, IGNÁC BUGÁR^b, DUŠAN CHORVÁT^b a DUŠAN VELIČ^{a,b}

^aKatedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Prírodovedecká Fakulta UK, Mlynská dolina CH-1, 842 15 Bratislava,

^bMedzinárodné laserové centrum, Ilkovičova 3, 842 15 Bratislava

velic@fns.uniba.sk, bugar@ilc.sk

V procese tvorby a rozpadu chemických väzieb hrá dôležitú úlohu nie len amplitúda, ale aj fáza vlnových funkcií energetických stavov, čiže ich koherentné vlastnosti¹. Nájst' správne vlastnosti funkcií pre daný chemický proces znamená tvarovať fázu, čiže časovú závislosť frekvencie². Z teoretického hľadiska sa dá predpovedať tvar optimálneho laserového pulzu, ako riešenie časovo závislej Schrödingerovej rovnice³. Aby sa dalo získať riešenie pomocou experimentu, treba spraviť komplexnú diagnostiku amplitúdy a fázy optimálneho impulzu. Cieľom tejto práce je využitie zariadenia SPIDER na komplexnú diagnostiku femtosekundových laserových pulzov pri zmene ich vlastností prechodom cez rôzne prostredia. Princíp operácie nazývaný SPIDER (Spectral Phase Interferometry for Direct Electric-field Reconstruction) je založená na (Spectral Shearing Interferometry) interferencii dvoch navzájom frekvenčne posunutých replík testovaných pulzov v spektrometri. Nezávisle merané pulzové spektrá po Fourierovej transformácii charakterizujú fázu aj amplitúdu. Dve časovo oneskorené, ale totožné repliky sú miešané s dlhším pulzom v nelineárnom kryštáli. Dlhší pulz je frekvenčne posunutý o rôznu frekvenciu prislúchajúcu aktuálnej frekvencii rozťahnutého pulzu, teda sú spektrálne posunuté. Stredná frekvencia konvertovaných pulzov je blízka $2\omega_0$, kde ω_0 je stredná frekvencia skúmaného pulzu. Vychádzajúci signál $S(\omega_c)$ zo spektrometra je popísaný rovnicou $S(\omega_c) = |E(\omega_c)|^2 + |E(\omega_c + \Omega)|^2 + 2|E(\omega_c)/|E(\omega_c + \Omega)| \cdot \cos[\Phi_\omega(\omega_c + \Omega) - \Phi_\omega(\omega_c) + \omega_c\tau]$, kde $E(\omega_c)$ je komplexná reprezentácia elektrickej zložky skúmaného pulzu, τ je oneskorenie medzi dvomi replikami. Prvé dva výrazy napravo udávajú individuálne spektrá testovaných pulzov a ich oneskorených replík. Tretí výraz udáva spektrálnu fázu vo forme fázového rozdielu medzi komponentami rozdielom Ω . Amplitúda je objasnená z odmocniny spektrálnej intenzity nezávisle registrovaného pulzu⁴. Získanie spektrálnej fázy prebieha cez priamu neiteratívnu metódu na báze Fourierovej transformácie využívajúcu SPIDER signál a spektrum pôvodného pulzu.

Táto práca vznikla s podporou grantu agentúry VEGA číslo 1/0216/03.

LITERATÚRA

1. Vajda S., Bartelt A., Kaposta E., Leisner T., Lupulescu C., Minemoto S., Rosendo-Francisco P., Wöste L.: Chem. Phys. 267, 231 (2001).
2. Rabitz H.: Science 299, 525 (2003).
3. Chantal D., Full J., Gonzáles L., Lupulescu C., Manz J., Merli A., Vajda S., Wöste L.: Science 299, 536 (2003).
4. Wong, V., Walmsley A.: Opt. Lett. 19, 287 (1994).

OBSAH

ÚVODNÍK	963
REFERÁTY	
Organické fosfazénové bázy a ich využitie v organickej chémii	964
O. Šedý, A. Solladie-Cavallo, M. Sališová a A. Boháč	
Možnosti imunochemického stanovení organochlorových a karbamátových pesticidů	970
B. Mičková, P. Rauch a L. Fukal	
Hydrogenační deoxygenace aromatických ketonů a aldehydů	981
M. Bejblová a L. Červený	
Odstraňování halogenovaných uhlovodíků z vody elementárním železem	985
P. Vašek, J. Bížová a V. Janda	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Použitie vysokoúčinnnej tenkovrstvovej chromatografie a stolného skenera na kvantitatívne stanovenie vedľajších metabolitov antibiotika salinomycínu	989
M. Blazsek, O. Ištvánfy a S. Roman	
Porovnanie viacozmerných kalibračných techník pri stanovení RNA-nukleotidov	993
M. Foltin, J. Šuřáková, M. Foltin a I. Sekaj	
VÝUKA CHEMIE	
Mullikenovy hodnoty elektronegativit aplikované na některé organické sloučeniny	998
J. Pacák a J. Podešva	
LIBLICE 2004	1001
ICSS&T 2004 Congress, Supramolecules – dodatky	1051
56. Sjezd chemických společností, Ostrava 2004 – dodatky	1061

CONTENTS

EDITORIAL	963
REVIEW ARTICLES	
Organic Phosphazene Bases and their Utilization in Organic Chemistry	964
O. Šedý, A. Solladie-Cavallo, M. Sališová, and A. Boháč	
Possibilities of Immunochemical Determination of Organochlorine and Carbamate Pesticides	970
B. Mičková, P. Rauch, and L. Fukal	
Hydrodeoxygenation of Aromatic Ketones and Aldehydes	981
M. Bejblová and L. Červený	
Removal of Halogenated Hydrocarbons from Water by Zero-Valent Iron	985
P. Vašek, J. Bížová, and V. Janda	
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Application of High-Performance Thin-Layer Chromatography and a Flatbed Scanner for the Quantitation of Cometabolites of Antibiotic Salinomycin	989
M. Blazsek, O. Ištvánfy, and S. Roman	
Comparison of Multiway Calibration Techniques in Determination of RNA Nucleotides	993
M. Foltin, J. Šuřáková, M. Foltin, and I. Sekaj	
EDUCATION IN CHEMISTRY	
Mulliken Electronegativities Applied to Some Organic Compounds	998
J. Pacák and J. Podešva	
LIBLICE 2004	1001
ICSS&T 2004 Congress, Supramolecules – Supplement	1051
56. Sjezd chemických společností, Ostrava 2004 – Supplement	1061

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 98 (2004), čís./no. 11 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 128, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 114 • 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 • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: M. Bláhová, I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Záměstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/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 PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/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 • SAZBA Sborníku LIBLICE 2004 (P. Drašar) • Copyright © 2004 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 140 Kč, roční plně předplatné 2004 (12 čísel) 1440 Kč, individuální členská předplatné pro členy ČSCH 720 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členská 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 2004 (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.